

**UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO
FACULTAD DE POSGRADOS Y EDUCACIÓN CONTINUA
DIPLOMADO EN INVESTIGACIÓN CON ÉNFASIS EN
TUBERCULOSIS**



INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

**DESEMPEÑO DEL GENE XPERT MTB/RIF EN EL
DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS EXTRAPULMONAR,
LABORATORIO DE VIGILANCIA EN SALUD PÚBLICA**

INTEGRANTES

*Carlos José Guerra Castro
Carmen Lorena Ascencio Novoa
Johanna Vanessa Acuña Durán
Levi Emanuel Valle Salazar
Reina Esmeralda Villatoro Ventura*

ASESOR

Dra. Gloria Patricia Argueta de Cativo

ANTIGUO CUSCATLÁN, NOVIEMBRE DE 2019

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	4
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
3.	JUSTIFICACIÓN	8
4.	OBJETIVOS	9
4.1.	GENERAL	9
4.2.	ESPECÍFICOS	9
5.	MARCO TEÓRICO	10
5.1.	TUBERCULOSIS	10
5.1.1.	DEFINICIÓN DE LA ENFERMEDAD	10
5.1.2.	AGENTE ETIOLÓGICO	10
5.1.3.	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	11
5.1.4.	CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS	11
5.1.5.	CARACTERÍSTICAS DEL GENOMA	11
5.1.6.	TRANSMISIÓN	12
5.1.7.	PATOGENIA	12
5.1.8.	CUADRO CLÍNICO DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR	13
5.1.9.	TUBERCULOSIS EXTRAPULMONAR	14
5.2.	MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	16
5.2.1.	CULTIVO	16
5.2.2.	GENE XPERT MTB/RIF	16
5.3.	VALIDEZ Y SEGURIDAD DIAGNÓSTICAS DE LAS PRUEBAS	19
5.3.1.	VALIDEZ: SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD	19
5.3.2.	SEGURIDAD DIAGNÓSTICA	19
6.	DISEÑO METODOLÓGICO	21
6.1.	TIPO DE ESTUDIO	21
6.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA	21
6.3.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	21
6.4.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	22
6.5.	INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	23
6.6.	PLAN DE ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN DEL ESTUDIO	23
6.7.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	26
7.	RESULTADOS	28
7.1.	CARACTERIZACIÓN DE MUESTRAS	28

7.2.	DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO OBSERVADO	30
8.	DISCUSIÓN	32
9.	CONCLUSIONES	37
10.	RECOMENDACIONES	38
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
12.	ANEXOS	43

1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) sigue siendo una causa principal de mortalidad global y morbilidad ⁽¹⁾ Según OMS en su Reporte Mundial de Tuberculosis de 2018, esta enfermedad infecciosa es clasificada como segunda causa de muerte ⁽²⁾.

La OMS notificó 282.000 casos nuevos y recaídas de TB para la región de las Américas para el 2017, un 3% de la carga mundial de TB (10 millones de casos) y una tasa de incidencia de 28 por 100.000 habitantes. En las Américas, la tasa de incidencia más alta se observó en el Caribe (61,2 por 100.000 habitantes), seguido de América del Sur (46,2), América Central y México (25,9) y Norte América (3,3). La Organización Panamericana de la Salud, reportó para El Salvador una tasa de 46.1 por cada 100,000 habitantes en el periodo 2016-2017⁽²⁾

Las muertes atribuidas a tuberculosis comprenden los fallos en el sistema de salud de cualquier país, debido a que, los medicamentos contra la tuberculosis disponibles ampliamente, poseen tasas de curación de hasta un 90%, para mejorar esta condición en el sistema de salud, como primer desafío en el diagnóstico de la TB, es contar con las metodologías que permitan la confirmación de la enfermedad de forma oportuna y precisa para iniciar el tratamiento de forma temprana.⁽³⁾

Para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, durante mucho tiempo, ha sido utilizada la microscopía de frotis y las técnicas de cultivo convencionales, este último como prueba confirmatoria, sin embargo la microscopia carece de características para el rendimiento diagnóstico y dificultades para lograr resultados de calidad en cuanto a los factores de preparación, tinción y experticia analítica ⁽⁴⁾, mientras tanto, las técnicas la técnica de cultivo sólido, cuenta con la limitación del tiempo de respuesta dura varias semanas, también se han desarrollado cultivos en medio líquido para la detección temprana de Tuberculosis, alcanzando un tiempo de respuesta aproximadamente de 21 días, ⁽⁵⁾ lo que aun, sigue resultando un tiempo demorado para obtener un diagnóstico confirmatorio de tuberculosis y contribuye al aumento en la morbilidad y la mortalidad, además predisponen a la resistencia secundaria y pueden promover la transmisión de cepas resistentes.

