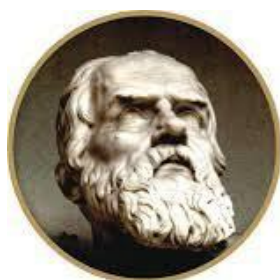


UNIVERSIDAD GALILEO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD -FACISA-

Licenciatura en Química Biológica



“COMPARACIÓN DEL XPERT MTB/RIF CON LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS (BACILOSCOPIA Y CULTIVO) EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE GUATEMALA”

AUTOR

Marylim Victoria Medina Menéndez

SUPERVISOR

Licda. Sara Ester Barillas

Ciudad Guatemala 31 de Julio 2,021

**MIEMBROS DE HONOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE
LA UNIVERSIDAD GALILEO**

DECANA

Dra. Vilma Judith Chávez de Pop

COORDINADORA ACADÉMICA

Licda. Glenda Marina Escalante Paz



Guatemala, 10 de Agosto de 2,021.

Doctora
Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud
Presente

Estimada Doctora Chávez

Me complace informarle que he asesorado a la estudiante Marylim Victoria Medina Menéndez con carnet 1800-1815 en la elaboración de su trabajo de tesis titulado:
**“COMPARACIÓN DEL XPERT MTB/RIF CON LOS MÉTODOS DE
DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS (BACILOSCOPÍA Y CULTIVO) EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE GUATEMALA”**

Después de realizar la revisión del trabajo considero que cumple con todas las normas y requisitos solicitados, por lo tanto, el autor y asesor se hacen responsables del contenido y conclusiones de la misma

Atentamente,

Licenciada Sara Ester Barillas
Colegiado activo No. 5,573
Químico Biólogo



Guatemala, 12 de febrero del 2019.

Doctora
Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud
Presente.

Señora Decana, Dra. Vilma Chávez de Pop:

Por este medio yo: **Marylim Victoria Medina Menéndez**, identificándome con número de **carné 1800-1815**, me dirijo a usted como estudiante de la carrera de **Licenciatura en Química Biológica**, para solicitar su aprobación de punto de tesis:

“COMPARACIÓN DEL XPERT MTB/RIF CON LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO TRADICIONALES PARA TUBERCULOSIS (BACILOSCOPIA Y CULTIVO) EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE GUATEMALA”

Así mismo solicito la aprobación de la Licda. Sara Ester Barillas Aragón, colegiada No. 5573 quien será el asesor del trabajo final arriba mencionado.

Agradeciendo su atención a la presente y en espera de una respuesta afirmativa, me despido de usted.

Atentamente,


Marylim Victoria Medina Menéndez
Carné 1800-1815



7 avenida, calle Dr. Eduardo Suger Cofiño, zona 10. Torre I, 1er Nivel
PBX: 2423-8000. Ext. 2330 y 2389. Email: salud@galileo.edu

DEDICATORIA

A Dios: *porque en su infinita misericordia ha velado cada uno de mis pasos hasta llevarme donde hoy me encuentro. TODO se lo debo a Él.*

A mis Padres: *pilares de mi vida, a quienes admiro, honro y bendigo son mi ejemplo de trabajo y superación. Su amor y apoyo siempre ha estado a mi lado. GRACIAS!!!*

Licda. Sara Barillas: *por enseñarme con su ejemplo el sentido de las siguientes palabras “No permitas jamás que alguien venga a ti y se aleje sin ser mejor y más feliz” su apoyo y asesoría me hicieron mejor profesional... Llegue como una estudiante que necesitaba asesora de tesis, usted me pulió, motivo e inspiro, a soñar en grande, ahora espero poder honrar y transmitir su legado.*

A mis Hermanos: *hombres trabajadores, alegres que buscan cada día ser mejores, mi hermana menor sincera y única en su forma de ser. Que Dios les guíe provea la sabiduría para cada día de sus vidas.*

A mis Compañeros (a): *Fue un placer haber recorrido este camino a su lado, en especial a Nicholle Valdez, quien me brindo su amistad y apoyo incondicional, a cada uno (a) con los que curse algún curso, sigan adelante que todos podemos brillar y ser mejores cada día que sus metas y sueños se cumplan.*

A mis Catedráticos: *por sus conocimientos compartidos, por prepararse para dar lo mejor en cada tema impartido, por enseñarme que la ética y la disciplina son estándares que me deben destacar en mi vida profesional son grandes profesionales que me han enseñado mucho, en especial a amar esta profesión.*

A mi familia en la Fe: *por brindarme su apoyo y amor incondicional que sigamos creciendo juntos hasta alcanzar la meta.*

A mi familia Física: *es un honor compartir lazos sanguíneos son muy importantes para mí y conservo cada momento y detalle a su lado.*

ÍNDICE DE CONTENIDO

Introducción	i
CAPITULO I	1
MARCO METODOLOGICO	1
1.1 Justificación de la Investigación	1
1.2 Planteamiento del Problema	4
1.2.1 Definición del problema	4
1.2.2 Delimitación del problema	4
1.2.2.1 Unidad de Análisis	5
1.2.2.2 Tamaño de la muestra	5
1.2.2.3 Ámbito geográfico	5
1.3. Hipótesis.....	6
1.4. Objetivos de la investigación.....	7
1.4.1. General	7
1.4.2. Específicos	7
1.5 Métodos, técnicas e instrumentos	8
1.5.1 Métodos	8
1.5.2 Técnicas.....	8
1.5.3 Instrumentos	8
1.6 Recursos	9

1.6.1 Recursos humanos	9
1.6.2 Recursos materiales	9
1.6.3 Recursos Financieros	9
CAPITULO II	10
MARCO TEORICO.....	10
2.1 Taxonomía	10
2.2 Género Mycobacterium.....	10
2.2.1 Fisiología y estructura de las micobacterias.....	11
2.3. Mycobacterium tuberculosis (MTB)	12
2.3.1 Pared celular.....	13
2.4 Tuberculosis (TB)	14
2.4.1 Fisiopatología.....	14
2.4.2 Signos y Síntomas	15
2.4.3 Trasmisión	16
2.4.4. Epidemiología	17
2.4.5 El Impacto en la Tuberculosis del año 2,020	19
2.4.6 Diagnóstico	20
2.4.6.1. Muestra	20
2.4.6.1.1 Recolección, transporte y conservación de muestras	21
2.4.6.2 Pruebas de Laboratorio y Diagnostico	22
2.4.6.2.1 Análisis en Sangre (respuesta Inmunológica).....	22
2.4.6.2.2 Exámenes por Imágenes.....	22

2.4.6.2.3 Diagnostico Microbiológico	23
2.4.6.2.3.1 Microscopía	23
2.4.6.2.3.1.1 Calidad del Frote	23
2.4.6.2.3.1.2 Lectura.....	24
2.4.6.2.3.2 Cultivo.....	26
2.4.6.2.3.2.1 Uso Selectivo del Cultivo	27
2.4.6.2.3.2.2 Lowenstein Jønsen	29
2.4.6.2.3.2.3 MIGIT 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tubes System)	29
2.4.6.2.3.3 Pruebas Moleculares	30
2.4.6.2.3.3.1 Xpert MTB/RIF ultra.....	30
2.4.7 Diferentes estudios de concordancia de métodos	31
CAPITULO III	35
SITUACION ACTUAL DE LOS DATOS ESTADISTICOS DE TUBERCULOSIS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE GUATEMALA DURANTE EL AÑO 2,020	35
CAPITULO IV	44
APORTE DE INVESTIGACION	44
CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA	46

ÍNDICE DE TABLAS

CAPITULO II

Tabla 1. <i>Clasificación de la segunda edición del Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology</i>	10
Tabla 2. <i>Clasificación de bacterias del género Mycobacterium según patogenicidad en humanos</i>	11
Tabla 3. <i>Características conferidas por los lípidos</i>	12
Tabla 4. <i>Prueba de Combe</i>	17
Tabla 5. <i>Condiciones de almacenamiento de las muestras para micobacteriología</i>	21
Tabla 6. <i>Número de campos a examinar</i>	25
Tabla 7. <i>Escala internacional para informes de extendidos examinados por Ziehl Neelsen</i>	25
Tabla 8. <i>Métodos de Cultivo y Descontaminación</i>	28

CAPITULO III

Tabla 1. <i>Características y Factores de Riesgo Asociados a Tuberculosis en los pacientes evaluados</i>	35
Tabla 2. <i>Rendimiento del Xpert MTB/RIF versus Cultivo para todas las Muestras en Estudio</i>	36
Tabla 3. <i>Rendimiento del Xpert MTB/RIF vs Cultivo para Muestras Validadas por el Método Xpert MTB/RIF</i>	36
Tabla 4. <i>Frecuencia de tipos de muestras analizadas para identificación de M. tuberculosis</i>	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Estructura de la pared celular micobacteriana</i>	13
Figura 2. <i>Mecanismo de transmisión a través de la expectoración</i>	16
Figura 3. <i>Clasificación de la muestra de esputo según examen macroscópico</i>	20
Figura 4. <i>Calidad del extendido y coloración parámetros para considerar</i>	24

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1. <i>Distribución de la frecuencia según tipo muestras en los pacientes incluidos en el estudio</i>	38
---	----

INTRODUCCION

El diagnóstico de laboratorio es una herramienta pilar en el salud integral del paciente por ello contar con herramientas exactas y precisas es fundamental en un laboratorio. El tema de la presente tesis trata sobre la exactitud diagnostica del equipo Xpert MTB/RIF un equipo de diagnóstico molecular reciente en nuestro país como herramienta de diagnóstico en Tuberculosis pulmonar comparado con la metodologías de diagnóstico bacteriológicos usados actualmente en nuestro país siendo el cultivo el Gold estándar y la baciloscopía.

El objeto de este estudio es aportar datos extrapolados a nuestra población sobre la tuberculosis una de las primeras 10 causas de muerte en todo el mundo dicha enfermedad se estima en la cuarta parte de la población global aunque sin estar enfermos ni transmitir la infección. No obstante, es importante diagnosticarla a tiempo pues una vez se desarrolla a tuberculosis activa, la persona infectada se convierte en un foco de transmisión por años.

Guatemala según la OMS se encuentra entre los países con alta carga de la enfermedad en las Américas. Y aunque en años pasados se había mantenido estable no se ha logrado alcanzar la meta de reducción estimada para el país sumado que el año 2020 fue un año atípico.

Es por ello que el diagnóstico temprano con metodologías moleculares rápidas que sean confiables como el Gold estándar son algo necesario ya que ello disminuiría gastos económicos en salud, cuidaría la productividad de las personas y reduciría esta causa de muerte que afecta al país.

El objetivo de la presente tesis fue comparar la exactitud diagnostica del Xpert MTB/RIF con el cultivo de tuberculosis en muestras pulmonares así como sus respectivas estimaciones sobre la probabilidad de presentar la enfermedad al ser evaluado a través Xpert MTB/RIF en muestras pulmonares y extra pulmonares y así también conocer la

frecuencia de los tipos de muestras recibidos para la búsqueda de *Mycobacterium tuberculosis* en el Hospital de tercer nivel de atención evaluando su historial clínico lo que nos permitirá determinar si los factores de riesgo presentan diferencia estadísticamente significativa y describir la frecuencia de comorbilidades que presentaron los pacientes.

El presente estudio es de tipo observacional y descriptivo donde se evaluaron los resultados obtenidos durante el año 2020 en tuberculosis analizándose pacientes que fueron diagnosticados en el Hospital de Tercer Nivel mediante las metodologías Xpert MTB/RIF, Ziehl Neelsen y Cultivo.

Según los resultados obtenidos se encontró que la exactitud diagnóstica del Xpert MTB/RIF en muestras pulmonares es del (100%) para su sensibilidad y del (94%) para su especificidad en comparación con las muestras extra pulmonares donde se encontró una sensibilidad del (86%) y una especificidad (89%). En cuanto a las estimaciones de padecer tuberculosis a través del resultado de la prueba de Xpert MTB/RIF fue del (40%) en comparación de no padecer tuberculosis en un (100%). Al estimar las frecuencias de muestras se encontró los tipos de muestras que más se reciben para el diagnóstico de tuberculosis es el esputo salival (36.7%) seguido del Líquido cefalorraquídeo (27.52%) y las comorbilidades que más se presentan fueron VIH y Diabetes. Con respecto a las variables de significancia clínica del valor P la variable de interés con valor significativo fue el uso previo de tratamiento antituberculoso (0.017).

