

UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUAN BAUTISTA

ESCUELA DE POSGRADO



**VALOR DIAGNÓSTICO DE GENEXPERT (MTB) / (RIF) EN
MUESTRAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*
REALIZADO EN UN LABORATORIO PRIVADO LIMA – PERÚ,
2012 – 2018**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN:
SALUD PÚBLICA**

**PRESENTADO POR EL BACHILLER
LUIS ENRIQUE NIEVES CÓRDOVA**

**LIMA – PERÚ
2019**

**VALOR DIAGNÓSTICO DE GENEXPERT (MTB) / (RIF) EN MUESTRAS DE
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS REALIZADO EN UN LABORATORIO
PRIVADO LIMA – PERÚ, 2012 – 2018.**

ASESORES Y MIEMBROS DEL JURADO

ASESOR METODOLÓGICO:

Dr. Carlos Vegas Pérez.

Dr. José Chuquillanqui Salas.

ASESOR TEMÁTICO:

Dr. Juan Carlos Gómez de la Torre y Pretell.

MIEMBROS DEL JURADO:

Dr. Alberto Casas Lucich.

Dr. Francisco Vallenias Pedemonte.

Dr. Leny Bravo Luna.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi esposa Kelly a mis hijos Nicole y Luis Enrique. Gracias a mis padres por todo su apoyo.

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento especial para el Dr. Juan Carlos Gómez de la Torre y Pretell por su apoyo en la tesis y por su gran amistad.

ÍNDICE

PORTADA	I
TÍTULO	II
ASESOR Y MIEMBROS DEL JURADO	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
ÍNDICE	VI
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
INTRODUCCIÓN	XI

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1	Descripción de la realidad problemática	
1.1.1	Formulación del problema	01
1.1.2	Problema general	02
1.1.3	Problemas específicos	03
1.2	Objetivos de la investigación	
1.2.1	Objetivo general	03
1.2.2	Objetivos específicos	03
1.3	Justificación e importancia de la investigación	
1.3.1	Justificación	04
1.3.2	Importancia	04
1.4	Limitaciones del estudio	05
1.5	Delimitación del estudio	05

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1	Antecedentes de la investigación	06
2.2	Bases teóricas	09
2.2.1	Tuberculosis	09

2.2.2	Valor diagnóstico	14
2.2.3	Pruebas diagnósticas	15
2.2.4	Genes de resistencia y resistencia antibiótica	17
2.3	Marco Conceptual	24
2.4	Formulación de la hipótesis	24
2.4.1	Hipótesis general	24
2.4.2	Hipótesis específicas	25
2.5	Identificación de variables e indicadores	
2.5.1	Definición operacional	25
2.5.2	Operacionalización de variables	25

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1	Diseño metodológico	
3.1.1	Tipo de investigación	26
3.1.2	Nivel de investigación	26
3.1.3	Diseño	26
3.2	Población y muestra	26
3.3	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	
3.3.1	Técnicas	27
3.3.2	Instrumentos	28
3.4	Técnicas para el procesamiento de la información.	28
3.5	Aspectos éticos	29

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1	Resultados	30
-----	------------	----

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Discusión	37
5.2	Conclusiones	42
5.3	Recomendaciones	43

FUENTES DE INFORMACIÓN

Referencias Bibliográficas 45

ANEXOS

ANEXO N° 1

Operacionalización de variable 51

ANEXO N°2

Ficha de recolección de datos 52

ANEXO N°3

Matriz de consistencia 53

ANEXO N°4

Informe de opinión de experto 57

RESUMEN

Objetivo: Determinar el valor diagnóstico de GeneXpert MTB / RIF en muestras pulmonares y extrapulmonares.

Materiales y métodos: En total 4383 muestras pulmonares y extrapulmonares se analizaron en un laboratorio privado entre octubre de 2012 a mayo de 2018 con el sistema de ensayo molecular GeneXpert MTB / RIF, en 575 muestras se compararon el método GeneXpert con cultivo y 379 muestras con baciloscopía para el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis*.

Resultados: Se calculó en el total de la muestra 2662 (62%) de los 4383 muestras fueron extrapulmonares y 1721 (38%) pulmonares. Se obtuvieron resultados válidos en las 4383 muestras. La positividad de resistencia a Rifampicina fue del 1.6% de todas las muestras, con un 12% de las muestras con positividad totales.

Conclusiones: La sensibilidad y especificidad comparado con cultivo fueron 98% y 97% para muestras pulmonares, y 83% y 96% para muestras extrapulmonares, respectivamente, la sensibilidad y especificidad de la baciloscopía comparada con GeneXpert fue de 49% y 100% en muestras pulmonares y de 36% y 98% en muestras extrapulmonares.

GeneXpert proporciona un método de prueba rápido, útil y preciso para diagnosticar la TBC pulmonar con una alta sensibilidad y especificidad en comparación con cultivo y baciloscopía estimándose como una prueba de mayor rapidez y especificidad.

Palabras clave: GeneXpert MTB / RIF, muestras pulmonares y extrapulmonares, valor diagnóstico.

ABSTRACT

Background: Determine the diagnostic value de Gnextpert MTB / RIF in especimens pulmonary and extrapulmonary.

Methods: In total, 4383 pulmonary and extrapulmonary specimens submitted to Laboratory from October 2012 to May 2018 were descriptively analyzed with the molecular GeneXpert MTB/RIF assay system, and in 575 samples we comparatively investigated the Genexpert with conventional AFB smear and culture methods for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*.

Results: it was calculated from the total 2662 (62%) of the 4383 specimens were extrapulmonary and 1721 (38%) were pulmonary. We have a valid results in all the 4383 samples. The prevalence of rifampicin resistance was 1.6% of all the samples but 12% of the positive samples

Conclusión: The sensitivity and specificity for culture were 98% and 97% for pulmonary specimens, and 83% and 96% for extrapulmonary specimens, respectively. the sensitivity and specificity of AFB compared to Genexpert was 49% and 100% in lung specimens and 36% and 98% in extrapulmonary specimens.

GeneXpert provides a rapid, useful and accurate test method to diagnose pulmonary TBC with a high sensitivity and specificity compared to culture and sputum smear, being considered as a test of greater speed and specificity.

Keywords: Gnextpert MTB / RIF, specimens pulmonary and extrapulmonary, diagnocitic value.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis sigue siendo un importante problema de salud pública y una de las enfermedades infecciosas más comunes en todo el mundo, particularmente en las naciones del tercer mundo que tienden a tener alta prevalencia, incidencia y mortalidad.

La tuberculosis está relacionada fuertemente con la pobreza, ya que por su condición económica a menudo no acuden a la asistencia sanitaria, reciben diagnóstico y tratamiento tardíos, incorrectos e inadecuados, y porque las condiciones de vida también juegan un papel importante. La enfermedad afecta a diversos órganos, pero principalmente afecta a los pulmones. En 1990, esta infección fue la quinta causa de muerte en Perú, con tasas de mortalidad de 34 muertes por 100.000 habitantes. Veintidós años más tarde se redujo esa estadística a 5,1 muertes por cada 100.000 habitantes.

La incidencia de la tuberculosis extrapulmonar suele considerarse inferior a la de los casos pulmonares. Este tipo de tuberculosis suele ser difícil de diagnosticar, ya que la mayor parte del tiempo, la recolección de muestras extrapulmonares requiere procedimientos invasivos y las muestras no son fáciles de obtener. Además, el número de bacterias en las muestras extrapulmonares es en la mayoría de los casos más bajo que en las muestras pulmonares. Los pacientes infectados por el VIH concomitantemente desarrollan una enfermedad extrapulmonar y pueden progresar rápidamente a menos que la infección sea diagnosticada en el tiempo y tratada correctamente.

La incidencia, prevalencia y tasas de mortalidad de la tuberculosis siguen aumentando. Además, los casos de tuberculosis resistente a múltiples fármacos (MDR) y pacientes coinfectados por VIH continúan acrecentándose. Un método de diagnóstico rápido, sensible y específico es necesario en estos pacientes enfermos con tuberculosis y tratarlos apropiadamente y detener la cadena de transmisión. Hasta la fecha, GeneXpert MTB / RIF ha sido validado en muestras de esputo.

En el 2012 se calculó que 8.6 millones de individuos presentaron tuberculosis y 1.3 millones de individuos presentaron letalidad por esta enfermedad, entre ellos 320,000 individuos con VIH positivos fallecieron. Aunque la tuberculosis es la

mayor infección oportunista entre los sujetos VIH positivos, el diagnóstico de tuberculosis pulmonar en estos pacientes se complica por una mayor incidencia de tuberculosis con baciloscopía negativa.

Alrededor de 94.000 pacientes con Tuberculosis elegibles para el tratamiento de la TB-MDR fueron detectados en 2012: 84.000 personas con TB-MDR confirmada (resistencia a Rifampicina e Isoniazida); Junto con 10.000 con resistencia a la Rifampicina detectada usando GeneXpert MTB / RIF.² Estas tasas son inaceptablemente alta, dado que esta enfermedad infecciosa es, en la mayoría de los casos, tratable y curable.

GeneXpert utiliza la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), una técnica de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) que realiza la búsqueda de *M. tuberculosis* y detecta si hay resistencia a fármacos antituberculosos como la rifampicina.¹⁻⁴ Esta prueba de diagnóstico molecular completamente automatizada para diferentes tipos de muestras proporciona resultados en menos de 2 horas. La reacción puede detectar simultáneamente el ADN del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y amplificar una secuencia específica del gen *rpoB* (región núcleo), después de lo cual si hay mutaciones de resistencia a la rifampicina se sondan directamente con balizas moleculares.⁵⁻¹¹ La implementación de esta prueba podría ayudar a detectar más pacientes que padecen TB resistente a fármacos y en el número de casos de TB asociados con VIH diagnosticados en áreas con altas tasas de pacientes coinfectados por VIH.¹²

La indicación actual de la OMS es que GeneXpert debe utilizarse como prueba diagnóstica inicial en adultos y niños que se presume padecen TB-MDR o TB asociada al VIH.¹³

El GeneXpert ofrece un diagnóstico rápido, requiere un mínimo de bioseguridad y capacitación del personal de laboratorio, facilita un tratamiento más rápido y adecuado, deteniendo la cadena de transmisión, disminuyendo el riesgo de muerte y ofreciendo equidad de diagnóstico.

El objetivo de este estudio fue evaluar el valor diagnóstico de GeneXpert (MTB) / (RIF) en muestras pulmonares y extrapulmonares de *Mycobacterium*

Tuberculosis el cual será un estudio retrospectivo de 6 años en un laboratorio privado en Lima – Perú.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

1.1.1 Formulación del problema

El método más utilizado para el diagnóstico de TBC a nivel mundial es la microscopía o baciloscopía de muestras de esputo, en el cual las bacterias se observan en muestras de esputo luego de ser coloreadas y examinadas por microscopio. Sin embargo es necesaria una carga bacilar lo suficientemente alta para poder ser observada al microscopio, además no detecta si existe resistencia a las diferentes drogas de los esquemas antituberculosos. Aunque la baciloscopía es un método de rápido diagnóstico y bajo costo, posee una pobre sensibilidad y un valor predictivo positivo bajo. Así también el otro método más usado es el cultivo de muestras pulmonares y extrapulmonares, sin embargo este método diagnóstico convencional necesita de tiempo pudiendo demorar semanas o meses para obtener resultados confiables, lo cual demora el diagnóstico y la posibilidad de tratamiento oportuno para poder controlar la propagación de la enfermedad y su avance.

Una de las últimas y más recientes técnicas de detección de *M. tuberculosis* es el ensayo GeneXpert MTB / RIF, que es un método de diagnóstico molecular que fue validado sólo en muestras pulmonares por el fabricante. Sin embargo, algunos estudios han evaluado la utilidad del ensayo GeneXpert para el diagnóstico rápido de tuberculosis extrapulmonar.

El último reporte mundial de TBC de la OMS del Año 2015 refiere que la mortalidad de la TBC cayó aproximadamente 47% desde los años 1990 y que el diagnóstico efectivo y precoz, seguido de un tratamiento oportuno pudo salvar alrededor de 43 millones de vidas entre el año 2000 y 2014. En el año 2014 la TBC mató 1,5 millones de personas (1,1 eran VIH negativo y 0,4 millones eran VIH positivo), de los cuales 890 mil fueron hombres, 480 mil mujeres y 140 mil niños. La TBC tiene una prevalencia e incidencia muy importante en los pacientes con VIH, siendo la primera causa de muerte a nivel mundial en estos pacientes. En el 2014, 6 millones de nuevos casos de TBC fueron reportados a la OMS, siendo menos de las dos terceras partes (63%) de las 9,6 millones de

personas estimadas de haberse enfermado. Esto quiere decir que por todo el mundo existió un 37% de nuevos casos que no fueron diagnosticados correctamente o que no fueron reportados. De los 480 mil casos estimados de tuberculosis MDR que ocurrieron en el 2014 sólo un cuarto de estos (123 000) fueron diagnosticados y reportados debidamente.

En el caso de la resistencia a drogas globalmente hubo un estimado de 3,3% de pacientes con reciente diagnóstico de TBC y 20% de ellos recibieron tratamiento previo. En el 2014, murieron alrededor de 190 mil personas con TBC MDR, sin embargo, fue el año donde más pacientes se evaluaron para resistencia a drogas atribuyéndose al uso de pruebas rápidas moleculares. Esto trajo buenas consecuencias ya que en el 2014, 111 mil personas empezaron tratamiento oportuno para TBC MDR, siendo 14% mayor que en el 2013.

Durante los últimos 20 años se han creado diferentes pruebas moleculares. Estos se enfocan principalmente en la detección directa del Ácido Nucleico específico del *Mycobacterium tuberculosis* mediante técnicas de ampliación como la PCR y si existen mutaciones en sus genes asociados con resistencia a estas drogas antituberculosas mediante el secuenciamiento o hibridación del ácido nucleico.