La prueba de laboratorio Gene Xpert para Mycobacterium tuberculosis (MTB) y Resistencia a la rifampicina (RIF), basado en el principio de Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo Reales (PCR en tiempo Real), permite la obtención de resultados rápidos contribuyendo a la oportunidad en el diagnóstico de la tuberculosis, el cual sigue siendo un problema de salud pública ⁽⁶⁾.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis (Tb) es una enfermedad infectocontagiosa que es producida por la bacteria que recibe el nombre de *Mycobacterium tuberculosis*. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el año 2017 enfermaron de tuberculosis aproximadamente más de 10 millones de personas, con una mortalidad de 1,6 millones. La manifestación clínica más frecuente es la tuberculosis pulmonar, observándose en más del 69% de los casos, y en menor proporción pero no menos importante se manifiesta la forma extrapulmonar, esta afecta otros órganos fuera de los pulmones, de todos los casos de esta enfermedad se estima que 20% son de tuberculosis extrapulmonar, al disminuir la incidencia de la localización pulmonar aumenta la proporción de la manifestación extrapulmonar (2).

El diagnóstico de Tb extrapulmonar presenta un desafío especial, considerando que la cantidad reducida de poblaciones bacilares alojadas en órganos relativamente inaccesibles hace más difícil la confirmación bacteriológica (7). En el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública (LVSP) de El Salvador, desde del período comprendido de enero a diciembre del año 2018 se reportaron 20 casos de Tb extrapulmonar por la metodología de cultivo.

El sistema de salud público de El Salvador cuenta con la metodología de biología molecular conocida como Gene Xpert MTB/RIF como herramienta para un diagnóstico más rápido de Tb, la OMS en el año 2010 recomendó su uso para el diagnóstico de Tb pulmonar y para el año 2013 recomendó su uso en el diagnóstico de las formas extrapulmonares (2).

Conocer el desempeño de las herramientas diagnósticas es importante, esto permite garantizar la verdadera utilidad diagnóstica de una determinada metodología ya implementada y como está contribuyendo en la detección temprana de la enfermedad, actualmente en nuestro país a la fecha no se conocen estudios que permitan evaluar y documentar el desempeño de la prueba que permite para la detección del *Mycobacterium tuberculosis* en las diferentes muestras

extrapulmonares y poder garantizar que los resultados son confiables y oportunos por lo cual surge la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es el desempeño de Gene Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis en muestras extrapulmonares procesadas en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública en el año 2018?

3. JUSTIFICACIÓN

Diagnosticar la enfermedad de Tb sigue siendo un reto prioritario en salud pública a nivel mundial, dicha enfermedad es considerada entre las 10 principales causas de muerte en el mundo según estimaciones de la OMS, solo para el año 2017 se calcula que causó aproximadamente 1.6 millones de muertes, en El Salvador la incidencia de Tb para el mismo año fue de 4.6 x 100,000 habitantes (2)

En nuestro país las técnicas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico y seguimiento de *Mycobacterium tuberculosis* son la tinción de Ziehl-Neelsen conocida con Baciloscopia, el cultivo en medios sólidos Löwenstein Jensen y Ogawa Kudoh, y la prueba molecular Gene Xpert MTB/RIF, sin embargo aunque el cultivo sigue siendo el método de referencia éste tiene un tiempo de respuesta largo y la baciloscopia tiene una baja sensibilidad, por lo que OMS en el año 2010 recomendó el uso de Gene Xpert MTB/RIF para realizar diagnóstico rápido.

El Gene Xpert MTB/RIF es una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite tener un diagnóstico bacteriológico rápido y tiene la ventaja que a la vez puede brindar la información sobre la resistencia a la rifampicina. En septiembre de 2010, la OMS convocó a un grupo de expertos para que se hiciera una revisión de la evidencia relacionada con el Gene Xpert MTB/RIF, revisaron todas las publicaciones relacionadas para evidenciar la sensibilidad y especificidad de la prueba en la detección de Tb y resistencia a rifampicina, recomendando la implementación de Gene Xpert MTB/RIF en muestras pulmonares y extrapulmonar, sobre todo en pacientes considerados grupos de riesgo y poder realizar un diagnóstico rápido y oportuno (8).