Permitiéndonos concluir que el Xpert MTB/RIF es una excelente herramienta diagnóstica al presentar una exactitud diagnóstica extrapolada a nuestra población que nos permite estimar la probabilidad que los pacientes sometidos a esta prueba tengan una certeza sobre si padecen la enfermedad pulmonar de tuberculosis. Y es una excelente iniciativa que nuestro país ha adoptado con el objetivo de ponerle fin a la tuberculosis.



CAPITULO I

MARCO METODOLOGICO

1.1 Justificación de la Investigación

A nivel mundial, la infección por tuberculosis es una de las primeras 10 causas de muerte y la primera en la lista ocasionada por un único agente (Organización Mundial de la Salud, 2020). Se estima que aproximadamente un cuarto de la población global está infectada por el bacilo de *Mycobacterium tuberculosis* sin estar enfermos ni transmitir la infección. No obstante, una vez se desarrolla la tuberculosis activa, los síntomas pueden durar meses en aparecer mientras se mantienen leves, por lo cual se ha calculado que la persona infectada puede transmitir la enfermedad durante un año entre a 5 y 15 personas con las cuales mantenga un estrecho contacto. Cabe mencionar que los pacientes VIH positivos tienen 18 veces mayor probabilidad de desarrollar TB activa. Sin el tratamiento adecuado, incluso el 45 % de los pacientes con TB que son VIH negativos pueden llegar a morir (Organización Mundial de la Salud, 2020).

En el listado de países con alta carga de tuberculosis a nivel mundial se encuentra Guatemala (World Health Organization, 2019; World Health Organization, 2020). De acuerdo con el último reporte hasta el momento publicado por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPASS), evidenció que la tuberculosis se ha mantenido estable durante los últimos años, pues tanto en el 2018 como en el 2019 la incidencia fue de 26 casos en 100,000 habitantes (Castillo, 2020; Organización Mundial de la Salud, 2019). Sin embargo, no se ha logrado alcanzar la meta estimada por la Organización Mundial de la Salud para el país (Organización Panamericana de la Salud, 2018), siendo los principales departamentos afectados: Escuintla, Retalhuleu, Suchitepéquez, San Marcos, Guatemala e Izabal (Castillo, 2020).

Por otro lado, cabe resaltar que si bien la tasa de incidencia ha sido constante al igual que la mortalidad en pacientes VIH negativos durante el 2018 y 2019 (1.8 y 1.7 por 100,000 habitantes respectivamente), no ha sucedido lo mismo con la tasa de casos nuevos en pacientes VIH, pues

aumentó de 1.8 a 3.1 por 100,000 habitantes, al igual que la mortalidad en pacientes VIH positivos (de 0.37 a 0.66 por 100,000 habitantes, respectivamente) (Organización Mundial de la Salud, 2019; World Health Organization, 2019).

En relación al diagnóstico, durante el 2018 se notificaron 3,623 casos, de los cuales el 20 % fueron evaluados con técnicas de diagnóstico rápido y 81 % con técnicas bacteriológicas, en contraste con el 2019 donde se reportaron 3,716 casos con un aumento en el empleo de técnicas de diagnóstico rápido (43 % de los casos) y una similitud en el uso de las técnicas bacteriológicas (83 %) (Organización Mundial de la Salud, 2019; Reporte Global de Tuberculosis, 2019).

La alta transmisibilidad aunada a un diagnóstico tardío resulta en un elevado gasto económico para la salud, sin contar que la infección reduce la productividad de las personas y su mortalidad afecta los años potenciales de vida perdidos para el país.

Por tal razón, es imperante contar con métodos diagnósticos rápidos y oportunos, que se aproximen al diagnóstico “Gold estándar” que es el cultivo (tanto sólido como líquido) de las micobacterias, para poder optimizar el tiempo (principal limitante en el método de referencia), mejorando la sensibilidad (en comparación con la coloración de Ziehl Neelsen, técnica ampliamente utilizada en países de medianos y bajos ingresos como lo es el nuestro).

En el presente estudio se realizó la comparación del Xpert MTB/RIF prueba rápida molecular recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y recientemente implementada en el Laboratorio bajo estudio con los métodos de diagnóstico tradicionales para tuberculosis (baciloscopía y cultivo) en un hospital de tercer nivel de Guatemala.

Según el lema del Día Mundial de la Tuberculosis del año 2021 “El tiempo corre” se demuestra la importancia del aplicar métodos más sensibles y precisos en el diagnóstico de Tuberculosis pulmonar, especialmente ahora en tiempos de la pandemia de COVID-19 otra enfermedad que se suma a la larga lista de enfermedades pulmonares y como cita el último reporte global del año

2020, este ha puesto en riesgo el progreso en los objetivos que buscan el Fin de la TB e incrementar el número mundial de muertes si no es detectada y tratada a tiempo.

1.2 Planteamiento del Problema

1.2.1 Definición del Problema

Un tercio de la población mundial tiene una infección tuberculosa latente, su detección a través de los medios diagnósticos es esencial para la salud pública, pues el mayor riesgo de progresión ocurre durante los primeros dos años de la infección (Villalobos Montoya, et al., 2020).

En Guatemala, la tasa de incidencia de tuberculosis aún no cumple con la meta planteada por la Organización Mundial de la Salud, por lo cual contar con métodos de diagnóstico rápidos es imperante (Castillo, 2020).

Por tal razón, en el presente trabajo se comparó el Xpert MTB/RIF (método de diagnóstico rápido aprobado por la OMS, recientemente implementado en el Laboratorio bajo estudio de un hospital de tercer nivel de Guatemala) con los métodos de diagnóstico tradicionales para tuberculosis (baciloscopía y cultivo).

1.2.2 Delimitación del Problema

La tasa de incidencia en Guatemala ha sido constante (26 casos por 100,000 habitantes) al igual que la mortalidad en pacientes VIH negativos durante el 2018 y 2019 (1.8 y 1.7 por 100,000 habitantes respectivamente), sin embargo no ha sucedido lo mismo con la tasa de casos nuevos en pacientes VIH, pues aumentó de 1.8 a 3.1 por 100,000 habitantes, al igual que la mortalidad en pacientes VIH positivos (de 0.37 a 0.66 por 100,000 habitantes, respectivamente) (Castillo, 2020; Organización Mundial de la Salud, 2019).

Los laboratorios clínicos en hospitales de tercer nivel de nuestro país son pilares en el diagnóstico de esta enfermedad es por ello por lo que se esfuerzan día con día actualizarse en aparatos de diagnóstico cada día más sensibles, rápidos y específicos, como actualmente es el Xpert MTB/RIF.

La presente investigación se realizó en un Laboratorio Clínico con implementación reciente del Xpert MTB/RIF, en un Hospital de Tercer Nivel de Guatemala en concordancia con el objetivo de la OMS de implementar pruebas moleculares en el diagnóstico de Tuberculosis como prueba inicial y hacer la debida comparación con los métodos usados tradicionalmente en nuestro país siendo algo beneficioso para nuestra forma de diagnóstico.

1.2.2.1 Unidad de Análisis

- Tiempo de emisión de resultados por diferentes metodologías diagnósticas.
- Concordancia de resultados de análisis de tuberculosis de los pacientes
- Análisis de expedientes clínicos de los pacientes con resultados de Xpert MTB/RIF, ZN y Cultivo de Tuberculosis.

1.2.2.2 Tamaño de la Muestra

Se utilizó el método de muestro no probabilístico por conveniencia. Según los criterios del investigador en pacientes de un hospital de tercer nivel de la Ciudad Guatemala con sospecha de tuberculosis, a quienes se les realizó Ziehl Neelsen, Cultivos para tuberculosis (sólidos y líquidos) y PCR (Xpert MTB/RIF) de enero 2020 a diciembre 2020.

1.2.2.3 Ámbito Geográfico

Geográficamente el área de realización del estudio es la Ciudad de Guatemala, Departamento de Guatemala en un hospital de tercer nivel de atención, respectivamente en su área de laboratorio clínico.

1.3. Hipótesis

H_0 : No Existe diferencia en la exactitud diagnóstica en los resultados de diagnóstico molecular (Xpert MTB/RIF) con el cultivo, método Gold estándar para tuberculosis.

H_a : Existe diferencia en la exactitud diagnóstica en los resultados de diagnóstico molecular (Xpert MTB/RIF) con el cultivo, método diagnóstico Gold estándar para tuberculosis.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. General

Comparar la exactitud diagnóstica del Xpert MTB/RIF con el cultivo de tuberculosis para muestras validadas por el método, en un hospital de tercer nivel de Guatemala.

1.4.2. Específicos

Comparar las estimaciones de la probabilidad de enfermedad del Xpert MTB/RIF para muestras validadas, con el cultivo de tuberculosis como método de referencia.

Comparar las estimaciones de la probabilidad de la enfermedad del Xpert MTB/RIF para muestras validadas y no validadas por el método.

Describir la frecuencia de los tipos de muestras recibidos para la búsqueda de *Mycobacterium tuberculosis*.

Determinar si los factores de riesgo evaluados presentaron diferencia estadísticamente significativa en la detección de *Mycobacterium tuberculosis* por Xpert MTB/RIF.

Describir la frecuencia de comorbilidades que presentaron los pacientes cuyas muestras fueron recibidas para la detección de *Mycobacterium tuberculosis*.

1.5 Métodos, Técnicas e Instrumentos

1.5.1 Métodos

Observacional descriptivo transversal no experimental: se evaluarán los resultados obtenidos durante el año 2,020 en las metodologías de diagnóstico para tuberculosis.

Análisis descriptivo de datos: se pretende analizar a los pacientes que fueron diagnosticados en el Hospital de Tercer Nivel mediante las metodologías Xpert MTB/RIF, ZN y Cultivo.

1.5.2 Técnicas

Recolección por medio del sistema informático de laboratorio 4DLab.

Análisis de historia clínica de pacientes con resultados que no coincidan entre las metodologías para encontrar causas de esto.

1.5.3 Instrumentos

- Xpert MTB/RIF
- MIGIT 960
- Microscopio
- Sistemas informáticos del Hospital de tercer nivel.
- Computadora.
- Unidad de almacenamiento externo
- Libros



1.6 Recursos

1.6.1 Recursos humanos

- Investigadora
- Asesora de tesis

1.6.2 Recursos materiales

Computadora con sistema informático para revisión de resultados emitidos durante el período de estudio.

Computadora portátil con sistema informático para revisión de expedientes clínicos de pacientes del estudio.

1.6.3 Recursos Financieros

No se incurre en gastos para la recolección de información sobre los resultados, debido al excelente método de guardar información en el área.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 Taxonomía

Según la clasificación del Manual de taxonomía bacteriana (Wong, 2019) las micobacterias se clasifican de la siguiente manera.

Tabla 1.

Clasificación de la segunda edición del Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology

Dominio	Bacteria
Filo	BXIV Actinobacteria
Clase	Actinobacteria
Subclase	Actinobacteridae
Orden	Actinomycetales
Suborden	Corynebacterineae
Familia	<i>Mycobacteriaceae</i>
Genero	<i>Mycobacterium</i>

Nota: Elaboración propia, basado en Wong (2019).

2.2 Género *Mycobacterium*

Mycobacterium es un género que se encuentra conformado por bacilos Gram positivo, ácido-alcohol-resistentes, aerobios inmóviles y no esporulados. La definición de ácido-alcohol-resistente quiere decir que resisten a la decoloración con soluciones ácidas débiles a fuertes, gracias a la presencia de cadenas de ácidos micólicos intermedias o largas en su pared celular, el tamaño de estos microorganismos oscila entre $0,2-0,6 \times 1$ a $10 \mu\text{m}$.

En cuanto a su división, la mayoría de las micobacterias se dividen lentamente; es por ello, que los cultivos requieren una incubación de al menos 4 semanas, antes de que sea posible detectar el crecimiento, porque la estructura de la pared celular es compleja y el microorganismo tiene unos requerimientos muy estrictos de crecimiento.

En la actualidad, se ha logrado la identificación de más de 150 especies de micobacterias, entre las cuales, destacan, por su relación con enfermedades ocasionadas en el ser humano, el complejo de *M. tuberculosis*, causante de tuberculosis; *M. leprae*, cuya enfermedad representativa es la lepra; el complejo *M. avium*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. abscessus*; son otras especies sobresalientes (Murray et al., 2017).