De forma simultánea, el GeneXpert detecta el ADN del complejo *Mycobacterium Tuberculosis* y amplifica una zona específica conocida como región core del gen *rpoB* que es una mutación que le confiere resistencia a la Rifampicina y probada por una técnica directa de sondas moleculares.^{10,11,14}

En el año 2015 el 69% de los países recomendaron que debería usarse el GeneXpert MTB/RIF como prueba de diagnóstico de inicio en personas con riesgo de TBC drogorresistente y 60% lo recomendó como la prueba inicial en personas que viven con el VIH.^{15,16,17}

1.1.2 Problema general

¿Cuál es el valor diagnóstico de GeneXpert (MTB) / (RIF) en muestras pulmonares y extrapulmonares en los últimos 6 años realizado en un laboratorio particular Lima – Perú?

1.1.3 Problemas específicos

- ¿Cuál es la sensibilidad y la especificidad de GeneXpert para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras pulmonares y extrapulmonares comparando el GeneXpert con cultivo y la baciloscopia comparada con GeneXpert?
- ¿Cuáles son las frecuencias de positividad de las muestras procesadas por GeneXpert tuberculosis / Rifampicina?
- ¿Cuál es la frecuencia de muestras con mutaciones en el gen rpoB para resistencia a Rifampicina?

1.2 Objetivos de la investigación

1.2.1 Objetivo General.

Determinar el valor diagnóstico de Genexpert *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)/ Rifampicina (RIF) en muestras pulmonares y extrapulmonares de *Mycobacterium tuberculosis* en Lima, Perú 2012-2018.

1.2.2 Objetivos Específicos.

- Cuantificar la sensibilidad y la especificidad de GeneXpert para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras pulmonares y extrapulmonares comparándolo con Cultivo y la baciloscopia con GeneXpert.
- Determinar las frecuencias de positividad de las muestras procesadas GeneXpert *Mycobacterium tuberculosis*/ Rifampicina.
- Calcular la frecuencia en las muestras procesadas que presenten mutaciones en el gen rpoB.

1.3 Justificación e importancia del problema

1.3.1 Justificación

El siguiente trabajo tiene **justificación social** que permitirá evaluar resistencia antibiótica y así disminuir el contagio en las poblaciones vulnerables y conocidas de la sociedad.

Tiene una **justificación teórica** en la investigación para determinar con mayor rapidez pacientes enfermos de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar y que presentan muchos de ellos resistencia antibiótica.

Tiene una **justificación clínica** para los pacientes que podrán conocer mediante este estudio el diagnóstico oportuno y a su vez valorar la tuberculosis multidrogoresistente que actualmente es la principal causa de complicaciones en el manejo de TBC en el Perú.

Tiene un **justificación metodológica** en el que se podrá evaluar el valor diagnóstico a través de esta prueba en el Perú y su utilidad para el futuro, es el primer trabajo de este tipo en el Perú lo que podrá confirmar su utilidad clínica y comparar con trabajos realizados en el extranjero tanto de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar.

1.3.2 Importancia

La tuberculosis pulmonar es un problema de salud pública en varias partes del mundo incluido el Perú que hace que el Estado realice esfuerzos múltiples de índole económico ya sea en el diagnóstico y tratamiento principalmente. Para poder salir en algún momento como país con una gran carga endémica, debido a que esta enfermedad produce gran cantidad de pacientes contagiados y a su vez causa gran mortalidad en los que no son tratados adecuadamente o que presenten serias complicaciones es importante tener pruebas diagnósticas rápidas para

iniciar un tratamiento precoz al paciente y evitar el contagio a las personas que están a su alrededor.

1.4 Limitaciones del Estudio

- El trabajo se realizó en un solo laboratorio por lo que no podrá ser comparado con otra población de estudio en otros diversos laboratorios.
- Al ser una prueba nueva la utilidad clínica aún no es muy conocida en los diversos laboratorios de nuestro país.
- Al haber otros tipos de resistencia de M. tuberculosis con otros fármacos, esta prueba es sólo de utilidad clínica para un fármaco y su respectivo gen para el antituberculoso Rifampicina.

1.5 Delimitación del Estudio

Delimitación espacial: Laboratorio particular Lima - Perú en el área de procesamientos de biología molecular.

Delimitación temporal: octubre 2012 a mayo 2018.

Delimitación social: muestras procesadas con sospecha de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Paluch – Oles y col (2009)¹⁸ investigaron en su trabajo descriptivo MUTATIONS IN THE *rpoB* GENE OF RIFAMPIN-RESISTANT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ISOLATES FROM EASTERN POLAND si existían mutaciones en un gen conocido como *rpoB* en aislamientos con resistencia a Rifampicina obtenidos de pacientes que viven en el este de Polonia. En este estudio, se incluyeron un total de 37 aislamientos resistentes a la Rifampicina confirmados por fenotipo y/o genotipo de *M. tuberculosis*. Las cepas se seleccionaron de pacientes con síntomas y que presentaron diagnóstico de tuberculosis pulmonar y no pulmonar. Se usó un kit de ensayo de sonda de línea (INNO-LiPA rif Tb) para cualquier patrón de mutaciones específico del gen *rpoB*. Con sus datos concluyeron que los genotipos de resistencia a Rifampicina con mutación se presentan en un codón crítico que codifica Ser-531 y que son frecuentes en poblaciones con *M. tuberculosis* independientemente de su origen geográfico. A su vez hallaron también que en un área geográfica como el este de Polonia, las mutaciones menos comunes del gen *rpoB* ocurren con mayor frecuencia.

Boehme CC y col (2010)¹⁰ En su trabajo descriptivo RAPID MOLECULAR DETECTION OF TUBERCULOSIS AND RIFAMPIN RESISTANCE evaluaron el rendimiento de Xpert MTB / RIF, una prueba molecular automatizada para *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) y resistencia a la Rifampicina (RIF), con utilización de procesamiento de muestras totalmente integrado en 1730 pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar con multiresistencia. Llegaron a la conclusión de que la prueba de MTB / RIF proporcionó detección sensible de tuberculosis y resistencia a la Rifampicina directamente del esputo en menos de 2 horas con un mínimo de tiempo espera.

WHO (2011)¹⁹ en septiembre de 2010, la OMS convocó un grupo de expertos para revisar la evidencia sobre la precisión del ensayo Xpert MTB / RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) con el fin de formular recomendaciones para guiar el uso de la prueba a lo que llamaron XPERT MTB/RIF ASSAY FOR THE DIAGNOSIS OF PULMONARY AND EXTRAPULMONARY TB IN ADULTS AND CHILDREN. Las recomendaciones de políticas sobre el uso de Xpert MTB / RIF

fueron emitidas por la OMS a principios de 2011, respaldadas por un documento de procedimientos operacionales y una lista de verificación para la implementación a nivel de cada país. Concluyeron dando unas directrices actuales de la OMS recomendando que Xpert MTB / RIF se utilice como prueba diagnóstica de inicio en personas con probabilidad de TBC-MDR o TBC conjuntamente con VIH. En reconocimiento de las dificultades para obtener la confirmación microbiológica del diagnóstico en niños, esta recomendación se generaliza a partir de datos sobre adultos para incluir el uso de Xpert MTB / RIF en niños.

Walusimbi y col (2013)¹³ realizaron el trabajo META-ANALYSIS TO COMPARE THE ACCURACY OF GENEXPERT, MODS, AND THE WHO 2007 ALGORITHM FOR DIAGNOSIS OF SMEAR-NEGATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS estudio sistemático con metanálisis incluido de publicaciones sobre GeneXpert, o MODS, o el algoritmo OMS 2007 para el diagnóstico TBC frotis negativo, utilizando el cultivo como prueba de referencia. Se usó el software Meta-Disc para obtener sensibilidad y especificidad agrupadas de los métodos de diagnóstico. Llegaron a la conclusión de que los algoritmos GeneXpert, MODS y WHO tienen una precisión de moderada a alta para el diagnóstico de TBC frotis negativo. Sin embargo, la precisión de las pruebas es extremadamente variable. La configuración y el contexto bajo los cuales se realizan las pruebas, además de varios otros factores, podrían explicar esta variabilidad. Por lo tanto, es necesario investigar más estos factores. La información de estos estudios informaría la adopción y la ubicación de estas nuevas pruebas.

WHO (2013)²⁰ el Programa Mundial de TBC de la OMS realizó tres revisiones sistemáticas para actualizar y revisar la guía del 2011 llamado XPERT MTB/RIF ASSAY FOR THE DIAGNOSIS OF PULMONARY AND EXTRAPULMONARY TB IN ADULTS AND CHILDREN. Estas revisiones examinaron la utilidad de Xpert MTB / RIF cuando existe resistencia a la Rifampicina en la tuberculosis pulmonar, extrapulmonar y pediátrica. También se revisaron los estudios publicados sobre la asequibilidad y la rentabilidad de Xpert MTB / RIF. La OMS convocó un Grupo de Expertos para revisar las pruebas en Les Pensierès, Veyrier-du-Lac, Francia, del 20 al 21 de mayo de 2013. Se recomendó sobre

poder utilizar Xpert MTB/RIF, incluyendo también para poder diagnosticar TBC en niños y algunas presentaciones de TBC extrapulmonar.

Maynard- Smith y col (2014)²¹ realizaron el trabajo DIAGNOSTIC ACCURACY OF THE XPERT MTB/RIF ASSAY FOR EXTRAPULMONARY AND PULMONARY TUBERCULOSIS WHEN TESTING NON-RESPIRATORY SAMPLES: A SYSTEMATIC REVIEW donde realizaron una búsqueda bibliográfica sistemática de 7 bases de datos electrónicas (Medline, EMBASE, ISI Web of Science, BIOSIS, Global Health Database, Scopus y Cochrane Database) para identificar estudios de precisión diagnóstica del ensayo Xpert al analizar muestras no respiratorias en comparación con un estándar de referencia basado en cultivo. Se extrajeron los datos y se evaluó la calidad del estudio utilizando la herramienta QUADAS-2. Llegaron a la siguiente conclusión: Xpert detecta con alta especificidad la gran mayoría de los casos de muestras no respiratorias con frotis positivo y aproximadamente dos tercios de los que tienen muestras con frotis negativo. Xpert es una prueba útil diagnóstica para tuberculosis frotis negativo, especialmente al analizar muestras de líquido cefalorraquídeo y de tejido. Además, tiene una alta sensibilidad para detectar TB pulmonar cuando se utilizan muestras de aspirado gástrico. Estos hallazgos respaldan las recientes directrices de la OMS sobre el uso de Xpert para la ayuda en el diagnóstico de TBC a partir de muestras no respiratorias.

Fontalvo Rivera y col (2015)²² realizaron una revisión de la bibliografía con el trabajo GENES DEL MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INVOLUCRADOS EN LA PATOGENICIDAD Y RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS DURANTE LA TUBERCULOSIS PULMONAR Y EXTRAPULMONAR sobre los genomas del Mycobacterium tuberculosis, para así entender los mecanismos de su patogenicidad y existencia de resistencia a los antimicrobianos que se utilizan para el tratamiento de la TBC. Utilizaron como fuente la búsqueda de literatura en español e inglés de 118 publicaciones. Llegaron a la conclusión que existen dificultades para la manipulación genética de las mycobacterias y esto ha hecho que sea muy difícil realizar un modelo de caracterización genética. El desarrollo de pruebas para poder realizar manipulación de estas muestras genéticas que facilitan a su vez poder entender con esto su forma de organizarse genómicamente, así como se expresan en los genes que son estudiados y poder

determinar fenotípicamente la importancia de su estudio patogénico y su farmacoresistencia.

Peñata y col (2016) ²³ realizaron un trabajo DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TUBERCULOSIS EXTRAPULMONAR Y SENSIBILIDAD A RIFAMPICINA CON UN MÉTODO AUTOMATIZADO EN TIEMPO REAL de corte prospectivo y retrospectivo transversal en 301 pacientes las cuales tuvieron 372 muestras que tuvieran probabilidad de tuberculosis no pulmonar, las cuales se valoraron mediante cultivo, estudio baciloscópico y prueba molecular Xpert® MTB/RIF. Se concluyó en el trabajo que la prueba Xpert® MTB/RIF tienen utilidad clínica para el estudio de líquidos y tejidos, y este nos permitirá en un futuro apoyarnos en él para el diagnosticar la tuberculosis no pulmonar de forma más rápida y con alta positividad.

Mazzola y col (2016) ²⁴ En este trabajo PERFORMANCE OF REAL-TIME PCR XPERT ®MTB/RIF IN DIAGNOSING EXTRAPULMONARY TUBERCULOSIS determinaron el rendimiento en diferentes muestras extrapulmonares determinando la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo en muestras respiratorias y no respiratorias recolectadas entre Enero de 2010 y Junio de 2014. Se concluyó en el trabajo que el Xpert MTB / RIF es una prueba precisa, sensible y específica para poder diagnosticar tanto la tuberculosis pulmonar como la extrapulmonar.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad producida por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, una bacteria aeróbica obligada que forma parte del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. La transmisión de la tuberculosis ocurre comúnmente a través de la inhalación que contienen bacilos de una persona con tuberculosis pulmonar que ha tosido o estornudado. Se estima que existen millones de portadores a nivel mundial sin enfermedad tuberculosa, y que entre el 5% y el 15% desarrollarán la enfermedad tuberculosa. La probabilidad de desarrollar tuberculosis es mayor en individuos inmunocomprometidos y entre

aquellos infectados con VIH. La tuberculosis afecta con mayor frecuencia los pulmones (tuberculosis pulmonar); pero también puede involucrar otros órganos fuera del pulmón. En el 2015, se reportaron 10,4 millones aproximadamente con diagnóstico reciente de la enfermedad a nivel mundial y las personas con VIH fueron aproximadamente 1,2 millones de reciente diagnóstico. En el mismo año, la tuberculosis se asoció con 1,4 millones de muertes y otras 0,4 millones de muertes por tuberculosis entre las personas que viven con el VIH. Un millón de niños se infectaron recientemente con tuberculosis a nivel mundial en el mismo año. Los casos de tuberculosis que presentan a su vez con el VIH fue más alta en África representando el 31% de todos los casos de tuberculosis notificados que superan el 50% en el África meridional. La incidencia pediátrica de tuberculosis ha sido estimada por diferentes grupos se calcula una incidencia de 690 262 casos de tuberculosis que ocurren entre niños menores de 15 años en 2015, la tuberculosis produce mortalidad en más de 1 millón de personas cada año, la mayoría en países de ingresos medianos o bajos. La comprensión de las tendencias en la incidencia, prevalencia y mortalidad de la tuberculosis es crucial para rastrear el éxito de los programas de control de la tuberculosis y para identificar los desafíos de intervención restantes para la atención y prevención de la tuberculosis. La evaluación rigurosa de estas tendencias es, sin embargo, difícil. Las fuentes de datos primarios utilizados para estimar la carga epidemiológica de la tuberculosis, incluyendo las notificaciones anuales de casos, las encuestas de prevalencia y los datos de causa de muerte tienen varias deficiencias. Además, su disponibilidad varía según las regiones y los períodos de tiempo.^{25, 26}