A pesar de toda la información existente es importante que nuestro país, se cuente con evidencia propia del desempeño diagnóstico de la prueba; esta investigación está orientada a tener los datos de validez y seguridad diagnóstica en muestras extrapulmonares, ya que a la fecha no se cuenta con estudios que informen en relación a la validez y seguridad diagnóstica de la prueba de Gene Xpert MTB/RIF en muestras extrapulmonares.

4. OBJETIVOS

4.1. General

- Determinar el desempeño de Gene Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis para muestras extrapulmonares procesadas en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública en el año 2018.

4.2. Específicos

- Describir las características de edad, sexo, origen de sitio anatómico de la muestra y establecimiento de procedencia de los pacientes a quienes se les tomó las muestras extrapulmonares procesadas por Gene Xpert MTB/RIF y cultivo de Löwenstein Jensen en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública.
- Determinar la validez diagnóstica de la prueba Gene Xpert MTB/RIF en muestras extrapulmonares procesadas en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública.
- Determinar la seguridad diagnóstica de la prueba Gene Xpert MTB/RIF en muestras extrapulmonares procesadas en el LVSP.
- Comparar la validez y seguridad diagnóstica de la prueba de Gene Xpert MTB/RIF con el cultivo de Löwenstein Jensen en el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. TUBERCULOSIS

5.1.1. Definición de la enfermedad

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa producida por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. La tuberculosis pulmonar es la forma más frecuente, observándose en más del 69% de los casos, la manifestación clínica más infectante es la tuberculosis pulmonar ya que se transmite con mucha facilidad de una persona a otra a través de las aspiraciones de gotículas de saliva, las cuáles quedan suspendidas en el aire por varias horas dependiendo del ambiente (9). Esta bacteria ingresa al organismo a través de las vías respiratorias, llegando a los pulmones y de ahí se puede diseminar a otras partes del cuerpo, dando paso a la manifestación conocida como tuberculosis extrapulmonar, entre los órganos que principalmente afecta se pueden mencionar: riñones, ganglios linfáticos, columna vertebral, articulaciones, huesos, cerebro y otros. La tuberculosis es infecciosa porque la bacteria que la causa afecta los órganos en los que se aloja (7).

En el cuerpo humano la tuberculosis se desarrolla en dos etapas, la primera etapa ocurre cuando una persona es infectada; la segunda etapa ocurre cuando la persona infectada desarrolla la enfermedad (10). El desarrollo de la tuberculosis depende de la respuesta del sistema inmunológico, en estados o enfermedades inmunosupresoras, los bacilos tuberculosos durmientes en el organismo de la persona infectada comienzan a multiplicarse y desarrollan la tuberculosis. El periodo de incubación del *Mycobacterium* es de 3 a 5 semanas, con un promedio de 2 a 8 semanas, para que la enfermedad se desarrolle o no, dependiendo de factores como: desnutrición, hacinamiento, personas inmunodeprimidas entre otros (7).

5.1.2. Agente Etiológico

Descubierto en 1882 por Robert Koch. Pertenece al orden Actinomicetales, familia *Mycobacteriaceae* y al género *Mycobacterium*, el cual incluye más de 150 especies que pueden clasificarse en 6 grupos desde el punto de vista bacteriológico siendo uno de estos grupos el Complejo *Mycobacterium tuberculosis*, que incluye las

especies *M. tuberculosis*, *M. bovis* (Incluida la cepa BCG), *M. africanum*, *M. canetti* y *M. microti*, siendo el primero el que se aísla con mayor frecuencia *Mycobacterium tuberculosis* ⁽¹¹⁾.

5.1.3. Características morfológicas

Es un microorganismo de morfología variable, de aspecto bacilar, recto o ligeramente curvo, no forma esporas, flagelos ni cápsula, mide de 0.2 a 0.6 micras de diámetro por 1.0 a 10 micras de longitud; *M. tuberculosis* posee una pared celular compuesta por una membrana citoplasmática, la cual, a su vez, contiene peptidoglicanos unidos a polisacáridos, esterificados con ácidos micólicos (lípidos libres, péptidos y glucolípidos). Esta estructura influye en las características hidrofóbicas, resistencia a la acción de ácidos y álcalis, así como la aparición de la resistencia a la acción bactericida de los anticuerpos fijadores de complemento; siendo la causa de iniciar las reacciones inflamatorias del huésped ⁽¹²⁾.