2.2.1 Fisiología y estructura de las micobacterias.

El género *Mycobacterium* es clasificado en función de su capacidad de ácido-alcohol resistencia, la cual, se debe a la presencia de ácidos micólicos de 70 a 90 átomos de carbono y un elevado contenido de guanina y citosina (G + C), en el ácido desoxirribonucleico (ADN) (Murray et al., 2017)

Tabla 2

Clasificación de bacterias del género Mycobacterium según patogenicidad en humanos

Microorganismo	Patogenicidad	Clasificación de bacterias ácido-alcohol resistentes.
<i>M. tuberculosis</i>	Patógeno estricto	Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>M. leprae</i>	Patógeno estricto	Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>M. africanum</i>	Patógeno estricto	Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Complejo <i>M. avium</i>	Generalmente patógeno	Micobacteria no tuberculosa de crecimiento lento
<i>M. kansasii</i>	Generalmente patógeno	Micobacteria no tuberculosa de crecimiento lento
<i>M. fortuitum</i>	Patógeno ocasional	Micobacterias no tuberculosas de crecimiento rápido

<i>M. chelonae</i>	Patógeno ocasional	Micobacterias no tuberculosas de crecimiento rápido
<i>M. abscessus</i>	Patógeno ocasional	Micobacterias no tuberculosas de crecimiento rápido

Nota: M.= Mycobacterium. Tomado de (Murray et al., 2017).

2.3. Mycobacterium tuberculosis (MTB)

Especie del género *Mycobacterium*, es una bacteria con características de ser intracelular facultativa, catalasa negativa y aerobia obligada, inmóvil, no formadora de esporas. El alto contenido de lípidos, característico de este género, le confiere muchas características clínicas únicas entre las cuales se incluyen

Tabla 3

Características conferidas por los lípidos

Ácido-alcohol resistencia
Capacidad de sobrevivir en muchas condiciones extremas.
Tiempo dividirse (alrededor de 16 a 20 horas),
Resistencia a varios antibióticos
Resistencia a detergente
Antigenicidad

Nota: Tomado de (Murray et al., 2017).

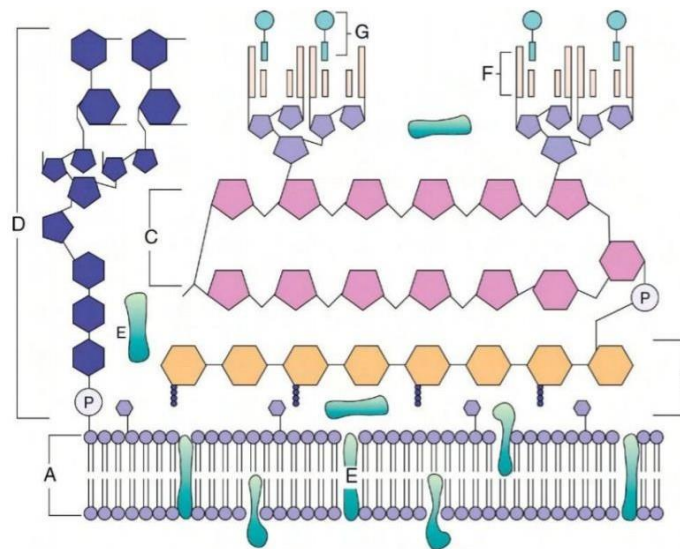
Mycobacterium tuberculosis tiene la capacidad de crecimiento intracelular en los macrófagos alveolares inactivados, confiriéndole la capacidad de desarrollar en el huésped infecciones por el resto de la vida, aunque la enfermedad depende principalmente de la respuesta del hospedador frente a la infección primaria la cual es pulmonar pudiendo diseminarse a otras localizaciones, especialmente en los pacientes inmunodeprimidos (Talha et al., 2020).

2.3.1 Pared celular

Es gruesa y compleja, se encuentra separada de la membrana celular por el espacio periplásmico, el grosor se debe a sus cuatro capas, siendo la más interna la de peptidoglicano, proporcionando rigidez y forma, las otras tres más externas están compuestas de polímeros de arabinosa y galactosa; la siguiente, de ácidos micólicos (son ácidos grasos derivados y lípidos) la más superficial, de micosidos (Ramírez et al., 2002).

Como se detalla en la siguiente figura (A) membrana plasmática (B) peptidoglicano, (C) arabinogalactano, (D) lipoarabinomanano con cabeza de manosa, (E) proteínas asociadas a la membrana plasmática y a la pared celular, (F) ácidos micólicos y (G) moléculas de glicolípidos de superficie, asociados a los ácidos micólicos.

Figura 1. Estructura de la pared celular micobacteriana. Tomado de (Murray et al., 2017).



2.4 Tuberculosis (TB)

La tuberculosis es una enfermedad causada por *Mycobacterium tuberculosis*. Sigue siendo una de las principales causas de muerte a nivel mundial, a pesar de la disponibilidad de quimioterapia, desde ya hace varios años, todo ello, debido a que *Mycobacterium* evolucionó, perfeccionando para persistir en las poblaciones humanas.



La tuberculosis puede afectar cualquier órgano, pero, principalmente a los pulmones y especialmente, en los pacientes inmunocomprometidos, es importante evidenciar que para que *M. tuberculosis* se transmita de persona a persona, tiene que causar una enfermedad pulmonar, ya que el principal modo de propagación es la inhalación de gotitas de aerosol infectadas (Rotimi & Rahulkumar, 2020).

2.4.1 Fisiopatología

El sistema inmunológico de cada individuo tiene la capacidad de limitar o eliminar eficazmente, el inóculo infeccioso, de acuerdo a su estado, factores genéticos y, si se trata de una exposición primaria o secundaria al organismo. Además, *M. tuberculosis* posee factores de virulencia que dificultan que los macrófagos alveolares eliminen el organismo de un individuo infectado. Cuando se desarrolla la enfermedad, se clasifica en: primaria, latente y activa (Rotimi & Rahulkumar, 2020).

Al primer contacto de *Mycobacterium* con un huésped, los bacilos estos se alojan en los campos pulmonares medios e inferiores (a ese fenómeno se le conoce como Foco de Ghon), debido a que allí se pueden multiplicar libremente, dando lugar a la manifestación conocida como tuberculosis primaria, la cual la mayoría de las veces pasa desapercibida, por ser asintomática, debido a que el huésped activa la inmunidad celular, cesando la replicación del microorganismo entre 3 y 6 semanas, entrando en un estado de latencia, conocido como tuberculosis latente, debido a que los focos de bacilos en los pulmones u otros sitios, se transforman en granulomas de células epitelioides, que pueden tener centros caseosos y necróticos permitiendo a los bacilos sobrevivir por años y solo un desbalance entre la resistencia del huésped y la virulencia del microorganismo, determinará la reactivación del *Mycobacterium* (Rotimi & Rahulkumar, 2020; Tierney & Nardell, 2018).

Después de un largo período de latencia, generalmente de años, se puede presentar la tuberculosis secundaria o activa, donde una de sus características es, que las lesiones de la tuberculosis secundaria se encuentran en los ápices pulmonares. Nuevamente esta probabilidad de que la infección primaria progrese a una enfermedad activa, va a depender, tanto de la dosis infecciosa, como del estado inmunológico del paciente.

2.4.2 Signos y Síntomas

En la tuberculosis pulmonar activa, moderada o grave, los pacientes no presentan síntomas graves, salvo por síntomas generales, como (Tierney & Nardell, 2018):

- “No sentirse bien”
- Anorexia
- Cansancio
- Pérdida de peso

Apareciendo gradualmente, a lo largo de varias semanas, los síntomas más específicos, como los mencionados a continuación (Tierney & Nardell, 2018):

- Tos muy frecuente que, al principio, puede ser poco productiva, con esputo amarillo o verde; en general al levantarse en la mañana, y conforme avanza la enfermedad se tornar más productiva.
- Hemoptisis, sólo en presencia de TB cavitaria (debido al daño granulomatoso de los vasos, o, a veces, a la proliferación de hongos en una cavidad).
- Con frecuencia, aunque no siempre, los pacientes presentan fiebre.
- Sudoración nocturna profusa como síntoma clásico, pero no es frecuente, ni específica de TB.
- Disnea debido a la lesión del parénquima pulmonar, el desarrollo de un neumotórax espontáneo o de TB pleural con derrame.

Cuando el paciente muestra además de TB una infección por HIV, la clínica varía debido al compromiso de la hipersensibilidad retardada, debido a la inmunosupresión, las probabilidades de presentar síntomas de enfermedad extra pulmonar o generalizada, se incrementan. En cuanto a la tuberculosis extra pulmonar se refiere, esta provoca diversas manifestaciones sistémicas y localizadas, según los órganos afectados.

2.4.3 Trasmisión

Es transmitida de persona a persona, casi exclusivamente por medio de las gotículas de saliva emitidas por las personas afectadas por tuberculosis, pulmonar al toser, hablar, cantar o estornudar. Estas gotas pueden permanecer infectantes en el aire durante prolongados períodos de tiempo; gracias a su peso, la gravedad no ejerce efecto causando su suspensión en el ambiente. Característica importante en la trasmisión, es la supervivencia ambiental por parte del microorganismo en ambientes adversos, como el frío, congelación y desecación. La trasmisión de los contactos es más probable cuando conviven durante un tiempo prolongado o se permanece cerca del enfermo que está expectorando bacilos, creando un ambiente de alto riesgo; en especial si el ambiente es poco ventilado (Martínez Gordillo, 2018).

Figura 2. Mecanismo de trasmisión a través de la expectoración. Tomado de Sánchez, (2012)



Para establecer la epidemiología y trasmisión de la tuberculosis, se realiza una prueba conocida como COMBE, que es el estudio de contactos con personas infectadas por TB, el cual se detalla a continuación.

Tabla 4

Prueba de Combe

COMBE	
0	Contactos no expuestos a la infección
I	Contactos esporádicos



II	Contactos frecuentes con familiares o amigos
III	Contacto dentro del núcleo familiar

Nota: Tomada de (Ríos., et al., 2017).

2.4.4. Epidemiología

La tuberculosis es un problema de salud pública ya que se encuentra en una de las diez causas de muerte, a nivel mundial. Se tiene conocimiento de que “aproximadamente el 33% de la población mundial tiene una infección tuberculosa latente” (ITBL) (Corvino et al., 2020).

Por otro lado, la tasa de incidencia ha disminuido un 1.5% cada año, desde el 2000, según la Organización Mundial de la Salud (OMS). No obstante, a pesar de los esfuerzos drásticos y los avances sustanciales que se han tenido respecto a la TB, no ha sido posible erradicar la enfermedad, y la misma, aún representa una morbilidad y mortalidad significativas, en todo el mundo (Talha et al., 2020).

Respecto a la tuberculosis activa, durante el 2017, la OMS estimó que anualmente alrededor de 8 millones de personas la desarrollaron en todo el mundo y, aproximadamente 2 millones de ellas murieron a causa de la enfermedad. En cuanto a la tuberculosis latente, estimó que, una de cada 10 personas infectadas, podría llegar a desarrollar una infección activa, en algún momento de su vida.

Aunque está presente a nivel mundial, la epidemiología de la tuberculosis varía significativamente, según la región. Por ejemplo:

- India, África subsahariana, Micronesia y las islas del sudeste asiático tuvieron las tasas más altas (100 por 100,000 personas o más).
- China, Europa del Este, América Central y del Sur y el norte de África tuvieron tasas intermedias (26 a 100 casos por 100.000 personas).
- Estados Unidos, Canadá, Japón, Europa occidental y Australia, registraron las tasas más bajas (menos de 25 casos por 100.000 personas) (Talha et al., 2020).

Los países que presentaron las mayores tasas de morbilidad y mortalidad por TB, durante el año 2016 fueron países en desarrollo como: India, Pakistán, Filipinas, China, Sudáfrica, Indonesia y Nigeria; juntos representaron el 60% de todas las muertes relacionadas con la tuberculosis durante ese año (Rotimi & Rahulkumar, 2020).

En cuanto a las poblaciones con mayor riesgo de padecer la enfermedad se ha observado que son los pacientes inmunodeprimidos (fundamentalmente los infectados por VIH); los alcohólicos y los adictos a drogas; los vagabundos y aquellos que están expuestos a otros individuos infectados (Talha et al., 2020).

En América Latina se ha reportado que esta enfermedad impacta especialmente en grupos de personas en edad productiva, con VIH, diabetes, privados de libertad y personas con inmunosupresión crónica (Abrego, 2018).

En Guatemala, según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, durante el 2017, se detectaron 3 mil 641 casos de tuberculosis, de los cuales, 3 mil 202 fueron de localización a nivel pulmonar y 280 de esos en niños. Según el reporte, los departamentos más afectados por esta enfermedad son: Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos y Quetzaltenango. La mayor incidencia, se encontró en edad reproductiva, como se ha reportado para América Latina, es decir, los 19 y los 45 años. La tasa de mortalidad por esta dolencia, se estableció en 1.9 por cada 100 mil habitantes (Abrego, 2018).