En los países donde la tuberculosis es endémica, los sistemas de salud y vigilancia son generalmente deficientes, con infradiagnóstico y falta de notificación. En muchos países donde la tuberculosis es endémica y no se dispone de sistemas confiables de registro vital, la autopsia verbal se utiliza comúnmente para medir la mortalidad por causas específicas. Los estudios de autopsia verbal son propensos a errores de clasificación porque tienen que basarse en información recordada por los familiares del fallecido.²⁷

A nivel mundial, se ha logrado un progreso sustancial en la reducción de la mortalidad por tuberculosis. Sin embargo, la incidencia y prevalencia de

tuberculosis estandarizada por edad está disminuyendo mucho más lentamente que la mortalidad en muchos países. A pesar de una poderosa interacción entre la tuberculosis y la enfermedad por VIH, muchos casos y muertes de tuberculosis ocurren entre personas VIH negativas en el sur y sureste de Asia, donde la prevalencia del VIH es relativamente baja. La mayor parte de Asia, Europa oriental y todo el África subsahariana tienen una carga de tuberculosis alta dado su nivel de desarrollo sociodemográfico. Las tasas de mortalidad estandarizadas para la edad debido a la tuberculosis están disminuyendo a un ritmo más lento que las debidas al VIH y la malaria.²⁸

Mientras que un mejor acceso al tratamiento probablemente reduzca las muertes por tuberculosis, siguen existiendo grandes brechas de financiación, siendo la brecha más grande la tuberculosis resistente a múltiples fármacos (MDR). La OMS conjuntamente con el Fondo Mundial de Lucha contra el SIDA, la Tuberculosis y la Malaria estimaron que es necesario para un año de al menos USD1.600 millones de apoyo internacional para cubrir el déficit de financiación para el control de la tuberculosis. Sin embargo, la tasa de crecimiento de la asistencia para la tuberculosis se ha desacelerado sustancialmente desde 2010 lo que hace más difícil para los sistemas de salud reducir la carga de la tuberculosis en los países de bajos ingresos que en los países de ingresos medianos y altos. La incidencia de la tuberculosis está estancada o disminuyendo más lentamente que la mortalidad en muchos países con tuberculosis endémica, lo que sugiere demoras en el diagnóstico y el tratamiento.²⁹ Un paciente con tuberculosis no tratada puede infectar a muchos contactos sanos.³⁰ Aunque solo una pequeña proporción de personas infectadas progresan a la tuberculosis activa, es difícil predecir quién pasará de la infección latente a la enfermedad clínica. El diagnóstico rápido de la tuberculosis clínica es un desafío; los retrasos sustanciales en el diagnóstico y el tratamiento se han relacionado con múltiples factores, incluida la falta de conocimiento de los síntomas, la falta de acceso a los servicios de salud, la escasez de médicos capacitados, personal de laboratorio para hacer el diagnóstico y herramientas de diagnóstico deficientes.^{31,32}

El hallazgo de casos activos en toda la comunidad busca reducir las barreras para la detección temprana, pero pocos estudios han evaluado la relación costo-

efectividad del cribado de la tuberculosis activa. Actualmente se sugiere que, en comparación con el frotis convencional, el uso del Xpert -MTB / RIF (Cepheid, EE. UU) aumenta sustancialmente la detección de casos (en casi un 50%) durante la búsqueda intensiva de casos con una carga elevada en entornos comunitarios. Los estudios que evalúen la relación costo-efectividad del cribado de la tuberculosis activa utilizando nuevas herramientas de diagnóstico, como Xpert-MTB / RIF, serían, por lo tanto, muy útiles.³³

La incidencia de la tuberculosis también está disminuyendo más lentamente que la mortalidad en varios países con baja carga de tuberculosis y algunos muestran tendencias de incidencia estancada o creciente. Varios países con baja carga de tuberculosis no tienen un programa nacional de tuberculosis o un plan de eliminación para guiar los esfuerzos de control.³⁴ Los casos son más altos entre los adultos jóvenes, pero las muertes son más altas entre los adultos mayores. Este hallazgo podría explicarse por un mayor riesgo de reactivación de la tuberculosis latente en adultos jóvenes según lo informado por estudios longitudinales de cohortes de nacimiento, un mayor riesgo de reacciones adversas por fármacos antituberculosos existe en los adultos mayores por lo tanto hay mayor mortalidad.³⁵ La incidencia estandarizada por edad y la mortalidad por tuberculosis es aproximadamente el doble en hombres que en mujeres. Se han sugerido varias explicaciones para la diferencia sexual en el riesgo de tuberculosis, incluido el acceso diferencial a la atención médica, la exposición diferencial a factores de riesgo (por ejemplo, fumar) y la variación genética.³⁶ Una comprensión de la distribución por edad y sexo de los casos de tuberculosis y las muertes tienen implicaciones para los programas de control de la tuberculosis en términos de focalización de las intervenciones en grupos de alto riesgo. Los factores de riesgo son muy importantes en el control de la tuberculosis. Por ejemplo, el abuso de alcohol se ha relacionado con un bajo cumplimiento y resultados del tratamiento de la tuberculosis.³⁷ Los factores de riesgo de tuberculosis, como la diabetes, el consumo de alcohol y el tabaquismo, aumentan el riesgo de tuberculosis mediante la supresión del sistema inmunitario, especialmente la inmunidad mediada. Con el aumento de casos de diabetes a medida que la mayoría de países atraviesan la transición demográfica y epidemiológica, muchos países principalmente de medianos y bajos ingresos

soportarán cada vez más la doble carga de la tuberculosis y la diabetes. A nivel mundial, en 2015, la diabetes, el consumo de alcohol y el tabaquismo en conjunto representaron alrededor de una cuarta parte de las muertes por tuberculosis. Los esfuerzos para prevenir estos factores de riesgo pueden, por lo tanto, tener un impacto colateral sustancial sobre la carga de la tuberculosis.^{37, 38} A nivel de países los que tienen una gran carga de tuberculosis son Angola, Kenia, Corea del Norte, Uganda, Ucrania y Zimbabue. Se necesita fortalecer la notificación de tuberculosis y los sistemas de registro vital para mejorar la calidad de los datos. Hasta que dichos sistemas estén completamente desarrollados, la variación en las estimaciones es inevitable y los usuarios de estas estimaciones deberían apreciarla. Se han sugerido diversas opciones de mejora interinas, incluido el uso de estudios para evaluar el subregistro de los datos de notificación y la vigilancia de la mortalidad basada en muestras para generar datos de causa de defunción con más peso estadístico que los que existen hasta el momento.³⁹ La disponibilidad de información ampliamente compartida, datos de alta calidad para países de medianos y bajos ingresos y esfuerzos para utilizar un conjunto común de datos para la estimación (que la OMS facilita cada vez más) ayudaría a reducir la discrepancia entre las estimaciones. La mortalidad por tuberculosis en países sin datos de registro vital está impulsada por estudios de autopsia verbal, que tienen una sensibilidad modesta para identificar muertes por tuberculosis. Los estudios de autopsias verbales tienen poca capacidad para distinguir las muertes por VIH de las muertes por VIH-tuberculosis; por esta razón, los datos de autopsias verbales en países con alta prevalencia de VIH son excluidos. La estimación y el mapeo de la incidencia, prevalencia y muertes por tuberculosis con una metodología más fina que las estimaciones nacionales y subnacionales actuales podrían informar mejor la vigilancia y la focalización de los recursos para las intervenciones que hay en la actualidad.⁴⁰ El fortalecimiento de los sistemas nacionales de vigilancia para capturar todos los casos de tuberculosis es un importante objetivo de salud pública para todos los países. Hasta que se logre este objetivo, se necesitarán métodos de triangulación de datos estadísticos para hacer uso de los datos disponibles para rastrear la carga de tuberculosis. A pesar del progreso general en la reducción de la mortalidad por tuberculosis, la enfermedad sigue siendo una carga enorme a nivel mundial. El fortalecimiento de los sistemas de salud para la detección precoz de casos y

la mejora de la atención con calidad de la tuberculosis, incluidos diagnósticos rápidos y precisos, el inicio temprano del tratamiento y el seguimiento de rutina son prioritarios. Países donde la carga de tuberculosis es más alta de lo esperado basado en el desarrollo sociodemográfico se debe investigar las razones de ello y abordarlas según corresponda. Los esfuerzos para prevenir el tabaquismo, el consumo de alcohol, la diabetes y el VIH también tendrán probablemente un impacto colateral sustancial en la reducción de la carga de la tuberculosis.⁴¹

2.2.2 Valor diagnóstico: Sensibilidad, Especificidad, Valores predictivos.

El valor diagnóstico nos sirve para valorar si una prueba de laboratorio nos ayuda para diagnosticar o descartar una patología.

Dentro de ellas encontramos:

a) Sensibilidad la cual es un porcentaje de verdaderos positivos como la posibilidad de que la prueba tenga positividad condicionando a que la persona esté enfermo.

b) Especificidad la cual es porcentaje de verdaderos negativos como la posibilidad de que la prueba tenga negatividad condicionando a que la persona no esté enfermo.

c) También se usan proporciones de falsos positivos y de falsos negativos.

Además podemos analizar si sería prudente usar una prueba, dado que permite clasificar en forma adecuada individuos con enfermedad, pero no así con los que no presentan enfermedad. Hay otros índices que nos proveen posibilidad de decisión llamados valores predictivos:

a) Valor Predictivo Positivo proporción de personas que presentan resultado positivo que verdaderamente tienen patología.

b) Valor Predictivo Negativo proporción de persona que presentan resultado negativo que verdaderamente no tienen patología.

El LR (el likelihood ratio o razón de verosimilitud) su utilidad es para tomar mejores decisiones clínicas cuando se solicita alguna prueba diagnóstica, son valores que no dependen de los casos que tenga la enfermedad estudiada.

c) LR + tasa de positivos verdaderos.

d) LR - tasa de negativos falsos.

Esto nos sirve para saber si una prueba diagnóstica puede cambiar una posibilidad pre test a una nueva posibilidad pos test. La utilidad es múltiple del LR ya que nos permite analizar pruebas de ayuda diagnóstica con resultados dicotómicos, cuando existe presencia o no de alguna patología con pruebas categóricas, Si un LR+ es mayor de 10 o un LR - menor de 0,1 nos permite determinar si existe un cambio importante en la probabilidad pre test, determinando con mucha certeza un cambio en el manejo clínico.

2.2.3 Pruebas diagnósticas de tuberculosis

Existe la necesidad de un diagnóstico rápido y con mucha precisión de la tuberculosis y de una prueba universal de susceptibilidad a los medicamentos para las personas diagnosticadas con tuberculosis. Las técnicas de diagnóstico comúnmente usadas para la tuberculosis tienen limitaciones. El cultivo, que es el estándar de oro para el diagnóstico, requiere de un conjunto de precauciones de bioseguridad y tiene un tiempo de espera prolongado antes de los resultados. Durante muchos años, la microscopía de frotis de esputo ha sido el método utilizado para el diagnóstico de tuberculosis y la confirmación bacteriológica, en particular en países con economías medias y bajas, donde sigue siendo la principal técnica de diagnóstico en centros de atención primaria en los países mencionados. Sin embargo, la sensibilidad de la microscopía de frotis es limitada, variando de 20% a 80% y esta se reduce aún más en individuos seropositivos al VIH. Otras limitaciones de la microscopía de frotis incluyen que requiere mucha mano de obra, depende de las habilidades individuales, de su experiencia, y no es capaz de detectar la resistencia a las drogas.⁴² Es probable que la Xpert MTB/ RIF una técnica diagnóstica sea de mucha ayuda en los pacientes para evitar el subregistro de la enfermedad: la proporción de casos de tuberculosis que se tratan eficazmente, el tiempo de tratamiento, la transmisión en la comunidad y la mortalidad. En 2010, la OMS publicó una declaración respaldando los ensayos Xpert MTB / RIF, con la recomendación del análisis como la prueba diagnóstica inicial para las personas con sospecha de

tuberculosis MDR y las personas con VIH; se hicieron recomendaciones condicionales con respecto a su uso como prueba de seguimiento para individuos con frotis negativo. En 2013 se formularon nuevas recomendaciones para el uso en individuos con tuberculosis extrapulmonar y pediátrica tras respaldar nuevas pruebas sobre el rendimiento de Xpert MTB / RIF en estas subpoblaciones.^{19, 20}

Se han desarrollado nuevas herramientas de diagnóstico molecular para mejorar la detección de tuberculosis y su resistencia antibiótica. El ensayo Xpert MTB / RIF es una prueba automatizada de amplificación de ácido nucleico. Consiste en cartuchos de un solo uso multicapa cargados con tampones líquidos y perlas reactivas liofilizadas que se requieren para el procesamiento de muestras para la extracción del ADN polimerasa semianidada con reacción en cadena en tiempo real. El ensayo puede usarse con muestras de esputo y también, con sensibilidad variable, con otras muestras que incluyen líquido cefalorraquídeo, aspirados de ganglios linfáticos, líquido pleural, líquido ascítico, orina, líquido de diálisis y pus.⁴³ El análisis puede realizarse en laboratorios periféricos o instalaciones de salud sin bioseguridad, y entrenamiento mínimo para el personal de laboratorio.¹⁰

Xpert MTB / RIF puede detectar resistencia de TBC a Rifampicina en dos horas. Una revisión Cochrane sobre la precisión de Xpert MTB/RIF para ayudarnos en el diagnóstico de enfermedad tuberculosa calculó que tanto la sensibilidad combinada de la prueba es del 89% y la especificidad es del 99% cuando se comparó con la balicoscopia, el ensayo Xpert MTB / RIF mostró un aumento absoluto del 23% en el diagnóstico de tuberculosis entre los casos con cultivo positivo; la sensibilidad combinada en individuos con balicoscopia y cultivo positivo fue solo del 67%. La sensibilidad fue de menos ayuda diagnóstica en las personas con VIH (79%) en comparación con las que no presentan infección por VIH (86%); adicionalmente, el ensayo Xpert MTB / RIF tenía una sensibilidad combinada del 95% y una especificidad combinada del 98% para detectar la resistencia a la rifampicina.²¹