5.1.4. Características metabólicas

Las micobacterias a través de la oxidación de compuestos simples de carbono como la glucosa y glicerol hacen que esta obtenga su energía. Crecen en medios simples que contienen glucosa, sales de amonio, sulfato de magnesio y fosfato de potasio, presentando colonias no pigmentadas, rugosas de color gamuza de los 14 a 28 días de incubación. Se utilizan comúnmente los medios de Löwenstein-Jensen o Middlebrook en una atmósfera de 5 a 10% de dióxido de carbono. No posee actividad catalasa, ni la capacidad de acumular niacina o de reducir nitratos a nitritos ⁽⁷⁾.

5.1.5. Características del genoma

Presenta un genoma está constituido por 4,411,532 pares de bases (pb) con 3,959 genes que codifican para proteínas, 250 genes se encuentran involucrados en el metabolismo de ácidos grasos. El componente más distintivo en su pared celular es el alto contenido de ácidos micólicos presente también en otras micobacterias, éste

es un ácido graso complejo que confiere a las micobacterias su característica de ácido alcohol resistencia y de manera indirecta está relacionado con el metabolismo lento de la bacteria por lo que se requiere más de siete días para observar la aparición de colonias en los medios de cultivo. En el año 1998 fue publicada la secuenciación del genoma completo de *M. tuberculosis* H37Rv, en el cual se identificaron 3974 genes, siendo actualmente 4011 ⁽¹³⁾.

5.1.6. Transmisión

Se transmite por partículas en suspensión en el aire o pequeñas gotas (microgotas gotículas) que produce una persona infectada al toser, hablar o estornudar. Las microgotas poseen un diámetro de 1 a 5 μm y pueden mantenerse y transportarse por el aire durante horas o incluso días. Los residuos de estas microgotas evaporados, contienen menor número de organismos viables (aproximadamente de 1 a 3 bacilos) y también poseen menor tamaño ⁽¹⁴⁾.

5.1.7. Patogenia

Se pueden describir cinco estadios de la patogenia causada por *M. tuberculosis*:

- Inicio
- Simbiosis
- Necrosis caseosa
- Activación de macrófagos y licuefacción
- Cavitación

Los bacilos que llegan a los alvéolos, son fagocitados y destruidos por los macrófagos. En caso contrario si el microorganismo alcanza los alvéolos, produce una serie de reacciones inmunológicas y tisulares, llamada primoinfección tuberculosa ⁽¹⁵⁾.

La respuesta inmune celular aparece luego de 2 a 10 semanas de la infección, desencadenándose por los antígenos de la membrana y del citoplasma de *M. tuberculosis*, en donde los macrófagos los identifican y presentan a los linfocitos T para la liberación, de linfocinas. En conjunto los linfocitos activadores de macrófagos, las células epitelioides y las células de Langhans rodean a los bacilos, con el fin de eliminarlos, originando la aparición de un granuloma tuberculoso, dejando un núcleo de necrosis caseosa que al eliminarse los microorganismos se reabsorbe dejando una cicatriz fibrosa que se calcifica. Se pueden observar diferentes situaciones, de acuerdo al sistema inmunitario del huésped y estas bacterias: exposición sin infección (no se evidencia respuesta inmunitaria), infección sin enfermedad (respuesta inmunitaria sin evidencia de la enfermedad) y enfermedad activa (existen síntomas y signos clínicos radiográficos y confirmación bacteriológica) (15).

5.1.8. Cuadro clínico de la tuberculosis pulmonar

Al inicio de la enfermedad, los síntomas suelen ser insidiosos e inespecíficos para la misma, lo que puede causar un diagnóstico tardío de la tuberculosis. Las manifestaciones clínicas de la tuberculosis dependen del área del cuerpo donde se presenten los bacilos. Usualmente, estos se replican en los pulmones presentando los siguientes síntomas: tos intensa con duración de 3 semanas o más, dolor torácico y hemoptisis o esputo (flema que sale desde el fondo de los pulmones) (12).

Los síntomas se pueden presentar de diferentes maneras: aguda, subaguda o crónica e inespecífica como pérdida de peso, diaforesis, astenia, anorexia y fiebre o febrícula, de evolución más o menos prolongada, los cuales pueden ser causados por diversas enfermedades y no necesariamente relacionarlos con tuberculosis. La infección se delimita a los pulmones, pero puede diseminarse y llegar a cualquier órgano del cuerpo. El diagnóstico precoz y certero se ve dificultado por la naturaleza crónica de la enfermedad y comienzo insidioso con sintomatología general. El síntoma más característico y frecuente es la tos pulmonar; si bien al inicio es seca

(no hay producción de moco o flema), con el avance de la enfermedad evoluciona a tos productiva con expectoración mucosa, hemoptoica o mucopurulenta (16)

5.1.9. Tuberculosis extrapulmonar

La tuberculosis extrapulmonar se define como la infección producida por *Mycobacterium tuberculosis*, que afecta a tejidos y órganos fuera del parénquima pulmonar. Representan 14% de los casos de enfermedad tuberculosa (2).