En el año 2019, según reporte del sistema de Vigilancia de Tuberculosis/ITS/VIH se encontraron 3,568 casos, con una tasa de 22, por cada 100,000 habitantes. También se evidenciaron los casos prevalentes TB/VIH de 409, que ha sido el dato más alto, respecto a los años anteriores. Los casos RR/MDR, fueron de 103, otro dato alarmante, ya que es el número más alto en nuestro país. Hasta el momento, la distribución geográfica de los casos sigue concentrada en el área sur-occidente, desde ya hace varios años con Escuintla a la cabeza con



la tasa más alta: 93.7 casos por cada 100,000 habitantes; siguiéndole, Suchitepéquez con 69, San Marcos con 31.3, Izabal, con 27.8. En el mismo informe se observa que el sexo más afectado es el masculino y, en cuanto al grupo etario más afectado, el de 60 años en adelante (Castillo, 2020).

2.4.5 El Impacto en la Tuberculosis del año 2,020

El año 2,020 ha quedado marcado por la pandemia Covid 19, lo cual ha tenido su impacto en ámbitos sanitarios, sociales, económicos y la epidemia de la Tuberculosis no es la excepción. Según el reporte Global 2,020 de la OMS sobre tuberculosis, se estima que el número de muertes por causa de la TB se verá incrementado en los años subsiguientes lo que amenaza los avances alcanzados hasta el año 2,019 debido en parte a la lenta restauración de los servicios que permiten detectar y tratar la TB.

Es por ello que este impacto negativo debe mitigarse y la mejor forma de hacerlo es fortaleciendo las redes de laboratorios diagnósticos no sólo con la confirmación bacteriológica sino también con el uso de equipos de vanguardia como lo son aquellos de diagnóstico molecular rápido (World Health Organization, 2,020).

2.4.6 Diagnóstico

2.4.6.1. Muestra

Es una fase crítica pre analítica; de ella depende el correcto diagnóstico. Por toma correcta y por buena muestra, se entiende que:

- Proviene del sitio de la lesión que se investiga.
- Fue obtenida en cantidad suficiente.
- Fue colocada en un envase adecuado y limpio.
- Se encuentra bien identificada.
- Fue adecuadamente conservada y transportada.

El color es variable, desde blanco, amarillento y hasta verdoso o sanguinolento.

Figura 3. Clasificación de la muestra de esputo según examen macroscópico. Tomado de Sequeira & Barrera (2018).



2.4.6.1.1 Recolección, transporte y conservación de muestras.

El esputo es la muestra más habitual, debido a la incidencia de tuberculosis pulmonar proveniente del árbol bronquial, siendo una expectoración mucopurulenta, no únicamente saliva o secreciones rinofaríngeas, obtenida en cantidad suficiente de volumen aproximado de 3-5 cc, colocada en un envase adecuado, el cual sería de boca ancha, con cierre hermético, material plástico resistente, estéril, transparente y tomada en un lugar ventilado (Ríos., et al., 2017).

El transporte debe ser con la menor demora posible y realizarse considerando que la muestra siempre debe ir protegida del calor excesivo y la luz solar, así como evitar derrames durante el mismo, para ello se debe considerar una caja de metal o plástico opaco, con algún mecanismo que trabase su tapa, y con una manija para facilitar su acarreo, como las que son utilizadas para trasladar material refrigerado; ambas, de altura ligeramente superior a la de los envases de las muestras. Es importante considerar nunca agregar a las muestras fenol, formol o solución de formaldehído por sus propiedades germicidas (Sequeira & Barrera, 2018).

Tabla 5

Condiciones de almacenamiento de las muestras para micobacteriología.

Muestra	No. Muestras	Tiempo y condiciones	Observaciones
MUESTRAS PULMONARES			
Espuito - Mucopurulenta	3. Una inicial, otra matutina, otra cuando llegue a dejar la segunda	TA: 1h 2-8°C: < 3 d Máximo: 7 d	Envase Estéril. Boca ancha (> 5 cm diámetro), hermético, de plástico resistente. Si sólo traen ZN y no se va a ver de inmediato, echar 10 gotas de fenol 5% (mata los bacilos pero se ven)
MUESTRAS EXTRA-PULMONARES			
Líquidas (> 1 mL. Centrifugar 15 min a 3000 g)			
Orina	3-6	2-8°C: < 12 h pero con sedimento neutralizado	Higiene externa. Tomar > 50 mL del segundo chorro de la primera micción matutina. Si no se procesa de inmediato el pH ácido afecta la viabilidad del bacilo. Neutralizar el sedimento con 1 mg de bicarbonato de sodio o fosfato trisódico anhidro de 4-9°C en < 12. Hay micobacterias saprófitas (no necesario TB)
Lavado gástrico	1 matutina. Sin estímulos alimenticios q aumenten el pH (ej mamá con bebés)	TA: < 4 h 2-8°C: < 24 h	Detecta bacilos en esputo ingerido. Poca probabilidad de obtener verdaderos positivos. Probables falsos + de comida y bebida. Se usa en niños q no dan esputo
Lavados	1	TA: 1h 2-8°C: < 12 h	Frasco estéril. Jeringa
LCR	Las que el médico considere	TA: Inmediato 2-8°C: < 12 h. Máximo 24 h PCR 2-8°C < 7d	Envase estéril, con tapa y cierre hermético
Líquidos pleural, ascítico, pericárdico, articular y otros	Las que el médico considere	TA: 12 h 2-8°C: < 24 h	Puede usarse citrato de sodio 10% o EDTA (3 gotas/10mL muestra). < 12 h a 4-9°C
Secreciones	1-2	TA: 1h 2-8°C: < 24 h	Hisopos de dacrón o rayón. No algodón
Pus	-	Inmediato	Preferiblemente sin hisopo. De ser necesario, humedecerlo antes en sol. Salina fisiológica o agua destilada estéril. Inmediato o refrigerar
Sólidas (disgregar el material)			
Biopsias	-	< 12 h PCR < 7 días	Dejar la muestra con 1-2 mL de solución fisiológica o agua destilada estéril para evitar desecación
Heces	1-3	TA: 1 h 2-8°C: < 24 h	

Nota: Para su conservación, en caso de no ser procesadas las muestras deben ser guardarlas en el refrigerador. Tomada de (Barillas, 2020)

2.4.6.2 Pruebas de Laboratorio y Diagnostico

Según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) existen pruebas que se usan para detectar las bacterias de la tuberculosis en el cuerpo las cuales se detallan en el apartado de inmunología y pruebas para determinar si la persona tiene enfermedad de

tuberculosis, para ello será necesario hacer otras pruebas para alcanzar el diagnóstico eficaz (Tuberculosis, 2018).

2.4.6.2.1 Análisis en Sangre (respuesta Inmunológica)

Son pruebas que miden la respuesta inmune del paciente, para la tuberculosis; no se consideran pruebas diagnósticas, pero ayudan, dando a conocer el estado previo de inmunidad del paciente, sin indicar si cursa con enfermedad actual (Tuberculosis, 2018)

Prueba cutánea de la tuberculina: se encarga de medir la respuesta inmune al derivado proteico purificado (PPD), que es una solución de antígenos del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (Corvino et al., 2020).

- Pruebas de liberación de IFN-g: Se basan en el principio por el cual los linfocitos T de un individuo que ha adquirido la infección por *Mycobacterium tuberculosis*, responderá, mediante la secreción de interferón gamma, ante el estímulo de los antígenos específicos in vitro (Pichon-Riviere et al, 2014).

2.4.6.2.2 Exámenes por Imágenes

Se encuentran la radiografía de tórax y la tomografía computarizada de pecho, estas pruebas sugieren el diagnóstico al mostrar el hallazgo de infiltrado multinodular (manchas blancas en los pulmones, causadas por bacterias encapsuladas por el sistema inmunitario) o pueden revelar cambios en los pulmones causados por una forma activa de tuberculosis, por ello pero no pueden establecerlo por si mismas un diagnóstico. (Calvo & Rosique, 2,020).

2.4.6.2.3 Diagnostico Microbiológico

Se establece en tres etapas sucesivas:

- a) Demostración de bacilos ácido-alcohol resistentes mediante tinciones específicas.
- b) Aislamiento de *M. tuberculosis* en cultivo puro y posterior identificación de especie.
- c) En determinados casos, estudio de sensibilidad in vitro a fármacos antituberculosos.



2.4.6.2.3.1 Microscopía

La muestra de esputo se examina en el laboratorio, en búsqueda de bacilos ácido-alcohol-resistentes (BAAR) el cual puede ser evidenciado a través de las siguientes tinciones (Sequeira & Barrera, 2018).

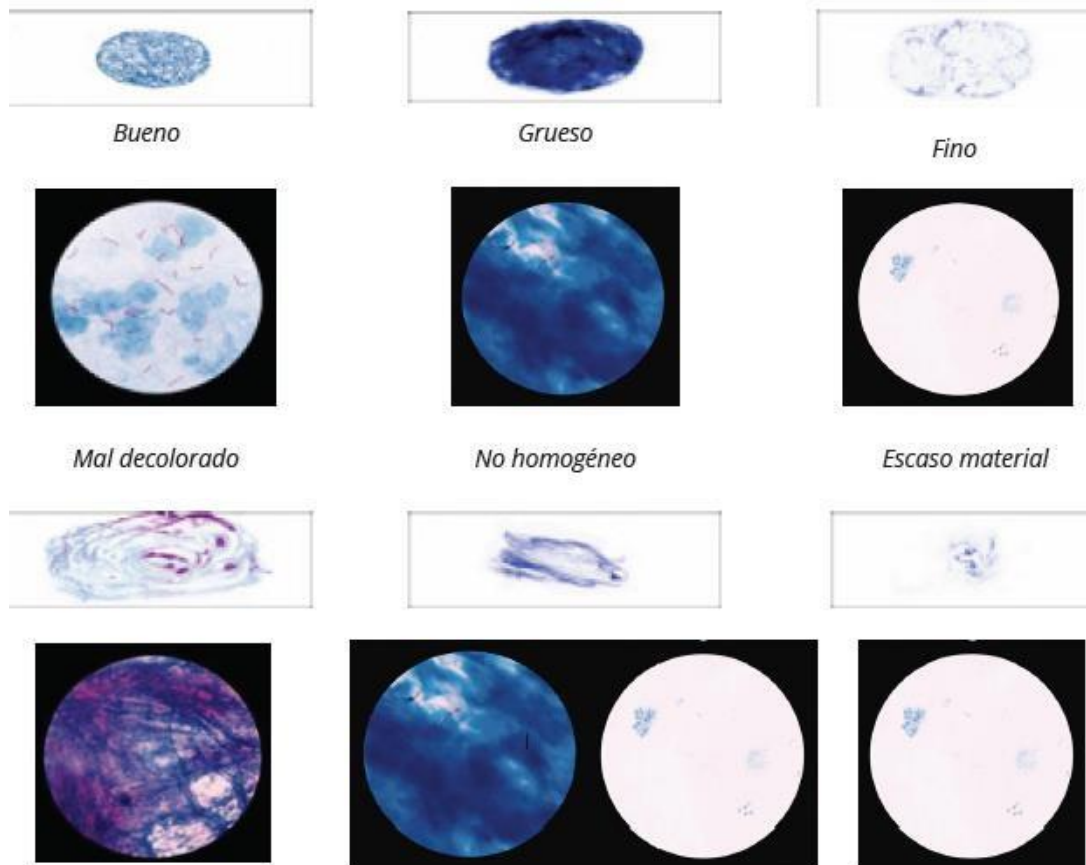
- Tinción de Ziehl-Neelsen (ácido-alcohol resistencia calentando)
- Tinción de Kinyoun (ácido-alcohol resistencia sin calentar)
- Tinción ácido-alcohol resistencia con fluorocromo Truant

El procedimiento: la muestra clínica se tiñe con el colorante carbol fucsina (métodos de Ziehl Neelsen o de Kinyoun) o colorantes fluorescentes de auramina-rodamina (método del fluorocromo de Truant), como colorantes primarios de la tinción, posteriormente se decolora con una solución de alcohol ácido y, por último, se aplica una tinción de contraste.

2.4.6.2.3.1.1 Calidad del Frote

Se selecciona la sección más densa de la muestra, o purulenta con la ayuda de un aplicador; si la muestra contiene varias porciones mucopurulentas, tratar de mezclarlas, con movimientos muy suaves del palillo y luego, tomar una porción de la mezcla y realizar un extendido en un portaobjetos, tratando de que quede todo de manera homogénea; se espera que se seque y se procede a fijar, para luego proceder a teñir, (Sequeira & Barrera, 2018).