Por esta razón, la detección de tuberculosis resistente a los antibacterianos aumentó ocho veces en comparación con las pruebas convencionales. Ha habido problemas prácticos con la introducción de Xpert MTB / RIF se

observaron altas tasas de fallas modulares vinculadas a una fuente de alimentación eléctrica en los países de medianos y bajos ingresos. El impacto total de Xpert MTB / RIF dependerá, entre muchos factores por un suministro de energía estable o fuentes de energía alternativas confiables (por ejemplo, baterías o energía solar), particularmente en los países descritos. Un número creciente de estudios ha informado sobre si la mayor sensibilidad de Xpert MTB / RIF se traduce en un impacto en los resultados importantes para el paciente, como el tiempo de demora en el tratamiento y su relación con la morbilidad y mortalidad lo cual tendría que comprobarse con estudios.⁴⁴

2.2.4 Genes de resistencia y resistencia antibiótica.

La aparición y el subregistro de resistencia a los antimicrobianos utilizados para tratar la tuberculosis siguen siendo problemas importantes. En 2015, 4.3 millones fueron los pacientes con diagnóstico de tuberculosis y el número de casos notificados. Se estimó que 580,000 casos nuevos de enfermedad tuberculosa multirresistente (MDR) ocurrieron en el mismo año, pero solo el 20% recibió tratamiento apropiado para MDR. En consecuencia, existe la necesidad de un diagnóstico rápido y con alta precisión de la tuberculosis y de una prueba universal de susceptibilidad a los medicamentos de las personas diagnosticadas con tuberculosis.²⁶

En un bajo porcentaje, las cepas resistentes a drogas del *M. tuberculosis* surgen de mutaciones cromosómicas espontáneas constituyendo la resistencia natural, sin embargo, la resistencia adquirida por el mal uso de medicina antituberculosas como la monoterapia o la adición de una sola droga a regímenes que fallan, es mayor. Así también, esta resistencia puede transmitirse de una persona a otra, causando infección o eventualmente enfermedad (resistencia primaria).

La secuenciación del *M. tuberculosis* fue descrita y publicada en el año 1998, identificando 3974 genes, de los cuales ahora se conocen 4011. Su genoma posee 4 411 529 pares de bases y un contenido de guanina más citosina (G/C) de 65,6% siendo la segunda secuencia bacteriana más grande disponible luego de la *E. coli*.²²

Uno de los aspectos más alarmantes de la tuberculosis es la cantidad de cepas que poseen resistencia a la Rifampicina y a la Isoniazida. Esto causa gran preocupación, ya que a mayor tiempo de infectividad, mayor es el riesgo de transmisión de la enfermedad.

La Rifampicina es un fármaco bactericida que interfiere con la síntesis de ARN mensajero al unirse a la ARN polimerasa, compuesta por subunidades codificadas por los genes *rpoA*, *rpoB*, *rpoC*, *rpoD*. Las mutaciones en una región de la subunidad B de la ARN polimerasa codificada por el gen *rpoB* son la que ocasiona la resistencia, las cuales generalmente se localizan en un segmento corto que incluye los codones 507 a 533, más frecuentemente en los codones 516 para asparagina, 526 para histidina y 531 para serina.

También existen genes de resistencia para diferentes fármacos antituberculosos.

La tuberculosis (TBC) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. En cuanto al diagnóstico, prevención y el tratamiento de la tuberculosis se han vuelto más complejos debido a la mayor resistencia en los medicamentos utilizados para el tratamiento de la tuberculosis. El manejo de la TBC farmacorresistente puede ser difícil y puede requerir el uso de medicamentos de segunda línea y / o resección quirúrgica. El manejo de tales pacientes debe ser realizado por personas con experiencia en esta área o en una consulta muy estrecha con ellos, en el contexto de una infraestructura de salud pública de apoyo. Los buenos resultados de los pacientes dependen de un diagnóstico rápido y preciso junto con la administración de la terapia adecuada con una estrecha vigilancia para garantizar el cumplimiento del régimen de tratamiento y la seguridad del paciente.⁴⁵

Las definiciones para describir los diferentes tipos de tuberculosis resistentes a los medicamentos incluyen los siguientes:

El término "tuberculosis resistente a los medicamentos" se refiere a la tuberculosis producida por el *Mycobacterium tuberculosis* que tiene resistencia a uno o más medicamentos antituberculosos.

El término "tuberculosis mono-resistente" se refiere a la TBC causada por un aislamiento de *M. tuberculosis* que es resistente a un único agente antituberculoso.

El término "tuberculosis poli-resistente" se refiere a la tuberculosis causada por un aislamiento de *M. tuberculosis* que es resistente a más de un agente antituberculoso; puede ser resistente a la isoniazida o a la Rifampicina, pero no a ambos.

El término "tuberculosis multiresistente" (MDR-TBC) se refiere a la tuberculosis causada por un aislado de *M. tuberculosis* que es resistente tanto a la isoniazida como a la rifampicina y posiblemente a otros agentes.⁴⁶

El término "TBC extensamente resistente a los medicamentos" (XDR-TB) se refiere a la TBC causada por *M. tuberculosis* que es resistente al menos a Isoniazida, Rifampicina y Fluoroquinolonas, así como a Aminoglucósidos (Amikacina, Kanamicina) o Capreomicina.⁴⁷

El término "TBC totalmente resistente a los medicamentos" (TDR-TB) se refiere a un *M. tuberculosis* resistente a todos los medicamentos probados frecuentemente.⁴⁸ Sin embargo, los estudios publicados que inicialmente describieron TDR-TBC no incluyeron pruebas de susceptibilidad para agentes menos frecuentemente utilizados con actividad contra la TBC (incluyendo Cicloserina, Terizidona, Clofazimina, Linezolid o Carbapenems) o agentes introducidos más recientemente (incluyendo Bedaquilina y Delamanid).

La resistencia primaria a los medicamentos se refiere a la infección causada por una cepa resistente a los medicamentos de *M. tuberculosis* contraída en ausencia de una terapia antituberculosa previa.

La resistencia secundaria a los medicamentos se refiere al desarrollo de resistencia a los medicamentos durante o después de la terapia antituberculosa en pacientes que previamente habían tenido TBC susceptible a los medicamentos y no han sido re infectados por otro organismo resistente a los medicamentos.

Presentación clínica: las manifestaciones clínicas y las características radiográficas de la tuberculosis resistente a los medicamentos (TBC) son

comparables con las de la tuberculosis susceptible a los medicamentos. Los predictores más importantes de la tuberculosis resistente a los medicamentos son: Un episodio previo de tratamiento de TBC, hallazgos clínicos y / o radiográficos persistentes o progresivos durante el tratamiento de la TBC, residencia o viaje a una región con alta prevalencia de TBC farmacorresistente, exposición a un individuo con tuberculosis infecciosa resistente a los medicamentos conocida o sospechada.²⁶

Tratamiento empírico: la decisión de iniciar un régimen de tratamiento empírico para la tuberculosis resistente a los medicamentos (TBC, un régimen que incluye medicamentos de segunda línea) a la espera de los datos convencionales de susceptibilidad a los medicamentos está supeditado por la gravedad de la enfermedad clínica y del grado de sospecha de tuberculosis resistente a los medicamentos (factores epidemiológicos y / o resultados de frotis para bacilos ácido alcohol resistentes y pruebas de amplificación de ácidos nucleicos [NAA]). Los pacientes a quienes se les puede justificar un régimen de tratamiento empírico ampliado incluyen: Pacientes con fracaso del tratamiento (cultivo de esputo con baciloscopia positiva después de cuatro meses de tratamiento) pacientes con recaída (TBC recurrente después de completar el tratamiento con cura aparente), pacientes con exposición a un individuo con TBC farmacorresistente, pacientes con residencia en o que viajan a una región con alta prevalencia de tuberculosis farmacorresistente

Puede ser razonable diferir el tratamiento hasta que los resultados de susceptibilidad a medicamentos estén disponibles para los pacientes que no están gravemente enfermos y pueden aislarse si son potencialmente infecciosos, especialmente en circunstancias en las que hay pocas opciones de tratamiento disponibles.

Un régimen empírico ampliado generalmente consiste en medicamentos de primera línea (Isoniazida, Rifampicina y Pirazinamida) más dos o más fármacos adicionales. La infección sistémica grave (como meningitis o enfermedad miliar) debería provocar la adición de al menos tres medicamentos adicionales. Estos medicamentos adicionales incluyen una Fluoroquinolona, un agente inyectable y / u otro agente central de segunda línea. Nunca se debe agregar un solo

medicamento a un régimen fallido, ya que esto puede conducir a la resistencia adquirida al nuevo medicamento.

La elección de los medicamentos de segunda línea debe reflejar el historial de tratamiento anterior, el patrón de resistencia del fármaco del caso fuente (si está disponible), los patrones probables de resistencia en la región de origen del paciente y, si están disponibles, los resultados de las pruebas moleculares para la resistencia a los medicamentos. El régimen debe ser elegido en consulta con una persona que tenga experiencia en el manejo de tuberculosis resistente a los medicamentos y debe administrarse con terapia de observación directa.

El régimen debe ajustarse en consecuencia una vez que los resultados de susceptibilidad a medicamentos estén disponibles.

Tratamiento de la TBC Monoresistente: el abordaje clínico para el tratamiento de la tuberculosis monoresistente (TBC) varía según el aislamiento del agente al que sea resistente. En general, el enfoque de la selección de la terapia antituberculosa es similar para los no infectados por VIH y los que tienen infección por VIH, aunque muchos favorecen la extensión de la duración de la terapia para los pacientes infectados por VIH en aproximadamente tres meses.

Monoresistencia a Isoniazida: el enfoque para tratar pacientes con tuberculosis monoresistente a la Isoniazida (INH) generalmente se basa en la opinión de expertos informada por estudios retrospectivos o de un solo brazo.⁴⁹

Las opciones para el tratamiento de pacientes con tuberculosis INH- mono resistente conocida incluyen:

Opción 1: Rifampicina diaria, Etambutol y Pirazinamida (con o sin Fluoroquinolona) durante seis a nueve meses (o cuatro meses después de la conversión del cultivo); en pacientes infectados por VIH, es razonable prolongar la terapia por otros tres meses. Este enfoque se basa en los ensayos realizados por el servicio de neumología de Hong Kong con la British Medical Research Council, que demostró tasas de éxito del 95 al 98 por ciento entre 107 pacientes con enfermedad resistente a INH. También es respaldado por un estudio retrospectivo de pacientes con TBC INH-mono resistente tratados durante seis meses; las tasas de fracaso o recaída del tratamiento fueron comparables con

los pacientes con TBC susceptible a fármacos, aunque para muchos pacientes la duración de la terapia se prolongó porque la pirazinamida no se administró durante los seis meses completos inicialmente.⁵⁰

Opción 2: si el paciente no tolera la Pirazinamida, se puede usar un régimen que consta de Rifampicina, Etambutol y una Fluoroquinolona de 9 a 12 meses; la susceptibilidad a la Fluoroquinolona debe ser confirmada.⁵¹

Para el tratamiento de pacientes para los que no se dispone de pruebas de susceptibilidad a fármacos, pero que se sabe residen en una región con un nivel de resistencia al INH > 7%, un enfoque aceptable consiste en una fase intensiva estándar con Isoniazida, Etambutol, Rifampicina y Pirazinamida, posteriormente una fase de continuación que consiste en Isoniacida y Rifampicina con adición de Etambutol (en lugar de Isoniazida y Rifampicina sola).⁵² La terapia efectiva para la tuberculosis monosistente a INH se asocia con tasas de respuesta bacteriológica y clínica muy altas (> 95 por ciento) y bajas tasas de recaída (<5 por ciento).⁵³

Mono-resistencia a otros agentes: Rifampicina: los pacientes con mono-resistencia a la Rifampicina deben tratarse como para la tuberculosis multiresistente, de acuerdo con las directrices de la Organización Mundial de la Salud emitidas en 2016.²⁶

Pirazinamida: los pacientes con mono-resistencia a Pirazinamida deben tratarse con Isoniazida y Rifampicina durante nueve meses. Esta combinación tiene una tasa de éxito > 96 por ciento en ensayos grandes. Muchos aislamientos con mono-resistencia a Pirazinamida reflejan la enfermedad por *M. bovis*.