Tuberculosis miliar

El término miliar se utiliza para nombrar las formas progresivas y diseminadas de tuberculosis. Se lleva a cabo por diseminación hematógena, que puede ser a causa de una primoinfección o por reactivación de focos latentes. Principalmente afecta a pacientes inmunocomprometidos. Frecuentemente afecta a los siguientes órganos: bazo, hígado, glándulas suprarrenales, médula ósea. Es necesario la toma de muestras en varias localizaciones para estudios de laboratorio, siendo frecuentemente elegida la biopsia del órgano afectado (16).

Tuberculosis ganglionar

Es muy frecuente, usualmente presenta progresión lenta, la ubicación más común es la cervical unilateral y subclavicular. En cuanto a la técnica para obtención de muestra para estudio microbiológico, se prefiere la punción y aspiración con aguja fina (PAAF) de ganglio afectado por ser menos invasiva que la biopsia (17).

Tuberculosis osteoarticular

La infección por MTB puede afectar cualquier hueso, sin embargo, la afectación vertebral es la más frecuente, es de evolución lenta y de sintomatología inespecífica por lo que su diagnóstico se ve habitualmente retrasado. En casos avanzados las lesiones se pueden extender a vértebras vecinas y a tejidos blandos adyacentes, ocasionando abscesos. La infección a partir de huesos largos también puede

extenderse a las articulaciones provocando artritis. Para pruebas diagnósticas es necesaria la biopsia del tejido afectado (18).

Tuberculosis peritoneal

Se produce por diseminación hematógena o extensión de un foco adyacente. El líquido peritoneal o biopsia peritoneal guiada por tomografía axial computarizada o laparoscopia es la muestra para el diagnóstico de laboratorio (19).

Tuberculosis del sistema nervioso central

Es producida por diseminación y la forma más frecuente es meningitis, también puede causar abscesos cerebrales o tuberculomas, periarteritis, desarrollo de infartos isquémicos y aracnoiditis proliferativa. Es una forma severa con alta mortalidad dejando secuelas en el 25% de los pacientes. Para el diagnóstico microbiológico se recurre a el análisis de líquido cefalorraquídeo o biopsias de los tuberculomas (19).

Tuberculosis pericárdica

La obtención de muestra se realiza mediante pericardiocentesis, donde se obtiene un líquido con altos valores de linfocitos y proteínas, también de ser necesario se puede obtener biopsia pericárdica para cultivo y estudio histopatológico (20).

Tuberculosis pleural

La presentación de tuberculosis en el espacio pleural es una forma frecuente, el diagnóstico se realiza mediante el análisis de líquido pleural (21).

5.2. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Según el sitio anatómico en que se sospeche la tuberculosis, existen métodos autorizados para el uso en los laboratorios clínicos, siendo los utilizados por el MINSAL para muestras extrapulmonares: Baciloscopia, cultivos, pruebas moleculares (Gene Xpert MTB/RIF) y Adenosin Deaminasa (ADA) (22).

5.2.1. Cultivo

El cultivo es un método fenotípico que pone de manifiesto bacilos viables presentes en poca cantidad en una muestra de lesión, por lo que permite certificar que sea el bacilo de la tuberculosis y conocer si es sensible o resistente a las drogas antituberculosas (23).

Se utilizan medios de cultivo a base de huevos (Löwenstein Jensen y Ogawa), y medios líquidos como MGIT (Mycobacterial Growth Indicator Tube), el tiempo en el que detecta un cultivo positivo depende de las condiciones del laboratorio, características peculiares de algunas cepas, cantidad de bacilos por muestra y periodo durante el cual se ha administrado tratamiento antituberculoso al paciente (24).

Para la cuantificación del desarrollo en medios sólidos del bacilo se debe cuantificar la muestra utilizando una escala semicuantitativa que es reproducible y que expresa la cantidad de bacilos detectado permitiendo evidenciar variaciones significativas de esa cantidad. Por lo tanto, es indicativa del grado de avance y evaluación de la enfermedad (24).

5.2.2. Gene Xpert MTB/RIF

Este sistema identifica al Complejo *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de origen clínico y las mutaciones que más frecuentemente originan su resistencia a Rifampicina (RR), en pocas horas (6).