Figura 4. Calidad del extendido y coloración, parámetros para considerar. Tomado de Sequeira & Barrera (2018).



2.4.6.2.3.1.2 Lectura.

Luego se procede a examinar la muestra con un microscopio óptico o con un microscopio de fluorescencia; en el caso de utilizar colorantes fluorescentes, el objetivo principal es determinar si en el extendido hay bacilos ácido-alcohol resistentes y, en el caso de encontrarlos, proceder a, cuantificar por campos, para tener un estimado aproximado de la riqueza en bacilos.

Tabla 6

Número de campos a examinar

Promedio de BAAR encontrados	Número mínimo de campos útiles a examinar
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20
De 1 a 4 en todo el extendido	200

Nota: El número de campos a examinar depende de si se encuentran bacilos y en qué concentración. Tomado de Sequeira & Barrera (2018).

Si se encuentran bacilos, es necesario sacar el promedio de BAAR encontrados por campo, el cual se obtiene al sumar el total de BAAR que se cuenta, dividido por el número total de campos observados.

Tabla 7

Escala internacional para Informes 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 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 (+++)

Nota: Escala internacional para informes de extendidos examinados por Ziehl Neelsen. Tomado de Sequeira & Barrera (2018).

En cuanto a la sensibilidad de las tres técnicas, la del fluorocromo es la más sensible porque la muestra se puede observar rápidamente con bajo aumento para zonas de fluorescencia, y posteriormente se confirma la presencia de bacterias ácido alcoholes resistentes con un mayor aumento (Murray et al., 2017).

Otro dato a considerar es la eliminación de los bacilos por el esputo debido a que no es constante, es conveniente analizar más de una muestra de cada paciente para que el diagnóstico sea más preciso. En la primera muestra se detecta aproximadamente el 80% de los casos positivos, la segunda agrega un 15% y la tercera un 5% más haciendo un total de 100%. De no ser posible las tres los organismos internacionales recomiendan la obtención de dos muestras por paciente (Sequeira & Barrera, 2018).

2.4.6.2.3.2 Cultivo

El segundo método de recomendado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para diagnosticar tuberculosis es el cultivo ya que complementa a la baciloscopía al poner en evidencia bacilos viables presentes aun en escasa cantidad en una muestra de lesión (10-100 BAAR), lo que permite caracterizarlos para certificar que sea el bacilo de la tuberculosis el causante de la enfermedad, y una vez desarrollado e identificado dar a conocer si es sensible o resistente a las drogas antituberculosas (Barrera et al., 2020).

Es por ello que el cultivo de micobacterias es el estándar de oro para el diagnóstico de la tuberculosis, al ser preciso y específico es el único método para certificar la curación de la misma debido a estas características es esencial para las pruebas de susceptibilidad a fármacos que son determinantes en el tratamiento (Ríos et al., 2017).



2.4.6.2.3.2.1 Uso Selectivo del Cultivo.

Al momento del diagnóstico es necesario cultivar todas las muestras de pacientes sintomáticos, que presenten signos clínicos y/o radiografía así como imágenes compatibles con tuberculosis o alguna de las siguientes características:

- Baciloscopía negativa de 3 muestras respiratorias
- Localización extra pulmonar de la enfermedad
- Niños e inmunosuprimidos, particularmente HIV positivos
- Baciloscopía positiva en lavado gástrico, lavado bronquial o hisopados
- Pacientes con antecedentes de tratamiento antituberculoso, especialmente si se registró abandono o fracaso
- Personas con exposición a infección por bacilos resistentes a las drogas (contactos de casos con tuberculosis resistente, internados o trabajadores de instituciones de salud o de prisiones donde se registran casos con tuberculosis multirresistentes)

Durante el control de un tratamiento de tuberculosis se debe cultivar muestras de:

- Casos de tuberculosis crónicos o con baciloscopía positiva en el control del segundo mes de quimioterapia o en un control posterior.
- Casos diagnosticados con baciloscopía negativa y que convierten a positiva su baciloscopía durante el tratamiento.

Y como parte de la vigilancia de la resistencia a drogas antituberculosas se deben cultivar todas las muestras de casos que se encuentren bajo estudio o vigilancia.

El cultivo puede ser aplicado en laboratorios con medianos recursos al ser aconsejable realizarlo tanto en el medio sólido como en el líquido debido a que el cultivo en medios líquidos puede detectar una carga bacteriana muy baja y obtener resultados más precozmente. Con relación a los tipos de medio de cultivo disponibles, los medios sólidos son menos costosos, pero

se necesita más tiempo para hacer crecer el organismo. Por otro lado, los medios líquidos son costosos, pero más sensibles y producen organismos a partir de los 10-14 días (Talha et al., 2020).

“El siguiente cuadro muestra los métodos más utilizados internacionalmente, particularmente en Latinoamérica, para el cultivo del bacilo de la tuberculosis y que han demostrado ser útiles para el manejo clínico y epidemiológico de la tuberculosis” (Barrera et al, 2020).

Tabla 8

Métodos de Cultivo y Descontaminación

Método de Descontaminación	Medio(s) de cultivo necesarios		Requerimientos	
			Equipamiento	Presupuesto
Kudoh Ogawa	A base de huevos, acidificados (Ogawa)	Pueden ser preparados en el laboratorio a partir de una fórmula simple No dependientes de insumos o equipos de una marca determinada	-----	Bajo
Petroff modificado NALC- NaOH	A base de huevos, neutros (Löwenstein-Jensen, Stonebrink, Ogawa)		Adecuado y con buen funcionamiento verificado	Bajo-intermedio
	A base de huevos, y agar o caldos enriquecidos Middlebrook 7H11,7H9)*	Los medios de Middlebrook pueden ser preparados en el laboratorio partiendo de su fórmula compleja, o con bases deshidratadas, y enriquecimientos y mezclas de antibióticos listos para agrega	Adecuado y con buen funcionamiento verificado	Intermedio Los enriquecimientos de los medios y el NALC son los insumos de mayor costo
	Caldos con sensores del desarrollo bacteriano (MGIT, MB/BacT)	Pueden ser leídos visualmente o con equipos automatizados Producidos por la industria Los	Adecuado y con buen funcionamiento verificado	Alto



		equipos generan dependencia de insumos de una marca determinada		
--	--	---	--	--

Nota:* = El medio de Kirchner es un caldo con fórmula más simple y económica pero es enriquecido con suero bovino estéril que, en general, no está fácilmente disponible. Tomado de (Barrera et al., 2,020).

2.4.6.2.3.2.2 Löwenstein Jensen.

Es el medio sólido, utilizado para el cultivo de micobacterias, contiene niveles bajos de penicilina y ácido nalidíxico para inhibir el crecimiento de otras bacterias grampositivas y gramnegativas. El verde de malaquita también inhibe la mayoría de las bacterias y la presencia de glicerol mejora el crecimiento de MTB tiene una sensibilidad que oscila según varias literaturas entre 74-86% y especificidad 98%. Se interpreta mediante la observación macroscópica de una vez por semana, durante 8 semanas (Agudelo et al., 2008; Ping et al, 2019 & Yifeng et al., 2020)

2.4.6.2.3.2.3 MIGIT 960 (Mycobacteria Growth Indicator Tubes System).

Es un sistema de detección de micobacterias específicamente tuberculosis automatizado, utilizado para evidenciar el crecimiento, detección y susceptibilidad de dichas micobacterias es un equipo de alto volumen diseñado para satisfacer las necesidades de los laboratorios de igual manera volumen medio y alto de monitorización continua, diseñado para todo tipo de muestras clínicas, excepto sangre y orina (Becton & Dickinson , 2020).

Este sistema incluye un medio de cultivo líquido, un suplemento de crecimiento y una mezcla de antibióticos. Su principio de funcionamiento se basa en la tecnología fluorescente de extinción de oxígeno para detectar la cantidad de consumo de oxígeno inducido por los microorganismos en crecimiento, (Sharma et al., 2010).

Esta metodología cuenta con una sensibilidad de 80-100% (Agudelo et al., 2008; Heifets et al., 2000).



2.4.6.2.3.3 Pruebas Moleculares

Son una nueva generación de herramientas que están siendo utilizadas para el diagnóstico de las tuberculosis desde el año 2010. (Thomas, 2010). Estas técnicas detectan secuencias de ácidos nucleicos específicos de las micobacterias. Son altamente sensibles debido a que la amplificación es específica, independientemente de otras bacterias que podrían estar en la muestra. Los métodos que se utilizan en la actualidad son específicos para *M. tuberculosis* e incluso algunos pueden determinar también la sensibilidad a la Rifampicina, como marcador secundario de las cepas multirresistentes. (World Health Organization, 2021).

Entre las ventajas de estas técnicas se encuentra su rapidez y permitir un diagnóstico acelerado con alta precisión es por ello que la Organización Mundial de la Salud en sus directrices consolidadas sobre el diagnóstico de tuberculosis da su respaldo a nuevas clases de pruebas de amplificación de ácido nucleico (NAAT) entre las cuales se encuentra:

2.4.6.2.3.3.1 Xpert MTB/RIF ultra.

Es una estrategia diagnóstica rápida y precisa que se realiza en los sistemas del instrumento GeneXpert, como prueba de diagnóstico in vitro de metodología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, anidada y semicuantitativa, para la detección de ADN de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). En muestras en las que se detecta el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, el ensayo Xpert MTB/RIF Ultra también detecta las mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a Rifampicina una de las principales mutaciones que causan dicha resistencia (Cepheid, 2019).

Nos permiten la identificación de infecciones por tuberculosis y ayudan en la resistencia a múltiples fármacos ayudando en el diagnóstico de tuberculosis activa siendo que un resultado positivo proveniente de una sola muestra de esputo se considera suficiente para el diagnóstico independientemente de los resultados de la prueba de BAAR. (Talha et al., 2020).

Tipos de Muestra



- Esputo
- Lavado bronco alveolar (BAL)
- Lavado gástrico

Esta metodología ha sido recomendada por la OMS para el diagnóstico de tuberculosis (TB) de primera línea como una alternativa a la baciloscopía especialmente en personas infectadas por el VIH por su alta sensibilidad y un tiempo de respuesta corto. Ofreciendo una estimación cuantitativa de la carga micobacteriana en forma de valores de umbral de ciclo (Ct) que se correlacionan inversamente con la concentración de bacilos de TB.

2.4.7 Diferentes estudios de concordancia de métodos

Actualmente los métodos utilizados para el diagnóstico de laboratorio de la tuberculosis siguen en constante evolución con el fin de lograr resultados más rápidos, menos costosos, pero sobre todo precisos y para todo ello se realizan diferentes estudios para verificar la concordancia de los métodos actuales.

La farmacorresistencia en tuberculosis es una emergencia de salud por su impacto negativo en la transmisión por ellos en un estudio para determinar la precisión diagnóstica de Xpert MTB / RIF y Xpert Ultra se encontró que Xpert MTB / RIF es sensible y específico para diagnosticar la resistencia a la Rifampicina y fue más sensible a la tuberculosis en los participantes con baciloscopía positiva que en los participantes con baciloscopía negativa y con VIH negativos que en los participantes con VIH. En comparación con Xpert MTB / RIF, Xpert Ultra la versión más reciente tuvo una mayor sensibilidad y menor especificidad para la tuberculosis y una sensibilidad y especificidad similares para la resistencia a la Rifampicina. Toda esta información es importante debido a que proporcionan resultados precisos que pueden permitir un inicio rápido del tratamiento para la tuberculosis multirresistentes (Horne et al., 2019). A lo largo de los años se han realizado múltiples estudios para evaluar la precisión diagnóstica de las diferentes

metodologías actuales se han hecho múltiples estudios buscando mejorar el diagnóstico de TB en el año 2016 se evaluaron frotis, cultivo y Xpert MTB / RIF donde se demostró que la sensibilidad de la baciloscopía para la detección de *M. tuberculosis*, calculada con cultivo positivo, fue del 63,8% (95% CI 50,1-76), la especificidad fue del 100% (95% CI 98,9- 100), el valor predictivo positivo (VPP) fue del 100% (95% IC 91,5-96,5) y el valor predictivo negativo (VPN) fue 94,4% (IC del 95%: 92,01-96,6) y la sensibilidad de Xpert MTB / RIF fue 100% (95% CI 93,8 - 100), especificidad 100% (IC 95% 98,9 -100), VPP 100% (IC 95% 93,8-100) y VPN 100% (IC del 95%: 98,9 -100). En resumen, encontramos que Xpert MTB / RIF proporciona una mayor sensibilidad que la microscopía de frotis, tiene una sensibilidad cercana a la cultura sólida, y es muy específica (Sauzullo et al, 2016).