Otros agentes: la resistencia a Etambutol, Estreptomina o agentes de segunda línea es de poca importancia clínica; los pacientes con enfermedad causada por estos pueden tratarse como TBC susceptible a fármacos (fase intensiva: Isoniacida, Rifampicina, Pirazinamida y Etambutol [si no son resistentes] durante dos meses, seguida de la fase de continuación: Isoniacida y Rifampicina durante cuatro meses).⁵⁴

Tratamiento de la TBC Poliresistente - El término "tuberculosis poliresistente " se refiere a la TBC causada por un aislamiento de *M. tuberculosis* que es resistente

a más de un agente antituberculoso; el aislamiento puede ser resistente a la Isoniacida o a la Rifampicina, pero no a ambos. El tratamiento de la tuberculosis polirresistente depende del patrón de resistencia a los medicamentos; en general, debe incluir medicamentos usados como primera línea como más una Fluoroquinolona y, en muchos casos, un medicamento inyectable.⁵⁴

Tratamiento de la TBC Multidrogoresistente: El término "tuberculosis resistente a múltiples fármacos (MDR-TBC)" se refiere al aislamiento de M. tuberculosis que es resistente tanto a la Isoniazida como a la Rifampicina y posiblemente a otros agentes adicionales. El tratamiento está justificado para pacientes con TBC-MDR o TBC con monoresistencia a la rifampicina. Los regímenes se deben elegir en consulta con una persona que tenga experiencia en tratar la TB-MDR siempre que sea posible. Además, la consideración de la cirugía está justificada en circunstancias específicas.⁵⁴

Tratamiento de la TBC excesivamente resistente a las drogas: el término "tuberculosis extensamente resistente a los medicamentos (XDR-TBC)" se refiere a la tuberculosis causada por el aislamiento de M. tuberculosis que es resistente al menos a la Isoniacida, la Rifampicina y las Fluoroquinolonas, así como a los Aminoglucósidos (Amikacina, Kanamicina) o Capreomicina o ambas. Los regímenes se deben elegir en consulta con una persona que tenga experiencia en el tratamiento de la tuberculosis resistente a múltiples fármacos (MDR-TB) siempre que sea posible y en colaboración con el programa de salud pública jurisdiccional. Además, la consideración de la cirugía está justificada en circunstancias específicas.⁵⁵

Utilidad de la cirugía para la TB-MDR o XDR: En general, la cirugía para el tratar la enfermedad tuberculosa es más efectiva en pacientes con respuesta clínica deficiente o con intolerancia para terapia médica supervisada que tienen enfermedad pulmonar susceptible de resección completa (lobectomía, resección en cuña o neumonectomía).⁵⁵ La consideración de la cirugía para el tratamiento de la tuberculosis multirresistente (TB-MDR) y la tuberculosis resistente a los medicamentos (TB-XDR) está justificada en las siguientes circunstancias: Cultivos de esputo persistentemente positivos más allá de cuatro a seis meses de terapia antituberculosa, presencia de resistencia farmacológica extensa que es poco probable que se cure con terapia antituberculosa sola, presencia de

complicaciones como hemoptisis masiva o fístula broncopleurales persistentes. En general, la cirugía debe realizarse solo después de varios meses de terapia antituberculosa, después de la conversión de frotis (si es posible) e idealmente después de la conversión del cultivo. Idealmente, el equipo quirúrgico debe tener una mucha destreza en el tratamiento quirúrgico de la enfermedad tuberculosa. Se debe administrar un ciclo completo de terapia antituberculosa después de la resección quirúrgica; la fecha de la cirugía se puede considerar como la fecha de conversión del cultivo si no hay cultivos posteriores positivos de esputo.⁵⁶

2.3 MARCO CONCEPTUAL

Tuberculosis pulmonar: enfermedad infectocontagiosa producida por bacilo de KOCH con manifestación primaria pulmonar.²

Tuberculosis extrapulmonar: manifestación no pulmonar del bacilo de KOCH.⁴

Pruebas diagnósticas: Tipo de prueba que se usa para ayudar a diagnosticar una enfermedad o afección.⁹

Resistencia bacteriana: Capacidad en sí de las bacterias de poder tolerar los efectos que tienen los antibióticos biocidas para eliminarlas o muchas veces solo controlarlas.⁴⁸

GeneXpert *Mycobacterium tuberculosis* / Rifampicina: método basado en la PCR que en un máximo de 120 minutos detecta si existe el ADN de la enfermedad tuberculosa con susceptibilidad al antibiótico antituberculoso Rifampicina.⁹

Rifampicina : es un antibiótico bactericida del grupo de las rifamicinas.⁴⁸

2.4 FORMULACION DE LA HIPÓTESIS:

2.4.1 Hipótesis general

La prueba Genexpert MTC / RIF tiene valor diagnóstico en las muestras pulmonares y extrapulmonares de *Mycobacterium Tuberculosis* de 6 años realizado en un laboratorio privado Lima – Perú.

2.4.2 Hipótesis específicas

Se podría cuantificar la sensibilidad y especificidad de GeneXpert en muestras pulmonares y extrapulmonares comparándolos con cultivo y la baciloscopía con GeneXpert.

Existen frecuencias de positividad de las muestras por GeneXpert MTB/ RIF

Existe positividad en las muestras para mutaciones en el gen rpoB de la Rifampicina.

2.5 Identificación de variables e indicadores.

2.5.1 Definición operacional

1.- Variable independiente GeneXpert MTB / RIF

2.- Variable dependiente Valor diagnóstico.

2.5.2 Operacionalización de variables (Anexo N° 1).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

3.1.1 Tipo de investigación

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo y transversal.

3.1.2 Nivel de investigación

Acorde a la naturaleza de esta investigación es de nivel descriptivo correlacional.

3.1.3 Diseño del estudio

El estudio es descriptivo se hizo una descripción de los valores diagnósticos, a su vez sensibilidad y especificidad y también la resistencia a la Rifampicina por método GeneXpert. De corte retrospectivo ya que se realizó con resultados de 6 años de muestras ya recolectadas. Es transversal ya que solo se realizó una medida de las muestras seleccionadas. No experimental.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La unidad de análisis estuvo formada por las muestras las cuales se enviaron para descartar de tuberculosis. La población está constituida por 4383 muestras pulmonares y extrapulmonares que se sometieron por sospecha diagnóstica de tuberculosis en un laboratorio particular entre octubre 2012 y mayo 2018.

El trabajo se realizó con una muestra no probabilística por conveniencia que abarcó todas las pruebas de laboratorio del universo a los que se les aplicó los criterios de inclusión y los de exclusión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- 1.-Muestras enviadas de pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar.
- 2.-Muestras enviadas de pacientes con sospecha de tuberculosis extrapulmonar.
- 3.-Muestras enviadas de pacientes con sospecha de resistencia a la rifampicina.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- 1.- Muestras de la cual no se sabían de qué órgano fueron enviadas para descarte de tuberculosis.
- 2.- Posibilidad de que la prueba salga con valor indeterminado.

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA RECOLECCIÓN

3.4.1 TÉCNICAS

El total de muestras 4383 son con las que se realizaron el trabajo de investigación. Un total de 1721(38%) muestras pulmonares (esputo, lavado broncoalveolar) y un total de 2662 (62%) extrapulmonares (líquido pericárdico, aspiración traqueal , biopsia cutánea , líquido ascítico, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, orina, sangre, absceso del muslo, absceso paravertebral, absceso de la pared torácica, cepa bacteriana, secreciones gástricas, aspiración gástrica, absceso mamario, humor acuoso, médula ósea, líquido sinovial, ganglio linfático y biopsia ósea).

Procedimiento de la baciloscopía:

Se prepararon frotis de todas las muestras y se examinaron en el Laboratorio particular para detectar la presencia de bacilos acido alcohol resistentes. Las muestras se extendieron sobre la lámina de vidrio y se tiñeron mediante el método Ziehl Neelsen. La presencia de las micobacterias se observó bajo microscopio. Todas las muestras también se tiñeron con el método de fluorescencia de Auramina.³

Procedimiento de cultivo:

Los especímenes descontaminados y concentrados se inocularon al medio sólido Lowenstein-Jensen (LJ) para la detección del crecimiento. El cultivo se reportó como positivo tan pronto como se reconocieron colonias de morfología

característica constituidas por bacilos ácido-alcohol resistente. Después de 45 días de incubación, las muestras sin crecimiento se reportaron como negativas.⁸

Procedimiento GeneXpert MTB / RIF:

El ensayo GeneXpert consta de dos componentes principales: el cartucho de plástico, que contiene el procesamiento de muestras líquidas con tampones de PCR y reactivos de PCR en tiempo real liofilizados.

El procedimiento se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Cepheid, Inc.). Se añadió reactivo de muestra a 2 x volumen a la muestra que contenía el tubo. El tubo cerrado se agitó manualmente primero y luego se incubó aproximadamente por 15 minutos a temperatura ambiente, y la muestra diluida se pipeteó en el cartucho. Los cartuchos se insertaron en el instrumento GeneXpert, y los resultados generados automáticamente para MTB / RIF resistentes se leyeron después de 2 horas.¹⁵

3.4.2 INSTRUMENTOS

Se tomaron los datos de las muestras de los pacientes enviados para descarte de tuberculosis los cuales serán tomados del Excel donde se encuentra dicha información que nos sirvió para el trabajo de esta investigación.

3.5 TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.

En este trabajo se realizó pruebas diagnósticas las cuales se utilizan para determinar si un individuo posee o no una patología (Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo).

Para poder realizar este trabajo las pruebas diagnósticas se explican según el Teorema de Bayes que nos indica si es probable condicionar un evento aleatorio A dado B en definición de distribuir la probabilidad condicionando al evento B dado en A y como distribuir la probabilidad marginal de sólo A.

El ensayo GeneXpert identificó una muestra como M. tuberculosis positiva y resistente a la Rifampicina, basada en un algoritmo de software interno que comparaba los umbrales de dichas muestras.

El análisis estadístico se realizó con el software Microsoft Excel.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

EL presente trabajo no tiene aplicación ética ya que se utilizaron muestras ya recolectadas de pacientes con sospecha de tuberculosis por lo que no atentan con la dignidad de dichos pacientes. Sus resultados son transparentes y confidenciales, además pueden ser evaluados por las comisiones de ética y supervisado por la comunidad científica.

Este trabajo se envió para su revisión a la comisión de Ética de la Universidad Privada San Juan Bautista, no se realizó consentimiento informado ya que se tomarán datos secundarios y se tomó en cuenta la declaración de Helsinki II.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Valor diagnóstico: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Se procesaron 377 muestras pulmonares y 99 extrapulmonares, con el fin de comparar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de baciloscopía comparado GeneXpert.

Se procesaron 372 muestras pulmonares y 203 extrapulmonares, con el objetivo de comparar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de GeneXpert con el cultivo.

Se Realizaron los siguientes procedimientos ya descritos anteriormente. Baciloscopía o frotis para bacilos ácido alcohol resistente, cultivo para *Micobacterium tuberculosis* y procedimiento GeneXpert MTB / RIF.

Tabla 1: Comparación de balicoscopía con GeneXpert:

		Extra Pulmonar(n=99)		Total
		GeneXpert		
BAAR	Positivo	4	2	6
	Negativo	7	86	93
Total		11	88	99

		Pulmonares(n=377)		Total
		GeneXpert		
BAAR	Positivo	34	0	34
	Negativo	35	308	343
Total		69	308	377

Interpretación de la Tabla 1: Se realizó la comparación tanto en muestras pulmonares como extrapulmonares de baciloscopía con GeneXpert 99 muestras extrapulmonares y 377 muestras pulmonares la cual nos sirvió para determinar los valores diagnósticos y predictivos. (Tabla 1).

Tabla 2: Comparación de GeneXpert con cultivo:

Extra Pulmonares(n=203)

		Cultivo		Total
		Positivo	Negativo	
Genexpert	Positivo	10	8	18
	Negativo	2	183	185
Total		12	191	203

Pulmonares(n=372)

		Cultivo		Total
		Positivo	Negativo	
Genexpert	Positivo	62	8	70
	Negativo	1	301	302
Total		63	309	372

Interpretación de la Tabla 2: Se realizó la comparación tanto en muestras pulmonares como extrapulmonares de GeneXpert con cultivo 203 muestras extrapulmonares y 372 muestras pulmonares la cual nos sirvió para determinar los valores diagnósticos y predictivos.(Tabla 2)

Tabla 3: Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de GeneXpert comparado con cultivo.

Tipo de muestra	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Muestras Pulmonares (n=372)	98%	97%	89%	100%
Muestras extrapulmonares (n=203)	83%	96%	56%	99%

Interpretación de la Tabla 3: Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del ensayo de GeneXpert comparado con cultivo.

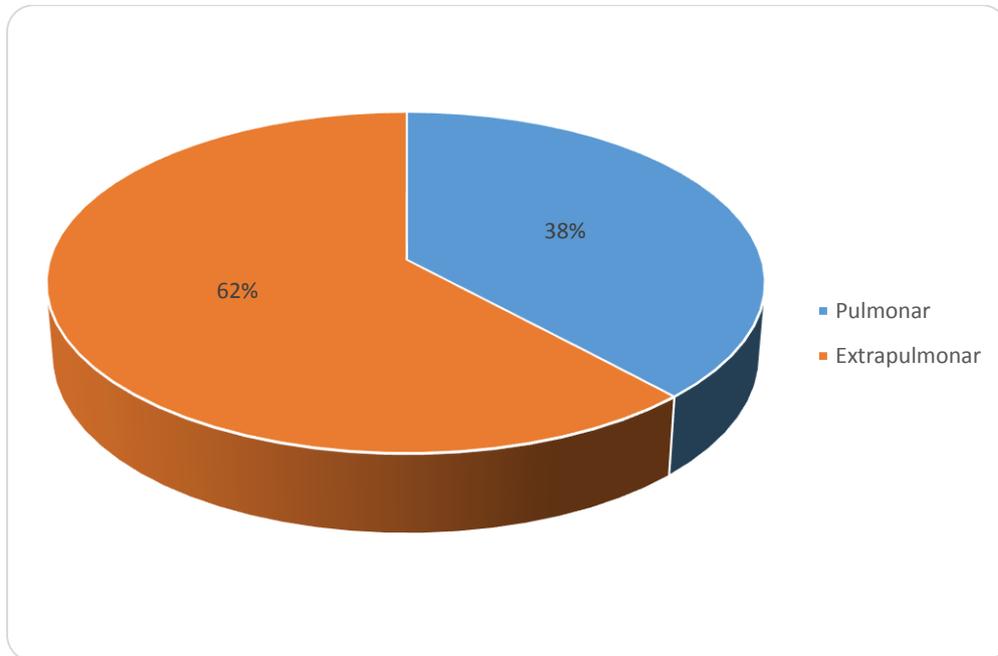
Tabla 4 Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de Baciloscopía comparado con GeneXpert.

Tipo de muestra	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Muestras pulmonares. (n=377)	49%	100%	100%	90%
Muestras extrapulmonares (n=99)	36%	98%	67%	92%

Interpretación de la Tabla 4: Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de baciloscopía comparado con el ensayo de GeneXpert .