Integra y automatiza el procesamiento de la muestra incluyendo la extracción de ADN (purificación y concentración del material genómico de las células capturadas y sonicadas), la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de secuencias blanco. Los reactivos (primers o cebadores, sondas, enzimas, sales, buffers, tensioactivos) son provistos liofilizados dentro los compartimentos de un cartucho cerrado. El cartucho debe ser desechado luego de utilizado, sin ser abierto en ninguna instancia del proceso, lo que minimiza la probabilidad de contaminación cruzada. La muestra es inicialmente tratada con una solución descontaminante compuesta por hidróxido de sodio e isopropanol, lo que minimiza el riesgo biológico. A la vez, inutiliza la muestra para cultivo (24).

El cartucho de Gene Xpert MTB/RIF contiene cebadores que amplifican una región del gen *rpoβ* que contiene 81 pares de bases donde se producen las mutaciones más frecuentes que originan RR y una región específica del complejo *M. tuberculosis*, cada sonda reproduce una fracción de la secuencia blanco investigada tal como está en el bacilo que no ha mutado, es decir que es sensible a Rifampicina. Luego, se emplean 5 sondas marcadas con fluorocromo de distinto color. Cuando hibridan, las sondas emiten la señal fluorescente que es captada mediante un sensor y cuantificada mediante un software. El software representa en una curva la cuantificación de la señal en tiempo real. Para cada sonda está estandarizado el número de ciclos de amplificación por sobre el cual la reacción es clasificada como positiva (Ct por las siglas de su nombre en inglés cycle threshold). Si las 5 sondas hibridan dentro de ese tiempo (es decir sin retraso) se identifica la presencia del complejo *M. tuberculosis* sensible a Rifampicina (wildtype). Si alguna(s) de la(s) sondas no hibrida o lo hace con retraso en relación con ese tiempo límite, se identifica una mutación en la región genética investigada y por lo tanto se infiere la presencia de *M. tuberculosis* RR. Si la reacción es totalmente negativa, se interpreta que no se ha detectado la presencia del complejo *M. tuberculosis* (25).

El sistema emplea un control del procesamiento de la muestra y de la presencia de inhibidores (SPC por las siglas de su nombre en inglés sample processing control);

para esto verifica la amplificación de ADN de esporas no infecciosas de un germen ambiental, *Bacillus globigii*, contenidas en los cartuchos, un control de sondas que mide, antes de que se inicie la PCR, la señal de fluorescencia para verificar la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR , la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes fluorescentes (PCC por las siglas de su nombre en inglés probe check control) (25).

Sensibilidad y especificidad

La elevada especificidad de las sondas por sus dianas permite que Xpert MTB/RIF detecte con una alta certeza la presencia de complejo MTB y la resistencia a RIF en una muestra clínica. Los valores de sensibilidad dependen de la muestra utilizada y de la cantidad de bacilos presentes. Respecto a la sensibilidad analítica, se ha informado que el límite de detección del cartucho Xpert MTB/RIF corresponde a 5 copias de genoma de *M. tuberculosis*, y a 131 UFC/mL en muestras de expectoración (6).

Según un estudio realizado en Chile se obtuvo una concordancia entre Xpert MTB/RIF y el estándar de oro (cultivo) de 100% para las muestras positivas y de 96% para las muestras negativas. La tasa de concordancia global (Λ) fue de 98%. El índice kappa (κ) fue de 0.96 lo cual corresponde a una concordancia casi perfecta entre Xpert® MTB/RIF y el estándar de oro combinado, de acuerdo a los criterios de Landis y Koch (26).

5.3. VALIDEZ Y SEGURIDAD DIAGNÓSTICAS DE LAS PRUEBAS

5.3.1. Validez: sensibilidad y especificidad

La validez consiste en la capacidad de diferenciar correctamente las personas sanas de las enfermas, y no llevar a resultados falsos positivos o negativos. Considerando la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de las pruebas diagnósticas ⁽²⁴⁾.

Sensibilidad

Considérese como la capacidad de una prueba para clasificar de forma correcta al enfermo como enfermo, o como la probabilidad de tener un resultado positivo si se tiene la enfermedad. Y se considerada de alta sensibilidad debido a que presenta pocos falsos negativos, y al contrario, una baja sensibilidad tiene poca capacidad para detectar al enfermo como enfermo, por lo tanto tendrá un alto porcentaje de resultados falsos negativos que se refiere a que el paciente tiene la enfermedad y la prueba es negativa ⁽²⁵⁾.