En estudios donde se evaluó el sistema de cultivo líquido Bactec MGIT con el método Lowenstein-Jensen (LJ) para el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis* se demostró una mejor tasa de recuperación con un tiempo de respuesta más corto para las muestras clínicas con frotis positivo y negativo en comparación con el método LJ convencional con una sensibilidad mejorada en un 10% para la recuperación este fue un estudio transversal de un total de 908 muestras entre el 1 de enero de 2013 y el 31 de diciembre de 2014 todas muestras clínicas se procesaron siguiendo procedimientos estándar y la suspensión final se inoculó en tubos MGIT y LJ inclinado donde la identificación y confirmación de MTBC se realizó mediante tinción con ZN y prueba SD Bioline en sus resultados encontramos la tasa de recuperación de LJ y MGIT, para muestras con frotis positivo fue del 66,7% (74/111) y 87,4% (97/111) respectivamente, mientras que para las muestras con frotis negativo muestras fue 13,4% (108/797) y 17,4% (139/797) para los métodos LJ y MGIT, respectivamente. Como observamos la tasa de recuperación general para MGIT es significativamente más alta que los métodos LJ [26% (236/908; vs. 20%, 182/908, $P = 0.002$)] (Diriba et al., 2017).



Otro estudio donde se evaluó el desempeño de Xpert MTB / RIF y BACTEC-MGIT 960 siempre en la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y resistencia a la Rifampicina en pacientes con tuberculosis asociada a neumoconiosis dando como resultado que la metodología de Xpert MTB / RIF tiene un buen desempeño en la detección de tuberculosis y resistencia a la Rifampicina ello basado en un estudio de 133 casos hospitalizados con sospecha de tuberculosis activa asociada a neumoconiosis, la muestra utilizada fue de esputo se le realizó cultivo de LJ modificado, prueba de susceptibilidad a fármacos con método de proporción convencional, Xpert MTB / RIF y BACTEC-MGIT 960. Se analizó la sensibilidad y especificidad de las 133 muestras, las tasas positivas de pacientes con tuberculosis en la prueba Xpert MTB / RIF, BACTEC-MGIT 960 y cultivo de LJ modificado fueron 37,59%, 34,59% y 30,08%, respectivamente. No hubo diferencia significativa entre las tres pruebas respectivamente ($P > 0,05$). Según el cultivo LJ modificado, la sensibilidad de Xpert MTB / RIF y BACTEC-MGIT 960 en la detección de tuberculosis fue del 92,5% y 95,0% respectivamente, y la especificidad en la resistencia a Rifampicina fue del 86,0% y 91,4% respectivamente. No hubo diferencias significativas entre Xpert MTB / RIF y BACTEC-MGIT 960 ($P > 0.05$). De acuerdo con la prueba de susceptibilidad farmacológica del método de proporción convencional, la sensibilidad de Xpert MTB / RIF y BACTEC-MGIT 960 para detectar la resistencia a la Rifampicina fue del 90,0% y del 100%, y la especificidad fue del 92,6% y el 96,4%. No hubo diferencias significativas entre Xpert MTB / RIF y BACTEC-MGIT 960 ($P > 0.05$) (Jin et al., 2019)

También se ha investigado la sensibilidad y especificidad comparativas de la baciloscopía y el cultivo convencional en relación con Ensayo Xpert MTB / RIF en pacientes con sospecha de tuberculosis. Estudio de tipo transversal en el condado de Nyamira Hospital de referencia entre los pacientes con sospecha de tuberculosis en Kenia. Para lo cual se utilizó el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* como estándar de referencia la muestra utilizada fue esputo y sus resultados mostraron que entre 682 participantes inscritos 182 (26,69%) fueron

diagnosticados con TB positivos mientras que 500 (73,31%) no tenían TB. Comparando los métodos Xpert MTB/RIF tuvo una mayor sensibilidad (100%) y especificidad (99,4%) en relación con el cultivo y un valor predictivo positivo de (98,4%) y un valor predictivo negativo valor de (100%). La microscopía de frotis reveló una baja sensibilidad (26,4%) y una mayor especificidad (98,2%).

También se realizó un análisis de concordancia de baciloscopía y Xpert MTB/RIF. Los hallazgos revelaron la prueba Xpert MTB / RIF tuvo una alta sensibilidad (Moraa et al., 2017)

CAPITULO III

SITUACION ACTUAL DE LOS DATOS ESTADISTICOS DE TUBERCULOSIS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE GUATEMALA DURANTE EL AÑO 2,020

Tabla 1

Características y factores de riesgo asociados a Tuberculosis en los pacientes evaluados

	Xpert MTB/RIF Positivo	Xpert MTB/RIF Negativo	Significancia
Genero	Frecuencia (%)	Frecuencia (%)	P valor
Masculino	10 (9.17)	71 (65.14)	0.112
Femenino	7 (6.42)	21 (19.27)	
Edad			
Menos de 25	1 (0.92)	2 (1.83)	0.597
25-44	7 (6.42)	49 (44.95)	0.36
45-64	6 (5.50)	24 (22.02)	0.435
Mayor 64	3 (2.75)	17 (15.60)	0.935
Historia de Tratamiento			
Retratamiento	3 (2.75)*	3 (2.75)	0.017
Caso Nuevo	14 (12.84)	89 (81.65)	
Comorbilidades			
Diabetes	2 (1.83)	11 (10.09)	0.982
VIH	7 (6.42)	41 (37.61)	0.796
Enfermedad Renal	1 (0.92)	10 (9.17)	0.462
Cáncer	0 (0.00)	11 (10.09)	0.133
Otras	10 (9.17)	52 (47.71)	0.53
Ninguna	3 (2.75)	9 (8.26)	0.341
Frotis Ziehl Neelsen			
Negativo	11 (10.09)	92 (84.40)	<0.001
Positivo	6 (5.50)	0 (0.00)	
Cultivo			
Negativo	11 (10.09)	91 (83.49)	<0.001
Positivo	6 (5.50)	1 (0.92)	

Nota: * = 3 pacientes con baciloscopía negativa, 2 con cultivo negativo y 1 con cultivo positivo.
Fuente datos obtenidos experimentalmente.

Nota: En la Tabla 1 se observan las características demográficas y los factores de riesgo estudiados en 109 muestras, encontrándose diferencia significativa en aquellos pacientes con historia previa de tratamiento antifímico en el último año previo al estudio, en el frotis de Ziehl-Neelsen y en el cultivo para micobacterias.

Tabla 2

Rendimiento del Xpert MTB/RIF versus Cultivo para todas las Muestras en Estudio.

Cultivo Versus	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP% (95% CI)	VPN %
Xpert MTB/RIF	86	89	35	99
VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.				

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente.

Nota: En la tabla 2 se detalla el rendimiento del cultivo ante Xpert MTB/RIF versus el cultivo (método de referencia) para las 109 muestras del estudio, incluyendo muestras validadas y no validadas por el método PCR.

Tabla 3

Rendimiento del Xpert MTB/RIF vs Cultivo para Muestras Validadas por el Método Xpert MTB/RIF.

Cultivo Versus	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP% (95% CI)	VPN %
Xpert MTB/RIF	100	94	40	100
VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.				

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente

Nota: En la tabla 3 se detalla el rendimiento de cultivo ante Xpert MTB/RIF basado en la sensibilidad, especificidad y valores predictivos en las muestras validadas para el método Xpert MTB/RIF.



Tabla 4

Frecuencia de tipos de muestras analizadas para identificación de M. tuberculosis

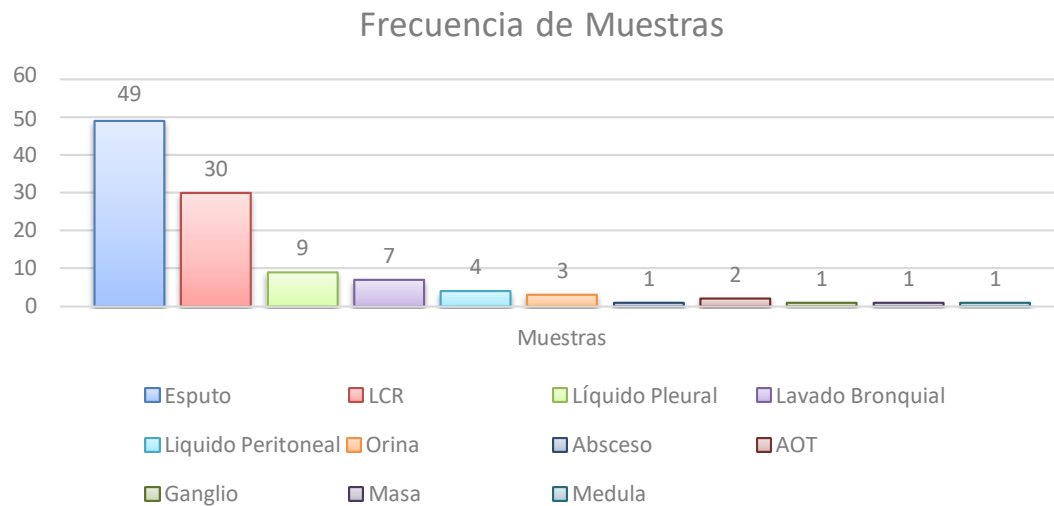
	Xpert MTB Positivo	Xpert MTB Negativo	
Tipo de Muestra	Frecuencia (%)	Frecuencia (%)	Total
Espuito	9 (8.26)	40 (36.70)	49
Líquido Cefalorraquídeo (LCR)	0 (0.00)	30 (27.52)	30
Líquido Pleural	3 (2.75)	6 (5.50)	9
Lavado Bronquial	2 (1.83)	5 (4.59)	7
Líquido Peritoneal	0 (0.00)	4 (3.67)	4
Orina	0 (0.00)	3 (2.75)	3
Aspirado Orotraqueal (AOT)	1 (0.92)	1 (0.92)	2
Absceso	0 (0.00)	1 (0.92)	1
Ganglio	1 (0.92)	0 (0.00)	1
Granuloma	1 (0.92)	0 (0.00)	1
Masa	0 (0.00)	1 (0.92)	1
Medula	0 (0.00)	1 (0.92)	1
Total	17	92	109

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente

Nota: En la Tabla 4 se observan todos los tipos de muestras incluidas en el estudio con su porcentaje de frecuencias, mostrándose que las más frecuente fueron las muestras de espuito en primer lugar, seguido de las muestras provenientes de LCR y las otras muestras fueron en menor proporción.

Figura 1

Distribución de la frecuencia de tipo de muestras.



Fuente: Datos obtenidos experimentalmente

Nota: La figura 1 muestra la distribución del tipo de muestras analizadas durante el estudio.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Un diagnóstico inicial de tuberculosis es sumamente importante para un tratamiento efectivo además de una reducción de la transmisión de esta enfermedad en la comunidad, lo cual puede favorecerse con los avances de la tecnología y la implementación de nuevos métodos de diagnóstico por la metodología molecular.

En el presente estudio se analizaron 109 muestras pulmonares y extra pulmonares en el período enero a diciembre del año 2020, en un hospital tercer nivel. Todas las muestras trabajadas fueron de pacientes con sospecha clínica de TB y fueron analizadas tanto por PCR (Xpert MTB/RIF) como con microscopía (Ziehl-Neelsen) y por cultivo sólido y líquido.

En la Tabla 1 se observan los datos demográficos y factores de riesgo que podrían haber estado asociados a tuberculosis. En el estudio el 70.31 % (81 pacientes) fueron de sexo masculino y 25.69 % (28 pacientes) de sexo femenino. La mayoría estuvo en la edad comprendida de 25 a 44 años (51.37 %). Cabe resaltar que pese a que se consideraron las variables que por literatura tendrían significancia estadística, en el presente estudio únicamente tuvo una diferencia estadísticamente significativa la del uso de tratamiento antifímico previo al análisis ($P = 0.017$).

Así mismo, es importante mencionar que el rol del Xpert MTB/RIF en pacientes con historia de tratamiento es aún desconocido, ya que entre las limitaciones del método según su inserto es una de ellas debido a que en ellos pueden permanecer trazas de la Micobacteria ya sea extracelulares o asociadas a células no intactas, las cuales pueden ser amplificadas en PCR, aunque por ser inviables no son observadas en microscopía ni recuperables en el cultivo (Cepheid, 2019; Herrera et al., 2017). Esto aunado a que se desconoce si los pacientes completaron el tratamiento, explica el hecho de que los resultados positivos por PCR fueron 17 y solo 6 fueron detectados en microscopía y cultivo.