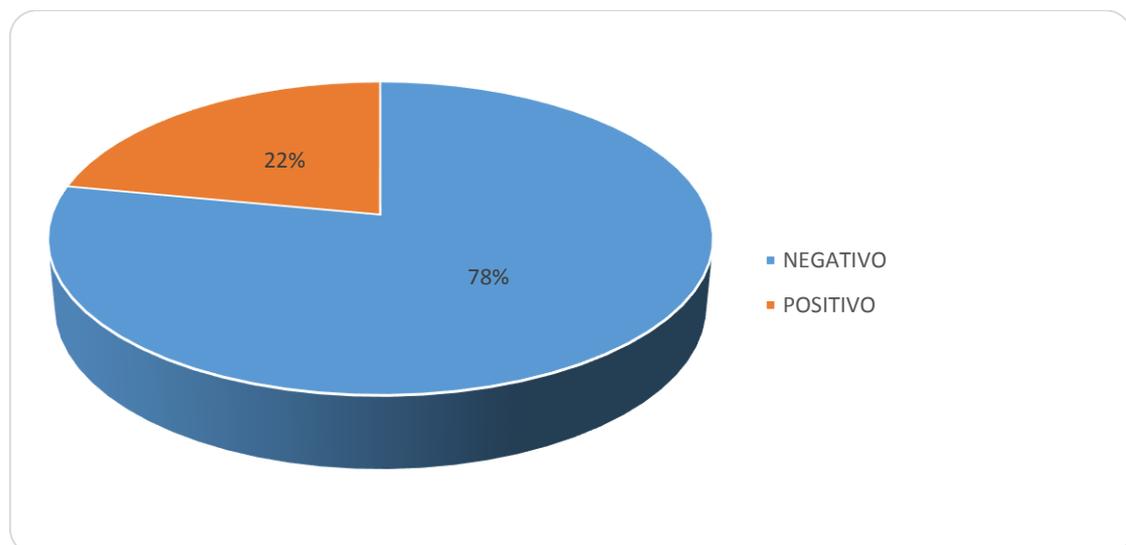
Positividad de las muestras.

Gráfico 1: Muestras procesadas para Mycobacterium tuberculosis (N= 4383).



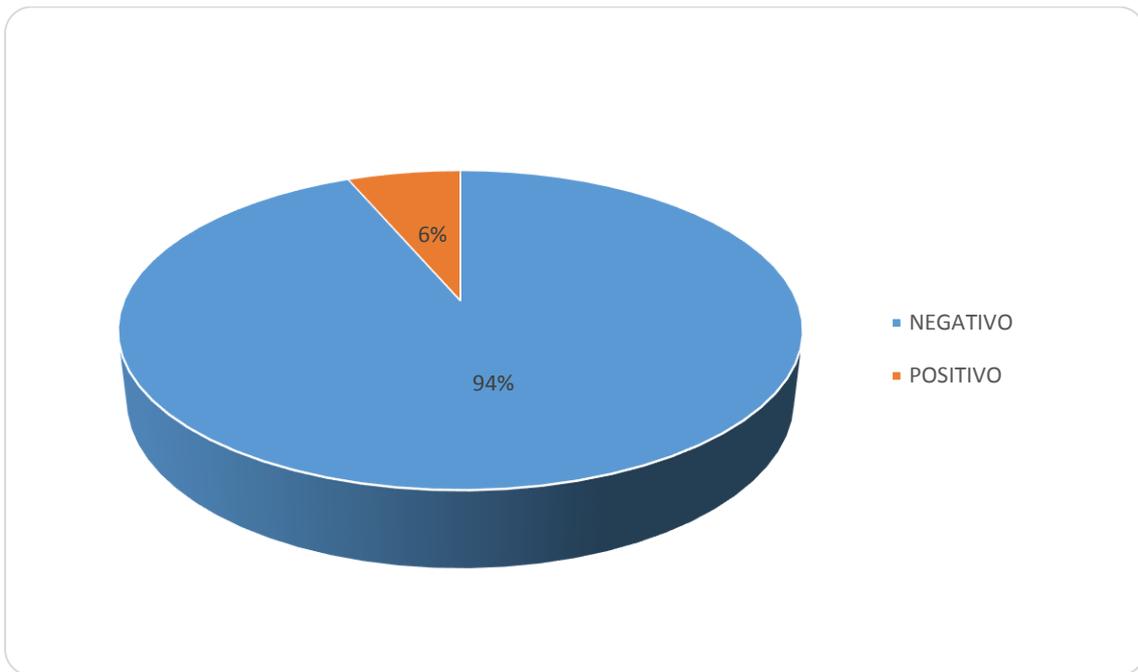
Interpretación del Gráfico 1: Se observa que la mayor cantidad de muestras procesadas fueron extrapulmonares que pulmonares.

Gráfico 2: Frecuencia de positividad en muestras pulmonares (n = 1721).



Interpretación del Gráfico 2: Se observa una positividad del 22% en las muestras pulmonares.

Gráfico 3: Frecuencia de positividad en muestras extrapulmonares. (n= 2662)



Interpretación del Gráfico 3: Se observa una positividad del 6% en muestras extrapulmonares.

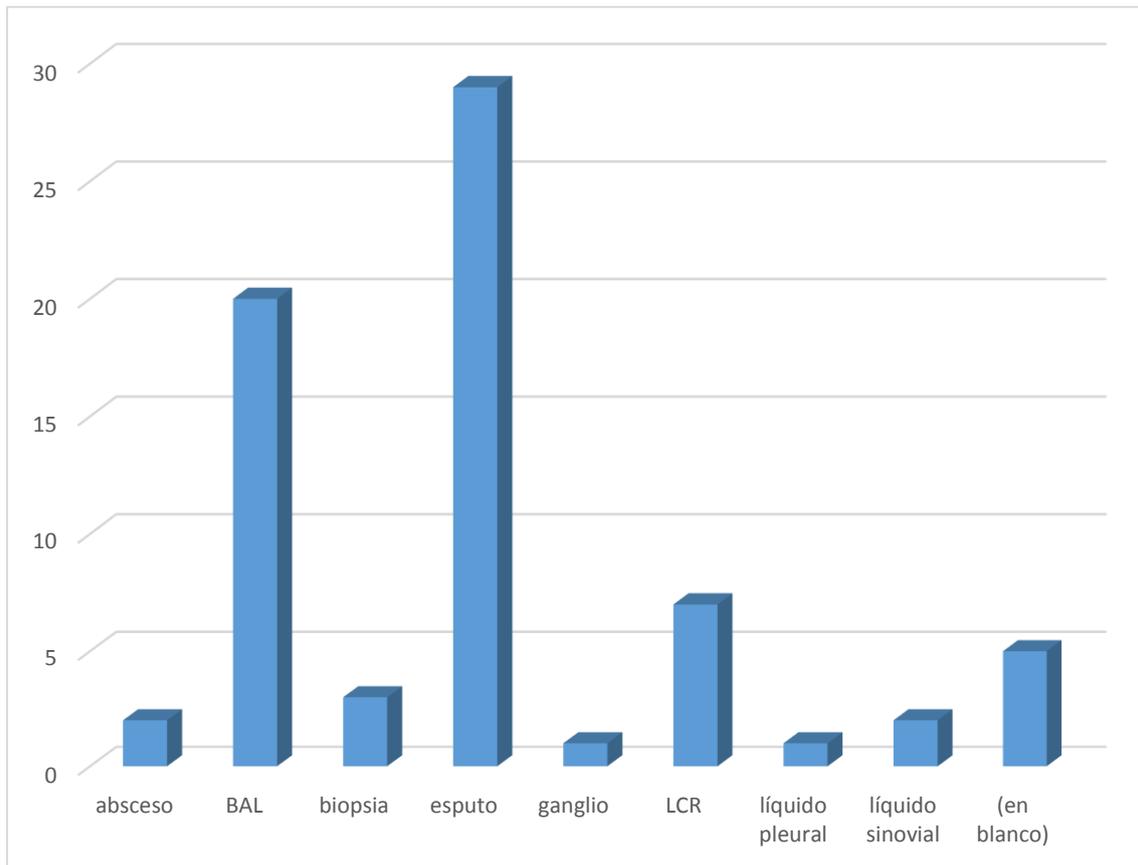
Tabla 5: Tipos de muestra y positividad

Tipo de Muestra	NEGATIVO	POSITIVO	Total general	% Positivos
Total general	3842	541	4383	12%
LCR	1339	93	1432	6%
Lavado broncoalveolar.	735	201	936	21%
esputo	607	178	785	23%
líquido pleural	349	18	367	5%
orina	292	12	304	4%
sangre	215	1	216	0%
absceso	62	17	79	22%
líquido ascítico	72	3	75	4%
jugo gástrico	13	4	17	24%
líquido sinovial	12	3	15	20%
ganglio	12	5	17	29%
aspirado traqueal	6	3	9	33%
tejido	3	1	4	25%
Columna Vertebral	7	2	9	22%
mama	63	0	63	0%
ojo	40	0	40	0%
médula ósea	13	0	13	0%
líquido seminal	2	0	2	0%

Interpretación de la Tabla 5: Se analiza el tipo de muestra analizada cuales fueron positivos y negativos el total general de las muestras procesadas y el porcentaje de positividad total y por tipo de muestra.

GeneXpert MTB / RIF ensayo para la detección de resistencia RIF:

Gráfico 4: Positividad de muestras para Resistencia a Rifampicina.



Interpretación del Gráfico 4: Se observa que la mayor positividad para el gen de resistencia a Rifampicina es en muestras pulmonares (lavado bronqueoalveolar y esputo)

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Discusión

Valor diagnóstico: Sensibilidad, especificidad, valores predictivos.

Uno de los últimos y más recientes pruebas diagnósticas es el ensayo GeneXpert MTB / RIF, es un método de diagnóstico molecular que fue validado sólo en muestras pulmonares por el fabricante ¹⁶. Sin embargo, algunos estudios han evaluado la utilidad del ensayo GeneXpert para el diagnóstico rápido de tuberculosis extrapulmonar.^{7,57,58.}

En la **Tabla 1** donde se realiza la comparación de baciloscopía con GeneXpert se encontró que entre las 69 muestras pulmonares que fueron positivas por GeneXpert, 35 fueron negativas por baciloscopía, y de las 11 muestras extrapulmonares que fueron positivas por GeneXpert 7 fueron negativas por baciloscopía. Se calculó que 34 de las muestras pulmonares que fueron positivas para baciloscopía fueron también positivas por GeneXpert.

Esta tabla nos determina que muchas de las muestras que fueron positivas para GeneXpert en muestras pulmonares y extrapulmonares fueron negativas por baciloscopía, esto nos indica que la prueba de baciloscopía que es la que más se utiliza como diagnóstico inicial no diagnosticaría muchos casos de tuberculosis pudiendo ser una buena opción diagnóstica inicial la prueba por GeneXpert, indicándonos que es un método de prueba rápido, útil y preciso para diagnosticar la TBC pulmonar y extrapulmonar.

En la **Tabla 2** donde realizamos la comparación de GeneXpert y cultivo se encontró que 8 muestras pulmonares negativas para cultivo fueron positivas para GeneXpert, y 8 muestras extrapulmonares negativas para cultivo fueron positivas para GeneXpert. De las 63 muestras pulmonares positivas al cultivo, 62 (98%) fueron positivas para GeneXpert, y 12 de 10 (83%) de muestras extrapulmonares que fueron positivas para cultivo fueron positivas para GeneXpert también. Una de las muestras que creció fue positiva para micobacterias no tuberculosa.

Este dato es importante ya que la mayoría muestras pulmonares y extrapulmonares que fueron positivas para GeneXpert también lo fueron para cultivo dándole un gran importancia para el diagnóstico TBC siendo esto más rápida, con menos habilidades requeridas por el usuario, con una mínima capacitación del personal del laboratorio, y con la misma exactitud que el cultivo además de la ventaja sobre el cultivo que es la demora en su resultado.

En la **Tabla 3 y Tabla 4** se obtuvieron los valores diagnósticos y predictivos haciendo ya las comparaciones de baciloscopía con GeneXpert y el GeneXpert con cultivo.

En la **Tabla 3** cuando se realiza la comparación de GeneXpert comparado con cultivo en muestras pulmonares los resultados fueron de una sensibilidad de 98%, especificidad del 97%, valor predictivo positivo de 89% y valor predictivo negativo de 100%.

Cuando se realiza la comparación de GeneXpert comparado con cultivo en muestras extrapulmonares los resultados fueron de una sensibilidad de 83%, especificidad del 96%, valor predictivo positivo de 56% y valor predictivo negativo de 99%.

Esto nos refleja su mayor utilidad en muestras pulmonares pero no deja de ser importante su ayuda diagnóstica en muestras extrapulmonares, esto ya que es más fácil tener muestras de pulmón que extrapulmonares siendo esto válido cuando se hace la comparación con el cultivo.

En la **Tabla 4** Cuando se realiza la comparación de la baciloscopía comparado con GeneXpert en muestras pulmonares los resultados fueron de una sensibilidad de 49%, especificidad del 100%, valor predictivo positivo de 100% y valor predictivo negativo de 90%.

Cuando se realiza la comparación de baciloscopía comparado con GeneXpert en muestras extrapulmonares los resultados fueron de una sensibilidad de 36%, especificidad del 98%, valor predictivo positivo de 67% y valor predictivo negativo de 92%.

La sensibilidad es bastante baja de la baciloscopía haciendo que muchos pacientes tengan tuberculosis y no sean diagnosticados siendo un riesgo de contagio y un gran problema de salud pública, además que tenemos que esperar aproximadamente un mes para tener el resultado del cultivo, la falta de equidad en el diagnóstico también sería importante ya que se diagnosticarían menos casos de tuberculosis con la baciloscopía trayendo complicaciones de drogoresistencia y secuelas de la enfermedad.

El valor diagnóstico de GeneXpert se ha validado en otros trabajos siendo esto para muestras pulmonares y extrapulmonares.

La sensibilidad y especificidad de GeneXpert comparando el cultivo y la baciloscopía, han sido reportadas en estudios previos del ensayo MTB/RIF.⁵⁸⁻⁶¹

Un estudio informó una sensibilidad del 79,7% y una especificidad del 98,2% en comparación con el cultivo en muestras pulmonares.^{57.}

Otro trabajo realizado por la OMS (2013) donde igualmente se comparó el Gnextpert con cultivo teniendo una sensibilidad de 88% y especificidad 99%.²⁰

Helb D y Col desarrollaron un trabajo de muestras pulmonares con una sensibilidad y especificidad del 100%.

En este estudio encontramos una sensibilidad (98%) y especificidad (97%) muy parecida a trabajos anteriores pero con muestras netamente procesadas del Perú.

En cuanto a muestras extrapulmonares comparado con cultivo hay reporte de trabajo realizado por Ioannidis P y Col el en cual encuentran sensibilidad 100% y especificidad del 91.6%.⁶¹

En el trabajo realizado se encontró una sensibilidad 83% y especificidad de 96% siendo la sensibilidad más baja y la especificidad más alta.