Especificidad

Es cuando una prueba clasifica adecuadamente a los negativos como negativos. Es muy importante clasificar correctamente al paciente sano como sano. Una especificidad alta es muy útil cuando el resultado es positivo, pues la tasa de falsos positivos es muy baja, un resultado falso positivo es cuando el paciente no tiene la enfermedad y la prueba es positiva. Esto es muy relevante clínicamente donde el médico debe considerar el resultado del examen, tomando en cuenta que las pruebas no siempre son perfectas ⁽²⁵⁾.

5.3.2. Seguridad diagnóstica

Al obtenerse resultado positivo o negativo en la prueba se preguntará ¿Cuál es la probabilidad de que el paciente esté enfermo?, al obtener un resultado positivo; o

¿Cuál es la probabilidad de que el paciente esté sano?, obteniendo un resultado negativo. Para responder estas preguntas se realiza, mediante valores predictivos positivos o negativos, en estos valores predictivos se basa la seguridad diagnóstica de una prueba (24).

Valor predictivo positivo (VPP)

Es la probabilidad de presentar la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en la prueba y está relacionado directamente con la sensibilidad de un método diagnóstico (25).

Valor predictivo negativo (VPN)

Es la probabilidad de que un paciente con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano y se encuentra relacionado con la especificidad de un método diagnóstico (25).

6. DISEÑO METODOLÓGICO

6.1. Tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional, analítico, retrospectivo

6.2. Población y muestra

Población: Se analizaron los datos de los resultados de muestras extrapulmonares procesadas en la sección de tuberculosis del LVSP en el periodo comprendido de enero a diciembre del año 2018, obtenidas de pacientes del sexo masculino y femenino de diferentes edades, que fueron remitidas por diferentes establecimientos de salud.

Muestra: La unidad de análisis se constituyó de un total de 175 muestras extrapulmonares, que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión aplicados a la población; por lo tanto no se aplicó ningún tipo de cálculo de muestreo.

6.3. Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión:

- Muestras extrapulmonares recibidas en el periodo en estudio.
- Muestras con resultados completos según las variables de la investigación.
- Solo se seleccionaron muestras con resultados de procesamiento por las dos metodologías (Cultivo y Gene Xpert).

Exclusión:

- No se tomaron en cuenta aquellos resultados no concluyentes (Cultivo contaminado, Xpert invalidado, error ni repetidos).
- Se excluyeron resultados del mismo paciente provenientes del mismo sitio anatómico.

6.4. Operacionalización de variables

Nombre de la variable	Definición conceptual	Definición operacional	
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Número de años.	
Sexo	Característica natural o biológica del ser humano.	<ul style="list-style-type: none"> • Masculino • Femenino. 	
Tipo de muestra	Cualquier material de origen humano recogido con el propósito de obtener resultados que colaboren en el diagnóstico clínico.	Tipo de material y sitio anatómico de donde se obtuvo la muestra registrada en la base de datos.	
Resultado de cultivo	Demostración o ausencia de colonias con características del complejo de Mycobacterium tuberculosis	Positivo	Número de colonias exacto: Entre 1 y 19 colonias en el total de los medios sembrados
			+: De 20 a 100 colonias
			++: Más de 100 colonias (colonias separadas)
			+++: Colonias incontables (Colonias confluentes)
Negativo	Sin desarrollo luego de la inspección de la octava semana de incubación a 37 ° C		
Resultado de Gene Xpert MTB/RIF	Detección o no de material genético del complejo Mycobacterium tuberculosis y resistencia a Rifampicina	Positivo	MTB detectado resistente a Rifampicina: ADN bacteriano detectado sensible a Rifampicina
			MTB detectado sensible a Rifampicina: ADN bacteriano detectado resistente a Rifampicina.
		Negativo	ADN bacteriano no detectado

6.5. Instrumentos de recolección de datos

Se revisaron las bases de datos electrónicas, tanto de cultivo como de Gene Xpert MTB/RIF de muestras procesadas en el LVSP en el año 2018, las muestras que cumplieron los criterios de inclusión fueron ordenadas en una hoja de cálculo del software de Microsoft Excel versión 2013 (anexo 1), para tener una base consolidada y realizar el análisis de datos.

6.6. Plan de análisis de la información del estudio

Con ayuda de EPIDATA 4.2 se hizo un análisis descriptivo en el que se determinó el porcentaje de muestras por grupos edad, sexo, tipo de muestra y establecimiento de procedencia.

Para la determinar la validez diagnóstica se calculó los valores de sensibilidad y especificidad basados en los siguientes conceptos y fórmulas:

Sensibilidad: se definió como la capacidad que tiene un método o prueba para detectar o clasificar los verdaderos enfermos, es decir la probabilidad de obtener un resultado positivo cuando el paciente tiene la enfermedad en estudio (27).