Por otra parte, al incluir en el estudio muestras provenientes de pacientes con VIH se esperaba un valor con significancia estadística en el aislamiento de los bacilos de tuberculosis debido a la posibilidad que tienen estos pacientes de presentar 18 veces más la enfermedad, según el informe de la OMS respecto a la población más en riesgo de TB del año 2,020 (Organización Mundial de la Salud, 2020). Caso contrario a lo sucedido (Tabla 1). La razón por la cual pudo deberse dado esta inconsistencia es que para pacientes VIH se sugieren analizar dos muestras según protocolo de uso clínico del Xpert MTB/RIF del Ministerio de Salud Pública de Ecuador por ser casos con posibilidad de ser paucibacilares, lo que limita el diagnóstico (Protocolo de uso Clínico del PCR en tiempo real , 2012).

La Diabetes mellitus y pacientes renales crónicos presentan estos factores de riesgo para la tuberculosis activa y latente según la Guía de Práctica Clínica Basadas en Evidencia (Ríos et al., 2017). La Diabetes Mellitus (DM) es una creciente epidemia actualmente que deteriora la respuesta inmune al inducir una función anormal tanto en la respuesta inmunitaria innata como en la adaptativa (Birhanu et al., 2019), lo que aumenta el riesgo de desarrollo combinado de la enfermedad de tuberculosis, complicaciones, resultados del fracaso del tratamiento, recaídas y hasta la muerte (Rami et al., 2017). En el presente estudio únicamente dos pacientes detectados por Xpert MTB/RIF tuvieron DM. La poca frecuencia de este factor de riesgo en pacientes con tuberculosis pudo deberse a que si bien la Diabetes mellitus puede descompensar las defensas del cuerpo, se desconoce el porcentaje de progreso de tuberculosis latente a activa siendo esta última la que pudo detectarse por los métodos empleados (Organización Panamericana de la Salud, 2013).

Por otro lado la insuficiencia renal crónica (IRC) es un factor de riesgo para desarrollar TB como se mencionó anteriormente y su mortalidad es mayor (Anibarro, 2013). Debido a que su identificación y diagnóstico es difícil y puede retrasarse ya que la presentación clínica puede ser atípica y algunos síntomas pueden ser atribuidos a la insuficiencia renal (Albornoz et al, 2017).

De igual manera que con la DM la población reportada positiva para TB con la comorbilidad IRC fue escasa (1 paciente reportado positivo por medio de Xpert MTB/RIF) lo que pudo haber derivado en la no significancia de la variable para nuestro estudio.

El Cáncer es otro factor de riesgo no solo por la enfermedad misma sino también por estar recibiendo quimioterapia o tratamiento con medicamentos inmunosupresores todo ello puede reactivar una tuberculosis latente (Escalante et al., 2004). Las neoplasias que en diferentes estudios se asocian con un mayor riesgo de enfermedad tuberculosa son las neoplasias hematológicas, el cáncer de pulmón y los de origen en nasofaringe y esófago (García et al, 2016). Como apreciamos en la literatura la enfermedad tuberculosa en pacientes con cáncer es una complicación grave, con elevada mortalidad pero que en nuestro estudio no fue considerada la variable porque ninguno de nuestros pacientes con resultado positivo para *Mycobacterium tuberculosis* presento dicha patología.

La OMS recomienda el uso del Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB pulmonar y en muestras seleccionadas para el diagnóstico de TB extra pulmonar.

En la Tabla 1 se observa que de los 17 resultados positivos a través del Xpert MTB/RIF (15.59% de todos los resultados) sólo 6 fueron positivos con cultivo y los mismos también con baciloscopía. Esto resultó en una diferencia estadísticamente significativa y pudo deberse a varios factores, dentro de los que pueden mencionarse la calidad de muestra, el tipo de muestra y la carga bacilar de la misma. En cuanto a la calidad de la muestra, cabe mencionar que si bien fue una limitante del presente estudio no contar con los registros de la calidad de las muestras analizadas, varias investigaciones han reportado que muestras principalmente salivares tienden a ser positivos en PCR mientras que en cultivo suelen ser negativos debido a la baja carga bacilar que poseen (Acuña-Villaorduña et al., 2017; Moraa et al., 2017).

Otra variable que pudo influir y debe considerarse es el tipo de muestra ya que la mayoría de las mismas contienen otras bacterias contaminantes, por lo cual se deben de emplear procedimientos para destruirlas a fin de preservar a las micobacterias, sin embargo, esto puede llegar a dañar a las micobacterias pues en el proceso de descontaminación de la muestra se ve afectada de forma perjudicial la viabilidad de las mismas, tal y como fue reportado en el estudio de Dorronsoro & Torroba (2007), en el cual se observó una reducción de la sensibilidad general del cultivo a sólo el 85% y mucho más baja en la enfermedad paucibacilar.

A continuación, se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del GeneXpert versus el cultivo, siendo este último el método de referencia. En la Tabla 2 se observan las estimaciones realizadas al analizar todas las muestras (pulmonares y extrapulmonares), cabe resaltar que no fueron tan prometedoras como las calculadas a partir de muestras validadas por el método Xpert MTB/RIF según la OMS (Tabla 3) (Cepheid, 2019) en las que se obtuvo una sensibilidad del 100 % y especificidad del 94 %. A su vez, cabe notar que el VPP fue de 40 % y el VPN del 100%; esto puede explicarse por el hecho de que es probable que la PCR sea positiva sin que el bacilo esté necesariamente viable, de ese modo un resultado positivo no indica en su totalidad la posibilidad de que el paciente esté enfermo, por lo que debe correlacionarse con la clínica; caso contrario al VPN, en el cual por la misma razón, de no detectarse ninguna traza, descarta por completo la posibilidad de que el paciente se encuentre enfermo (Cepheid, 2019).

Por último, en la Figura 4 se puede notar que, al ser un hospital de tercer nivel, fueron recibidos diferentes tipos de muestras, tanto para la búsqueda de Tuberculosis pulmonar como de tuberculosis extrapulmonar. La mayoría de las muestras fueron provenientes del aparato respiratorio siendo el esputo la más recibida, representando casi la mitad (49 %) de todas las muestras, debido a que la tuberculosis pulmonar es la forma clínica más frecuente y preocupante por su capacidad de transmisión (Organización Mundial de la Salud, 2020).

Consecutivamente, la muestra más frecuente fue líquido cefalorraquídeo, seguido del líquido pleural. Si bien es cierto que las muestras extrapulmonares no han sido validadas por la OMS para el método de Xpert MTB/RIF, las mismas fueron incluidas ya que estudios recientes han demostrado que la frecuencia relativa de la tuberculosis extrapulmonar ha ido en aumento (Ketata et al., 2015) probablemente debido a su diseminación hematógica o linfática (Mayta et al., 2011).

Así mismo, una revisión Cochrane sobre la precisión de las pruebas (Xpert MTB/RIF y Xpert Ultra) para diagnosticar la tuberculosis fuera de los pulmones (extra pulmonar) y la resistencia a la Rifampicina de (Kohli et al., 2021) concluyó tras la revisión de 69 estudios que el Xpert MTB/RIF podría ser útil para diagnosticar la tuberculosis extrapulmonar tomándose en cuenta que la sensibilidad varía en las diferentes muestras extrapulmonares: mientras que para la mayoría de las muestras la especificidad es alta. Lo anterior concuerda con lo evidenciado en la Tabla 4, donde se observa que de las 17 muestras positivas por el método Xpert, 6 fueron muestras extrapulmonares, las cuales representaron un 35% de las muestras positivas del estudio, siendo 3 de ellas de origen pleural, lo cual apoya el hecho de que la tuberculosis extrapulmonar es un reto clínico actual (Amado et al., 2020).

CAPITULO IV

APORTE DE INVESTIGACION

El presente estudio aporta información valiosa del área de Microbiología de un hospital de tercer nivel en Guatemala así mismo sus resultados son datos que pueden ser de utilidad para los diferentes laboratorios que busquen la implementación de este método en nuestro país.

Consideramos que este estudio representa un aporte más respecto a la evaluación de esta prueba molecular ya disponible en el país, esto contribuye al Plan Estratégico “Alto a la tuberculosis” de la OMS, y por otra parte los resultados expuestos en este trabajo demuestran el bajo índice de resistencia a la Rifampicina que presenta nuestro país en este grupo de riesgo

La prueba Xpert MTB/RIF™ ha sido recomendada por la OMS desde el año 2010, como una prueba molecular rápida para el diagnóstico de la tuberculosis y la resistencia a la Rifampicina. Es importante evaluar los resultados de su uso en nuestro país como cualquier metodología introducida para extrapolarlo a los guatemaltecos. Esto proporciona un mayor nivel de confianza para el profesional en laboratorio clínico y el médico que refiere esta prueba.

Este tipo de investigaciones permite adquirir nuevos conocimientos sobre métodos automatizados para el diagnóstico basados en biología molecular para diagnóstico de tuberculosis, en un país endémico como el nuestro y a la vez obtener una evaluación de la sensibilidad y especificidad que presenta el método Xpert MTB/RIF en la detección del *Mycobacterium tuberculosis*.

CONCLUSIONES

1. La exactitud diagnóstica del Xpert MTB/RIF para muestras validadas con el cultivo para tuberculosis como estándar diagnóstico, fue una sensibilidad de 100% y especificidad de 94%.
2. La estimación de probabilidad de enfermedad del Xpert MTB/RIF para muestras validadas con el cultivo de tuberculosis como método de referencia fue de 40% para el valor predictivo positivo y 100% para el valor predictivo negativo.
3. El esputo fue el principal tipo de muestra recibida para la búsqueda de *Mycobacterium tuberculosis* con una frecuencia de 36.7% seguida de muestra de Líquido cefalorraquídeo con 27.52% y el líquido pleural 5.5%.
4. Los factores que presentan diferencia estadísticamente significativa en la detección de *Mycobacterium tuberculosis* por Xpert MTB/RIF fue el uso previo de tratamiento antituberculoso.
5. Las principales comorbilidades que presentaron los pacientes cuyas muestras presentaron la detección de *Mycobacterium tuberculosis* fueron VIH con 37.61% seguida de diabetes mellitus y cáncer con 10.09%.

BIBLIOGRAFÍA

Abrego, B. (3 de Marzo de 2018). *Guatemala va «por buen camino» en la erradicación de la tuberculosis*. Obtenido de Portal Electrónico del Diario de Centro América: <https://dca.gob.gt/noticias-guatemala-diario-centro-america/guatemala-va-por-buen-camino-en-la-erradicacion-de-la-tuberculosis/>

Acuña-Villaorduña C, Orikiriza P, Nyehangane D, White L, Mwanga-Amumpaire J, Kim S, Bonnet M, Fennelly K, Boum Y & Jones-López E. (2017). *Effect of previous treatment and sputum quality on diagnostic accuracy of Xpert® MTB/RIF*. Obtenido de National Library of Medicine: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28284253/>

Agudelo Carlos, Builes Luz Natalia, Hernández Mauricio & Robledo Jaime. (Julio de 2008). *Nuevos métodos para el diagnóstico de la tuberculosis*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932008000300010#:~:text=La%20especificidad%20y%20la%20sensibilidad,80%E2%80%93386%25%2C%20respectivamente.

Albornoz Henry, Amaya Gabriela, Badía Federica, Buroni María & Cabrera Susana. (2017). *Guía Nacional para el manejo de la Tuberculosis en situaciones especiales*. Obtenido de Pan American Health Organization: https://www.paho.org/uru/dmdocuments/Manual_Manejo_Tuberculosis_web%20%2010.08.018.pdf

Amado Garzón Sandra B, Moreno-Mercado Sebastián, Martínez-Vernaza Samuel, Lasso Apráez Javier & Andrés Felipe Lasserna Estrada. (30 de Junio de 2020). *Tuberculosis extrapulmonar*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-08392020000400066



Anibarro, L. (4 de Noviembre de 2013). *Tuberculosis e Insuficiencia Renal Crónica*. Obtenido de Unidad de Investigación en Tuberculosis de Barcelona: <http://www.uitb.cat/wp-content/uploads/2014/11/lanibarro.pdf>

Barillas, S. E. (21 de Enero de 2020). Procedimiento Estándar Operacional de Conservación de la Muestra. Guatemala, Guatemala.