Cabe señalar que 8 de las muestras pulmonares y 8 en extra pulmonares fueron negativas por cultivo pero fueron positivas por GeneXpert, lo que demostró una menor sensibilidad del método de cultivo o la presencia de bacterias muertas.

El rendimiento de GeneXpert aquí sugiere que también es una herramienta útil para la detección rápida de la tuberculosis extrapulmonar.

En cuanto a la comparación que se realiza de la baciloscopía con GeneXpert en muestras pulmonares existe un trabajo realizado por Boehme y Col sensibilidad de 44.6% y especificidad del 100% siendo en el trabajo la sensibilidad de 49% y especificidad de 100% siendo casi iguales en valores.⁶⁰

No se encontraron reportes de comparación de baciloscopía con GeneXpert en muestras extrapulmonares siendo en el trabajo una sensibilidad de 36% y especificidad del 98%.

Positividad de las muestras.

Se incluyeron en el estudio todos los especímenes pulmonares y extrapulmonares que se procesaron en el laboratorio para diagnóstico de tuberculosis entre octubre de 2012 y mayo de 2018.

En el **Gráfico 1** se indica que el numero especímenes investigados fue de 4383. Un total de 1721 (38%) muestras pulmonares (esputo y lavado broncoalveolar, y un total de 2662 (62%) extrapulmonares (aspiración traqueal, líquido pericárdico, biopsia cutánea , líquido ascítico, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, orina, sangre, absceso del muslo, absceso paravertebral, absceso de la pared torácica, secreciones gástricas, aspiración gástrica, absceso mamario, humor acuoso, médula ósea, líquido sinovial, ganglio linfático y biopsia ósea).

En el **Gráfico 2** se analiza la positividad de muestras pulmonares las cuales fueron procesadas 1721 siendo positivas 379 (22%) del total, fueron negativas el 78%.

En el **Gráfico 3** se analiza la positividad de muestras extrapulmonares las cuales fueron procesadas 2811 siendo positivas 162 (6%) del total, fueron negativas el 94%.

En la **Tabla 5** se observa la positividad por tipo de muestras siendo el porcentaje de positividad del total de muestras del 12%.

Estas son mayores en muestras pulmonares de esputo (23%), lavado broncoalveolar (21%) sumando en total 379 muestras positivas.

Se observa que 1432 (51%) de los 2811 especímenes extrapulmonares son de líquido cefalorraquídeo con una positividad del 6% siendo positivas 93 muestras.

Las muestras extrapulmonares con mayor positividad fueron de aspirado traqueal (33%), ganglio (29%), jugo gástrico (24%), absceso (22%) columna vertebral (22%), siendo de tejidos varios (24%) pero con muy pocas muestras (4) siendo el total 2811 muestras, con positividad de 162 en total, teniendo algunas coincidencias con el trabajo de la OMS 2013.

En un reporte de la OMS del 2013 se evaluó el valor diagnóstico en diferentes muestras extrapulmonares siendo mayoritariamente en tejido de ganglio linfático, en tejidos varios, aspirado gástrico. Siendo variadas las positivities en líquido cefalorraquídeo y otros líquidos corporales.²⁰

Con respecto a las muestras específicas los de mama, ojo, líquido seminal, médula ósea (100%) fueron negativos para el MTB por GeneXpert, lo que podría indicar una menor sensibilidad con estos tipos de muestra que se sospechaba que era clínicamente TBC. A pesar de no conocer otras variables de estos pacientes, acuden a la mayor sospecha clínica de tuberculosis (comunicación verbal de los médicos que tratan) ya que se requieren estudios específicos en estos tipos de muestras.

Resistencia a Rifampicina.

En el **Gráfico 4** se observa la positividad para el gen de Rifampicina siendo mayor en muestras pulmonares que extrapulmonares.

El ensayo GeneXpert detectó la mutación del gen rpoB asociada a la resistencia a rifampicina en 70 muestras (49 pulmonares y 21 extrapulmonares) de las 4383 muestras que se incluyeron en el estudio.

Este tipo de mutación y resistencia a uno de los fármacos antituberculosos más importantes, sería imposible detectarlo sin el ensayo GeneXpert, porque vivimos en un país que sólo utiliza la baciloscopía para el diagnóstico regular de TBC, siendo una tasa de 1.6% la resistencia encontrada.

Los resultados demostraron que algunas de las muestras que fueron negativas para la baciloscopía dieron resistencia a la Rifampicina basándose en la detección de un gen de mutación rpoB. No se confirmó de forma independiente los resultados, pero son coherentes con la prevalencia conocida de la resistencia a la Rifampicina

En un trabajo realizado en Chile por Vallejo y Col se procesaron un total de 529 muestras donde se encontró resistencia a rifampicina en 12 muestras, 8 pulmonares y 4 extrapulmonares siendo una tasa menor del 1%.

Una gran ventaja del ensayo GeneXpert es la baja probabilidad de resultados falsos positivos debido a la detección de micobacterias no tuberculosas.

Es el primer trabajo realizado en el Perú de este tipo y con una de las mayores cantidades de muestras procesadas a nivel mundial.

Esta prueba no nos sirve para seguimiento de pacientes que ya tuvieron tuberculosis por la presencia del ADN bacteriano.

Hoy en día, en esta época avanzada y moderna, cuando la prevalencia de la tuberculosis y las tasas de mortalidad siguen aumentando para una enfermedad infecciosa que tiene una cura, es necesario imponer un método diagnóstico que a pesar del costo podría diagnosticar esta infección rápidamente, sin mucha preparación del personal del laboratorio y, lo que es más importante, con una mayor sensibilidad y especificidad que los métodos convencionales. Si se alcanzan tales objetivos, tal prueba podría justificar un costo mayor que los métodos actuales.

5.2 Conclusiones

1. El valor diagnóstico de GeneXpert MTC / RIF es alto tanto en muestras pulmonares como extrapulmonares en los 6 años de estudio en el laboratorio privado Lima – Perú.

2. La prueba GeneXpert tiene una alta sensibilidad y especificidad en muestras pulmonares y extrapulmonares en comparación con baciloscopía y cultivo en el laboratorio privado donde se realizó el estudio.
3. Se encontró una tasa de positividad del 12% del total de muestras procesadas en el laboratorio privado donde se realizó el estudio.
4. La positividad en la muestras procesadas del gen rpoB de la Rifampicina es del 1.6% en el laboratorio privado donde se realizó el estudio.

5.3 Recomendaciones.

1. Instaurar esta prueba en hospitales referenciales del Ministerio de Salud que trabajen en forma conjunta con centros periféricos de salud para poder realizar diagnósticos más rápidos y precisos de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar como es la recomendación actual de la OMS priorizando en los bolsones de tuberculosis en Lima (este, sur y centro) y Callao donde está la mayor cantidad de pacientes con dicha enfermedad y además son multidrogoresistentes.
2. Incluir esta prueba dentro del flujograma de diagnóstico de tuberculosis del Ministerio de Salud ya que se podría diagnosticar más casos en forma más rápida evitando el contagio de contactos con disminución de mortalidad y complicaciones, además de informar en su resultado si hay resistencia a la Rifampicina pudiendo iniciar un tratamiento adecuado ya como tuberculosis MDR.
3. Trabajar conjuntamente con la OMS u ONG para disminuir precio de prueba diagnóstica y sea más universalizada sin que sea una brecha el precio de ella.
4. Realizar trabajos de costo / efectividad de comparación de pruebas diagnósticas actualmente realizadas (baciloscopía y cultivo) con la prueba diagnóstica Genexpert MTB / RIF.

5. Incentivar a realizar más trabajos de tuberculosis extrapulmonar para poder estandarizar la prueba ya que hay muestras que salieron negativas siendo esta mayor en líquidos que tejidos corporales.

FUENTES DE INFORMACIÓN

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Zaman K. Tuberculosis: A Global Health Problem. *J Health Popul Nutr.* 2010;28(2):111-3.
2. WHO. World Health Organization. Global Tuberculosis Report; 2013.
3. Vignesh R, Balakrishnan P, Shankar E, Murugavel K, Hanas S, Cecelia A, Solomon S, Kumarasamy N. Value of single acid-fast bacilli sputum smears in the diagnosis of tuberculosis in HIV-positive subjects. *J Med Microbiol.* 2007;56(12):1709-10.
4. WHO. World Health Organization. Tuberculosis country profiles from Global Tuberculosis Report; 2013.
5. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, Von Reyn F. Tuberculosis. *N Engl J Med.* 2013;368(8):745-55
6. Heymann D. Tuberculosis Control of Communicable Diseases Manual. 18th Edition; 2007.
7. Hillemann D, Rüscher-Gerdes S, Boehme C, Richter E. Rapid Molecular Detection of Extrapulmonary Tuberculosis by the Automated GeneXpert MTB/RIF System. *J Clin Microbiol.* 2011;49(4):1202-5.
8. Rahman F, Kishore S, Mostofa S, Rahman S, Noor R. Comparison of Different Microscopic Methods with Conventional TB Culture. *Stam J Microbiol.* 2011;1(1):45-60.
9. WHO. World Health Organization. Policy Statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system; 2011
10. Boehme C, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, Allen J, Tahirli R, Blakemore R, Rustomjee R, Milovic A, Jones M, O'Brien SM, Persing DH, Ruesch-Gerdes S, Gotuzzo E, Rodrigues C, Alland D, Perkins MD. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med.* 2010;363(11):1005-15.
11. Boehme C, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, Gler MT, Blakemore R, Worodria W, Gray C, Huang L, Caceres T, Mehdiyev R, Raymond L, Whitelaw A, Sagadevan K, Alexander H, Albert H, Cobelens F, Cox H, Alland D, Perkins MD. Feasibility, diagnostic accuracy, and

- effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet*. 2011;377(9776):1495-1505.
12. Ellner JJ. The emergence of extensively drug-resistant tuberculosis: a global health crisis requiring new interventions. Part II. Scientific advances that may provide solutions. *Clin Transl Sci*. 2009;2(1):80–84
 13. Walusimbi S, Bwanga F, De Costa A, Haile M, Joloba M, Hoffner S. Meta-analysis to compare the accuracy of GeneXpert, MODS, and the WHO 2007 algorithm for diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis*. 2013;13(507):1-13.
 14. WHO. World Health Organization. Global tuberculosis Report. 2015; 20th Edition.
 15. Balasingham SV, Davidsen T, Szpinda I, Frye SA, Tonjum T. Molecular diagnostics in tuberculosis: basis and implications for therapy. *Mol Diagn Ther*. 2009;13(3):137-51.
 16. Dhasmana D, Ross C, Bradley C, Connell D, George P, Singanayagam A, Jepson A, Craig C, Wright C, Molyneaux P, Wickremasinghe M, Lalvani A, Cooke G, Min Kon O. Performance of Xpert MTB/RIF in the Diagnosis of Tuberculous Mediastinal Lymphadenopathy by Endobronchial Ultrasound. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11(3):392-6.
 17. CDC. Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know: Diagnosis of TB Disease. Center for Disease Control and Prevention. 2014.
 18. Paluch-Oles J, Koziol-Montewka M, Magrys A. Mutations in the rpoB gene of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Eastern Poland. *New Microbiol*. 2009;32(2):147-52.
 19. WHO. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update; 2011.
 20. WHO. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update; 2013.
 21. Maynard-Smith L, Larke N, Peters JA, Lawn SD. Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary and pulmonary tuberculosis when testing non-respiratory samples: a systematic review. *BMC Infect Dis*. 2014;14(709):1-15

22. Fontalvo Rivera D, Gomez Camargo D. Genes del mycobacterium tuberculosis involucrados en la patogenicidad y resistencia a antibioticos durante la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *Med UIS* 2015;28(1):39-51.
23. Peñata A, Salazar R, Castaño T, Bustamante J, Ospina S. Diagnóstico molecular de tuberculosis extrapulmonar y sensibilidad a rifampicina con un método automatizado en tiempo real. *S Biomedica* 2016;36(1):78-89.
24. Mazzola E, Arosio M, Nava A, Fanti D, Gesu G, Farina C. Performance of real-time PCR Xpert ®MTB/RIF in diagnosing extrapulmonary tuberculosis. *Infez Med*. 2016;24(4):304-309.
25. Murray CJ, Ortblad KF, Guinovart C. Global, regional, and national incidence and mortality for HIV, tuberculosis, and malaria during 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2014;384(9947):1005–70.
26. WHO. World Health Organization. Global tuberculosis report; 2016.
27. Anker M, Black RE, Coldham C. A standard verbal autopsy method for investigating causes of death in infants and children. WHO; 2016.
28. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016;388(10053):1459-544.
29. WHO. Tuberculosis financing and funding gaps; 2016.
30. Dye C. Tuberculosis 2000–2010: control, but not elimination. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4(12):146–52.
31. Storla DG, Yimer S, Bjune GA. A systematic review of delay in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *BMC Public Health* 2008;8(1):1-15.
32. Hossain S, Quaiyum MA, Zaman K. Socio economic position in TB prevalence and access to services: results from a population prevalence survey and a facility-based survey in Bangladesh. *PLoS One* 2012;7(2):1-8.
33. Calligaro GL, Zijenah LS, Peter JG. Effect of new tuberculosis diagnostic technologies on community-based intensified case finding: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2017;17(4): 441–50.

34. Lönnroth K, Migliori GB, Abubakar I. Towards tuberculosis elimination: an action framework for low-incidence countries. *Eur Respir J* 2015;45(4):928-52.
35. Davies P. TB in the elderly in industrialized countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11(11):1157-59.
36. Nhamoyebonde S, Leslie A. Biological differences between the sexes and susceptibility to tuberculosis. *J Infect Dis* 2014;209(3):100-06.
37. Rehm J, Samokhvalov AV, Neuman MG. The association between alcohol use, alcohol use disorders and tuberculosis . A systematic review. *BMC Public Health* 2009;9(450):1-12.
38. Dooley KE, Chaisson RE. Tuberculosis and diabetes mellitus: convergence of two epidemics. *Lancet Infect Dis* 2009;9(12):737-46.
39. Begg S, Rao C, Lopez AD. Design options for sample-based mortality surveillance. *Int J Epidemiol* 2005;34(5):1080-87.
40. Dowell SF, Blazes D, Desmond-Hellmann S. Four steps to precision public health. *Nature* 2016; 540(7632): 189-91.
41. Cazabon D, Alsdurf H, Satyanarayana S, et al. Quality of tuberculosis care in high burden countries: the urgent need to address gaps in the care cascade. *Int J Infect Dis* 2017;56(7632):111-16.
42. Denkinger CM, Schumacher SG, Boehme CC, Dendukuri N, Pai M, Steingart KR. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2014;44(2):435-46.
43. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(1):15-30.
44. Albert H, Nathavitharana RR, Isaacs C, Pai M, Denkinger CM, Boehme CC. Development, roll-out and impact of Xpert MTB/RIF for tuberculosis: what lessons have we learnt and how can we do better? *Eur Respir J*. 2016; 48(2):516-25
45. Seaworth BJ, Griffith DE. Therapy of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Microbiol Spectr*. 2017;5(2):1-14.
46. Goble M, Iseman MD, Madsen LA. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. *N Engl J Med*. 1993; 328(8):527-32.

47. World Health Organization. Laboratory XDR-TB definitions. Meeting of the Global XDR TB Task Force. Geneva; 2006.
48. Velayati AA, Masjedi MR, Farnia P. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. *Chest*. 2009;136(2):420-25.
49. Curry International Tuberculosis Center. Drug-Resistant Tuberculosis: A Survival Guide for Clinicians, Third Edition. CITC, Washington DC; 2016.
50. Cattamanchi A, Dantes RB, Metcalfe. Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with isoniazid-monoresistant tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2009;48(2):179-85.
51. Reves R, Heilig CM, Tapy JM. Intermittent tuberculosis treatment for patients with isoniazid intolerance or drug resistance. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014;18(5):571-80.
52. World Health Organization. Treatment of tuberculosis: Guidelines 4th ed, Geneva; 2010.
53. Schechter MC, Bizune D, Kagei M. Time to Sputum Culture Conversion and Treatment Outcomes Among Patients with Isoniazid-Resistant Tuberculosis in Atlanta, Georgia. *Clin Infect Dis*. 2017;65(11):1862-71.
54. Dutt AK, Jones L, Stead WW. Short-course chemotherapy of tuberculosis with largely twice-weekly isoniazid-rifampin. *Chest*. 1979;75(4):441-7.
55. Fox GJ, Mitnick CD, Benedetti A. Surgery as an Adjunctive Treatment for Multidrug-Resistant Tuberculosis: An Individual Patient Data Metaanalysis. *Clin Infect Dis*. 2016;62(7):887-95.
56. Dravniece G, Cain KP, Holtz TH, et al. Adjunctive resectional lung surgery for extensively drug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J*. 2009;34:180.
57. Zeka A, Tasbakan S, Cavysoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF Assay for Rapid Diagnosis of Tuberculosis and Detection of Rifampin Resistance in Pulmonary and Extrapulmonary Specimens. *J Clinical Microbiol*. 2011;49(2): 4138-41..
58. Al-Ateah, S. Al-Dowaidi, M. El-Khizzi, N. Evaluation of direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory and non-respiratory clinical specimens using the Cepheid GeneXpert system. *Saudi Med J*. 2012;33(10):1100-05.

59. Malbruny, B. Le Marrec, G. Courageux, K. Leclercq, R. Cattoir, V. Rapid and efficient detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and non-respiratory samples. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2011;15(4): 553-5.
60. CDC. Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know. Capitulo 4: Diagnosis of TB Disease. Center for Disease Control and Prevention; 2014.
61. Ioannidis P, Papaevtsis D, Karabela S, Nikolaou S, Panagi M, Raftopoulou E, Konstantinidou E, Marinou I, Kanavaki S. Cepheid GeneXpert MTB/RIF Assay for *Mycobacterium tuberculosis* detection and Rifapim Resistance Identification in Patients with Substantial Clinical Indications of Tuberculosis and Semar-Negative Microscopy Results. *J Clin Microbiol.* 2011;49(8):3068-70.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Bachiller Luis Enrique Nieves Córdova.

Tema: VALOR DIAGNÓSTICO DE GENEXPERT (MTB) / (RIF) EN MUESTRAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS REALIZADO EN UN LABORATORIO PRIVADO LIMA – PERÚ, 2012 – 2018.

Variable	Definición operacional	Indicadores	Tipo	Escala de medición	Valores
Valor diagnóstico.	Son valores que miden la eficacia real de una prueba diagnóstica	Prueba molecular Prueba no molecular	Cualitativa	Nominal	Valor predictivo positivo. Valor predictivo negativo. Sensibilidad Especificidad.
Genexpert MTB/ RIF	Método diagnóstico basado en la PCR que permite en un máximo de 120 minutos si hay presencia del ADN de la tuberculosis y, con la susceptibilidad al antibiótico Rifampicina.	Prueba por biología molecular	Cualitativa	Nominal	Positivo Negativo
Drogoresistencia a la Rifampicina	Cuando no es susceptible a la acción de la Rifampicina	Pacientes con tuberculosis drogoresistente a Rifampicina diagnosticados por Genexpert Paciente con tuberculosis drogoresistente diagnosticado por cultivo	Cualitativa	Nominal	Resistencia a Rifampicina No resistencia a Rifampicina
Tuberculosis	Enfermedad producida por M. tuberculosis	Diagnosticada por biología molecular baciloscopia o cultivo	Cuantitativa.	Nominal	Tuberculosis pulmonar Tuberculosis extrapulmonar

ANEXO N° 2 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

TITULO: VALOR DIAGNÓSTICO DE GENEXPERT (MTB) / (RIF) EN MUESTRAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS REALIZADO EN UN LABORATORIO PRIVADO LIMA – PERÚ, 2012 – 2018.

AUTOR: Luis Enrique Nieves Córdova.

Datos del paciente			Fecha y hora de recolección de muestra			Muestra	GeneXpert MTB/RIF		Estudio de BK	
Género	F.nac	Edad	Año	Mes	Día	Origen de la muestra	Detección de Myc. Tuberculosis	Detección Genes de Resistencia	BAAR/ Examen directo	BAAR/ Cultivo

ANEXO 03: MATRIZ DE CONSISTENCIA.

BACHILLER: Luis Enrique Nieves Córdova.

TEMA: VALOR DIAGNÓSTICO DE GENEXPERT (MTB) / (RIF) EN MUESTRAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS REALIZADO EN UN LABORATORIO PRIVADO LIMA – PERÚ, 2012 – 2018.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES
<p>General:</p> <p>PG:</p> <p>¿Cuál es el valor diagnóstico de GeneXpert (MTB) / (RIF) en muestras pulmonares y extrapulmonares en los últimos 6 años realizado en un laboratorio particular Lima – Perú?</p> <p>Específicos:</p> <p>PE 1:</p> <p>¿Cuál es la sensibilidad y la especificidad de Genexpert para la detección de</p>	<p>General:</p> <p>OG:</p> <p>Determinar el valor diagnóstico de GeneXpert Mycobacterium tuberculosis (MTB)/ Rifampicina (RIF) en muestras de Mycobacterium tuberculosis en Lima, Perú 2012-2018.</p> <p>Específicos:</p> <p>OE1:</p> <p>Cuantificar la sensibilidad y la especificidad de GeneXpert para la detección de</p>	<p>General</p> <p>HG:</p> <p>La prueba GeneXpert MTC / RIF tiene valor diagnóstico en las muestras pulmonares y extrapulmonares de <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> de 6 años realizado en un laboratorio privado Lima – Perú.</p> <p>Específicos:</p> <p>HE1:</p> <p>Se podría cuantificar la sensibilidad y especificidad de GeneXpert en muestras</p>	<p>Variable independiente:</p> <p>GeneXpert MTB / RIF</p> <p>Variable dependiente;</p> <p>Valor diagnóstico.</p> <p>Indicadores:</p> <p>Sensible a Rifampicina.</p> <p>Resistente a Rifampicina</p> <p>Tuberculosis pulmonar</p> <p>Tuberculosis extrapulmonar.</p>

<p><i>Mycobacterium tuberculosis</i> en muestras pulmonares y extrapulmonares comparando el Genexpert con cultivo y la baciloscopía comparada con Genexpert?</p>	<p><i>Mycobacterium tuberculosis</i> en muestras pulmonares y extrapulmonares comparándolo con Cultivo y la baciloscopía con Genexpert.</p>	<p>pulmonares y extrapulmonares comparándolos con cultivo y la baciloscopía con GeneXpert.</p>	
<p>PE 2:</p> <p>¿Cuáles son las frecuencias de positividad de las muestras procesadas por GeneXpert tuberculosis / Rifampicina?</p>	<p>OE 2:</p> <p>Determinar las frecuencias de positividad de las muestras procesadas GeneXpert <i>Mycobacterium tuberculosis</i>/ Rifampicina.</p>	<p>HE 2:</p> <p>Existen frecuencias de positividad de las muestras por GeneXpert MTB/ RIF</p>	
<p>PE 3:</p> <p>¿Cuál es la frecuencia de muestras con mutaciones en el gen rpoB para resistencia a Rifampicina?</p>	<p>OE 3:</p> <p>Calcular la frecuencia en las muestras procesadas que presenten mutaciones en el gen rpoB.</p>	<p>HE 3:</p> <p>Existe positividad en las muestras para mutaciones en el gen rpoB de la Rifampicina.</p>	

DISEÑO METODOLÓGICO	POBLACIÓN Y MUESTRA	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>Tipo de investigación: Descriptivo, retrospectivo.</p> <p>Nivel de investigación: Descriptivo correlacional</p> <p>Diseño: Transversal, no experimental</p>	<p>Población: N = 4383 muestras pulmonares y extrapulmonares que se sometieron por sospecha diagnóstica de tuberculosis en un laboratorio particular entre octubre 2012 y mayo 2018.</p> <p>Muestra: 377 muestras pulmonares y 99 extrapulmonares, con el fin de comparar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de baciloscopia comparado GeneXpert.</p> <p>272 muestras pulmonares y 203 extrapulmonares, con el objetivo de comparar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de GeneXpert con el cultivo.</p> <p>Criterios de inclusión: 1.-Muestras enviadas de pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar.</p>	<p>Técnica: Se tomaron los datos de las muestras de los pacientes enviados para descartar tuberculosis los cuales serán tomados del Excel donde se encuentra dicha información que nos sirvió para el trabajo de esta investigación.</p> <p>Instrumento: Ficha de recolección de datos</p>

	<p>2.-Muestras enviadas de pacientes con sospecha de tuberculosis extrapulmonar.</p> <p>3.-Muestras enviadas de pacientes con sospecha de resistencia a la Rifampicina.</p> <p>Criterios de exclusión:</p> <p>1.- Muestras de la cual no se sabían de qué órgano fueron enviadas para descarte de tuberculosis.</p> <p>2.- Posibilidad de que la prueba salga con valor indeterminado.</p>	
--	---	--

ANEXO N 4 INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS.

Informe de Opinión de Experto

V. DATOS GENERALES:

5.1 Apellidos y Nombres del Experto: Vanessa Pastor Kelly
 5.2 Cargo e institución donde labora: Hospital del Niño
 5.3 Tipo de Experto: Metodólogo Especialista Estadístico Patólogo Clínico
 5.4 Nombre del instrumento: Valor diagnóstico de Genexpert
 5.5 Autor (a) del instrumento: Don N. Rojas Cordova

VI. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy Buena 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje claro.					88%
OBJETIVIDAD	No presenta sesgo ni induce respuestas.					90%
ACTUALIDAD	Está de acuerdo a los avances la teoría Valor Diagnostico / Genexpert MTB / RIF					89%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica y coherente de los ítems.					90%
SUFICIENCIA	Comprende Aspectos en calidad y cantidad.					89%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para establecer Valor diagnostico / Genexpert MTB / RIF					88%
CONSISTENCIA	Basado en aspectos teóricos y científicos.					89%
COHERENCIA	Entre los índices e indicadores.					90%
METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito de la investigación descriptiva					88%

VII. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

VIII. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 89%

Lugar y Fecha: Lima 18/07/2019

Firma del Experto
 DNI N° 43485554
 Teléfono 993403133

Kelly Alarcón P.

MINISTERIO DE SALUD
 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO

DRA. KELLY VANESSA ALARCÓN PASTOR
 PATÓLOGO CLÍNICO
 CMP. 58548 RNE. 035916

Informe de Opinión de Experto

I. DATOS GENERALES:

1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Carlos Viquez Pizarro
 1.2 Cargo e institución donde labora: Empleo Postgrado de la UPRJB
 1.3 Tipo de Experto: Metodólogo Especialista Estadístico
 1.4 Nombre del instrumento: Valor Diagnostico de Genexpert
 1.5 Autor (a) del instrumento: Dña. Nieves Torres

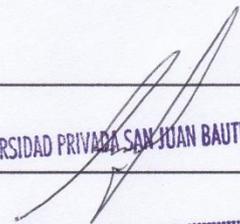
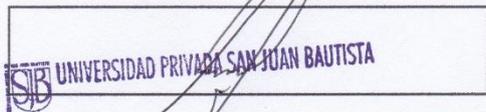
II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 00-20%	Regular 21 - 40%	Buena 41 -60%	Muy Buena 61-80%	Excelente 81 -100%
CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje claro.					92%
OBJETIVIDAD	No presenta sesgo ni induce respuestas.					90%
ACTUALIDAD	Está de acuerdo a los avances la teoría Valor Diagnostico / Genexpert MTB / RIF					91%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica y coherente de los ítems.					90%
SUFICIENCIA	Comprende Aspectos en calidad y cantidad.					91%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para establecer Valor diagnostico / Genexpert MTB / RIF					92%
CONSISTENCIA	Basado en aspectos teóricos y científicos.					92%
COHERENCIA	Entre los índices e indicadores.					91%
METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito de la investigación descriptiva.					90%

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable
 IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90%

Lugar y Fecha: Lima 18/03/2019 2019

Firma del Experto
 DNI N° 41096746
 Teléfono: 958515533



 Dr. CARLOS ALFREDO VEGAS PEREZ
 DIRECTOR DE LA ESCUELA DE POSGRADO