Barrera Lucia, Malbran Carlos & Sequeira de Latini María Delfina. (11 de Noviembre de 2,020). *Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis*. Obtenido de Organización Panamericana de la Salud : https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/18616/tblabscultivo_2008.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Becton & Dickinson. (28 de Octubre de 2020). *BACTEC™ MGIT™ 960 System*. Obtenido de Becton, Dickinson and Company: <https://legacy.bd.com/ds/technicalCenter/clsi/clsi-mgt960-7ml.pdf>

Birhanu Ayelign, Negash Markos, Genetu Meaza, Wondmagegn Tadelo & Shibabaw Tewodros. (9 de Septiembre de 2019). *Immunological Impacts of Diabetes on the Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis*. Obtenido de Hindawi.com: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2019/6196532/>

Calvo Bonachera J & Rosique Bernal. (20 de Diciembre de 2,020). *Tuberculosis Diagnóstico y Tratamiento*. Obtenido de NeumoSur: <https://www.neumosur.net/files/EB03-43%20TBC%20dco%20tto.pdf>

Castillo, I. (28 de Marzo de 2020). *Boletín de la Semana Epidemiológica No.13*. Obtenido de Departamento de Epidemiologia : <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/phocadownloadpap/boletin-semana-epidemiologica/Semepi-13.pdf>



Cepheid. (2019). *Inserto Xpert MTB/RIF*. Obtenido de Cepheid.com:
<https://www.cepheid.com/Package%20Insert%20Files/Xpert-MTB-RIF-SPANISH-Package-Insert-301-1404-ES-Rev-F.pdf>

Corvino Daniela, Sanjay Shrestha & Kosmin Aaron. (27 de Septiembre de 2020). *Detección de Tuberculosis*. Obtenido de Centro Nacional de Información Biotecnológica:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448205/>

Diriba Getu, Kebede Abebaw & Yaregal Zelalem. (10 de Mayo de 2017). *Performance of Mycobacterium Growth Indicator Tube BACTEC 960 with Lowenstein–Jensen method for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis at Ethiopian National Tuberculosis Reference Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia*. Obtenido de BMC Research Notes:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5424417/>

Dorronsoro & Torroba. (2007). Microbiología de la Tuberculosis. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 67-84. Obtenido de Scielo:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272007000400006

Eldra P. Solomon, Linda R. Berg, Diana W Martin. (2013). Biología. En L. R. Eldra P. Solomon, *Biología* (págs. 645-650). México: Cengage Learning Editores, S.A. de C.V.

Escalante Maciá, Ramos J, Gallego J & Rodríguez A. (Septiembre de 2004). *Tuberculosis y cáncer*. Obtenido de Scielo.com:
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992004000900005

García Lorenzo Carme, García Gasalla Mercedes, Cifuentes Luna Carmen & Payeras Cifre Antonio. (Febrero de 2016). *Neoplasias oncohematológicas y tuberculosis*. Obtenido de Elsevier: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-neoplasias-oncohematologicas-tuberculosis-experiencia-un-S0213005X15001895>



Heifets L, Linder T & Sanchez T. . (2000). Two Liquid Medium Systems, Mycobacteria Growth Indicator Tube and MB Redox Tube, for Mycobacterium tuberculosis Isolation from Sputum Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 1227-1230.

Herrera Martínez Tania, Arias Muñoz Fabiola & Ruiz Lobos Natalia. (2017). *Implementación del GeneXpert MTB/RIF en el Programa de Tuberculosis*. Chile: Programa de Control y Eliminación de la Tuberculosis.

Horne David, Kohli Mikashmi, Zifodya Jerry, Schiller Ian, Dendukuri Nandini, Tollefson Deanna, Schumacher Samuel, Ochodo Eleanor, Madhukar Pai & Steingart Karen. (7 de Junio de 2019). *Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults*. Obtenido de Cochrane Library: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6555588/>

Jin Y, Wang H, Fan J, Pang J, Zang P, & Li T. (20 de Septiembre de 2019). *Evaluation of GeneXpert MTB/RIF and BACTEC-MGIT 960 for the detection of tuberculosis among pneumoconiosis-associated tuberculosis patients*. Obtenido de Pubmed.gov: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31594129/>

Ketata W, Rekik WK, Ayadi H & Kammoun S. (15 de Junio de 2015). *Extrapulmonary tuberculosis*. Obtenido de PubMed.gov: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25131362/>

Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, Yao M, Dheda K, Denkinge C, Schumacher SG & Steingart KR. (15 de Enero de 2021). *How accurate are tests (Xpert Ultra and Xpert MTB/RIF) for diagnosing tuberculosis outside the lungs (extrapulmonary tuberculosis) and rifampicin resistance?* Obtenido de Cochrane: https://www.cochrane.org/CD012768/INFECTN_how-accurate-are-tests-xpert-ultra-and-xpert-mtbrif-diagnosing-tuberculosis-outside-lungs

Martínez Gordillo, Y. A. (2018). *Prevalencia de Bacilo Alcohol Acido Resistente en el diagnóstico de casos de Tuberculosis Pulmonar mediante Tinción Ziehl Neelsen en pacientes sintomáticos respiratorios*. Ecuador: Universidad Central del Ecuador.

Mayta Blanco Gricelda, Paredes Navia Ximena & Zeballos López Lourdes. (10 de Septiembre de 2011). *Tuberculosis Extrapulmonar*. Obtenido de Revistas Bolivianas: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682011000900002&script=sci_arttext

Moraa Grace, Adoka Samson, Asito Stephen Amolo & Ondimu Thomas. (10 de Septiembre de 2017). *Comparative Study of Smear Microscopy, Gene Xpert and Culture and Sensitivity Assays in Detection of Mycobacterium tuberculosis on Sputum Samples among Tuberculosis Suspected Cases in Nyamira County Referral Hospital*. Obtenido de Longdom Publishing : <https://www.longdom.org/open-access/comparative-study-of-smear-microscopy-gene-xpert-and-culture-and-sensitivity-assays-in-detection-of-mycobacterium-tuberculosis-on-2161-1068-1000249.pdf>

Murray, Patrick R., Rosenthal, Ken S., & Pfaller, Michael A. (2017). *Mycobacterium y bacterias ácido-alcohol resistentes relacionadas*. En *Microbiología Medica* (págs. 218-233). España: Elsevier.

Organización Mundial de la Salud. (2019). *Perfil de Tuberculosis Guatemala*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&entity_type=%22country%22&an=%22ES%22&iso2=%22GT%22

Organización Mundial de la Salud. (14 de Octubre de 2020). *Tuberculosis*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>

Organización Panamericana de la Salud. (2013). *Diabetes y Tuberculosis*. Obtenido de Organización Panamericana de la Salud: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=8979:2013-diabetes-tuberculosis&Itemid=40045&lang=es

Pichón-Riviere Andrés, Augustovski Federico, Garcia Martí Sebastián, Alcaraz Andrea, Ciapponi Agustin & Lopez Analía. (Septiembre de 2014). *Test de Liberación de Interferón Gamma para el diagnóstico de tuberculosis*. Obtenido de Biblioteca Virtual em Saúde: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/05/996733/20140918025007_2008.pdf

Ping Zao, Qin Yu & Yu Zhang. (4 de Abril de 2019). *Evaluation of a manual identification system for detection of Mycobacterium tuberculosis in a primary tuberculosis laboratory in China*. Obtenido de Journal of International Medical Research: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300060519844399>

Protocolo de uso Clínico del PCR en tiempo real. (26 de Julio de 2012). Obtenido de Ministerio de Salud Pública de Ecuador: <https://enlace.17d07.mspz9.gob.ec/biblioteca/vigi/MANUALES/DECRETOS%20DE%20TB/protocolo%20genexpert.pdf>

Rami H, Pearson Fiona, Critchley Julia & Laith J. Abu-Raddad. (21 de Noviembre de 2017). *Association between diabetes mellitus and active tuberculosis: A systematic review and meta-analysis*. Obtenido de Plos One: <https://journals.plos.org/plosone/article/authors?id=10.1371/journal.pone.0187967>

Ramírez Rivera Nilda Alejandra, Cocotle Ronzón Bertha Elvia & Méndez Pérez Armando. (2002). *Mycobacterium tuberculosis: Su pared celular y la utilidad diagnóstica de las proteínas 16 y 38 kDa*. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana Vol. 2 No. 2*, 39-42.



Ríos Gabriel, Castillo Emilio, Arreaga Gloria, Cifuentes José & López Manuel. (2017). *Guía Practica Basada en Evidencia Tuberculosis*. Obtenido de Instituto Guatemalteco de Seguridad Social: https://www.igssgt.org/wp-content/uploads/images/gpc-be/medicina_interna/96TUBERCULOSIS.pdf

Rotimi Adigun & Rahulkumar Singh. (7 de Junio de 2020). *Tuberculosis*. Obtenido de National Center for Biotechnology Information: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441916/>

Sánchez, L. (5 de Junio de 2012). *Tuberculosis Pulmonar*. Obtenido de Muni Salud: <http://munisalud.muniguate.com/2012/05jun/pluma01.php>

Sauzullo Ilaria, Donatella Maria & Facchinetti Samantha. (2016). Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF versus smear microscopy in the early diagnosis of tuberculosis in the real life of the “Umberto I” Hospital in Rome. *New Microbiologica*, 304-306.

Sequeira María Delfina & Barrera Lucía. (2018). La Baciloscopía. En *Manual de actualización de la Baciloscopía* (págs. 40-44). Perú: Biblioteca Nacional del Perú.

Sharma Babita, Pal Nita, Malhotra Bharti & Vyas Leela. (Julio de 2010). *Comparison of MGIT 960 & pyrazinamidase activity assay for pyrazinamide susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis*. Obtenido de Research Gate: https://www.researchgate.net/publication/45538202_Comparison_of_MGIT_960_pyrazinamidase_activity_assay_for_pyrazinamide_susceptibility_testing_of_Mycobacterium_tuberculosis

Talha N. Jilani, Akshay Avula, Anoosh Zafar Gondal & Abdul H. Siddiqui. (10 de Agosto de 2020). *Active Tuberculosis*. Obtenido de Stat Pearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513246/>



Thomas, G. (8 de Diciembre de 2010). *Nueva prueba rápida para la tuberculosis*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/tb_test_20101208/es/

Tierney Dylan & Nardell Edward. (Abril de 2018). *Tuberculosis*. Obtenido de Manual MSD para el Profesional: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/micobacterias/tuberculosis-tbc?network=g&matchtype=e&keyword=fisiopatolog%C3%ADa%20de%20la%20tuberculosis&creative=435526257576&device=c&devicemodel=&placement=&position=&campaignid=10066>

Tuberculosis. (31 de Diciembre de 2018). Obtenido de Centers for Disease Control and Prevention: <https://www.cdc.gov/tb/default.htm>

Villalobos Montoya, J. B., Cisneros García, J. G., Juárez Alvarado, M. A., & Henríquez Sosa, J. C. (27 de Enero de 2020). *Latent tuberculosis infection in health personnel in America*. Obtenido de Central American Journals Online: <https://www.lamjol.info/index.php/alerta/article/view/8844>

Wong, E. M. (2019). *Clasificación Taxonómica de las Micobacterias de acuerdo a la Segunda Edición del Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*. Obtenido de Universidad Autónoma de Chihuahua: http://www.fcq.uach.mx/phocadownload/DOCENCIA/MATERIAL-DE-ESTUDIO/micobacterias/pdf/03_clasificacion.pdf

World Health Organization. (29 de Diciembre de 2020). *Global Tuberculosis Report*. Obtenido de World Health Organization: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf>

World Health Organization. (2019). *Global Tuberculosis Report*. Obtenido de World Health Organization: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>

World Health Organization. (2019). *High Burden TB Country List 2019*. Obtenido de Foxcroft academy: www.foxcroftacademy.org/wp-content/uploads/2020/08/High-TB-Burden-Country-List-2019.pdf

World Health Organization. (2020). *High Burden TB Country List 2020*. Obtenido de Virginia Department of Health: www.vdh.virginia.gov/content/uploads/sites/175/2020/01/High-Burden-TB-Countries-2020.pdf

World Health Organization. (2021). *Consolidated guidelines on tuberculosis*. Obtenido de World Health Organization: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240029415>

Yifeng Ma, Shanshan Li, Lingling Dong, Yunxu Li, Fen Wang, Fengmin Huo, Yu Pang & Shibing Qin. (Abril de 2020). *Comparison of Lowenstein-Jensen medium and MGIT culture system for recovery of Mycobacterium tuberculosis from abscess samples*. Obtenido de Science Direct: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0732889319309800?via%3Dihub>