Especificidad: se definió como la capacidad que tiene un método o prueba para detectar o clasificar los pacientes sanos, es decir la probabilidad de obtener un resultado negativo cuando el paciente no tiene la enfermedad en estudio (27).

La determinación de la seguridad diagnóstica se realizará calculando los valores predictivos positivos y valores predictivos negativos con las siguientes fórmulas:

Valor predictivo positivo (VPP): se definió como la probabilidad de que se presente la enfermedad si se obtiene un resultado positivo (27).

Valor predictivo negativo (VPN): se define como la probabilidad de no presentar la enfermedad cuando se tiene un resultado negativo (27).

Razones de probabilidad positiva y negativa (cociente de probabilidad): miden cuánto más probable es un resultado concreto (positivo o negativo) según la presencia o ausencia de la enfermedad independientemente de la prevalencia de la misma (28).

En la tabla 1 se muestra la relación entre el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia o ausencia de una enfermedad, esta tabla permite identificar los valores a sustituir en las fórmulas para determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, razones de probabilidad e índice de kappa (29).

Tabla 1. Relación entre el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia o ausencia de una enfermedad.

		PRUEBA DE REFERENCIA		
		Positivos	Negativos	
PR UE BA DIA GN ÓS TIC A.	Positivos	Verdaderos positivos (a)	Falsos positivos (b)	(a+b)
	Negativos	Falsos negativos (c)	Verdaderos negativos (d)	(c+d)
		(a+c)	(b+d)	Total (a+b+c+d)

Fuente: Pita Fernandez, Petergas Díaz: Investigación: pruebas diagnósticas. (28)

a: Verdaderos positivos (VP): enfermos con la prueba positiva

b: Falsos positivos (FP): no enfermos con la prueba positiva

c: Falsos negativos (FN): enfermos con la prueba negativa

d: Verdaderos negativos (VN): no enfermos con la prueba negativa

a + c: Casos con patrón de referencia positivo (enfermos)

b + d: Casos con patrón de referencia negativo (no enfermos)

a + b: Casos con la prueba diagnóstica positiva

c + d: Casos con la prueba diagnóstica negativa

Fórmulas

$$\text{Sensibilidad (Se)} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}} \times 100$$

$$\text{Especificidad (Es)} = \frac{\text{Verdaderos negativo}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{falsos positivos}} \times 100$$

$$\text{Valor predictivo positivo (VPP)} = \frac{\text{Verdaderos Positivos}}{\text{Verdaderos Positivos} + \text{falsos positivos}} \times 100$$

$$\text{Valor predictivo negativo (VPP)} = \frac{\text{Verdaderos Negativos}}{\text{Verdaderos Negativos} + \text{falsos negativos}} \times 100$$

$$\text{Cociente de probabilidad (CP) positivo} = \frac{\text{Sensibilidad}}{(1 - \text{Especificidad})}$$

$$\text{Cociente de probabilidad (CP) positivo} = \frac{(1 - \text{Sensibilidad})}{\text{Especificidad}}$$

Para la determinar la concordancia entre los métodos se utilizó el índice de Kappa, que es un instrumento diseñado para ajustar el efecto del azar en la proporción de la concordancia observada (30).

Fórmula:

$$\frac{P_0 - P_e}{1 - P_e}$$

Donde P_0 es la proporción de concordancia observada, P_e es la proporción de concordancia esperada por azar y $1 - P_e$, representa el acuerdo o concordancia máxima posible no debida al azar (31)

Los valores obtenidos de kappa se interpretaron con la siguiente escala tabla 2.

Tabla 2. Valoración del índice de Kappa	
Índice Kappa	Fuerza de la concordancia
< 0,2	Insignificante
0.21 - 0.4	Débil
0.41 - 0.6	Moderada
0.61 - 0.8	Buena
0.81 – 1.0	Muy buena

Fuente: Cerda L J, Villarroel Del P L. Evaluation of the interobserver concordance in pediatric (29)

6.7. Consideraciones éticas

Se contó con el debido permiso del jefe del Departamento de Laboratorio Nacional de Salud Pública y la subdirectora del Instituto Nacional de Salud, para hacer uso de la base de datos de resultados de la sección de Tuberculosis del Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública (anexo 2).

Se consideró como un estudio sin riesgo, puesto que no fue necesario realizar ninguna intervención en los individuos participantes, la investigación estuvo orientada hacer una revisión detallada de los resultados obtenidos en el procesamiento de muestras en el LVSP.

El estudio cumple con los principios éticos descritos en informe de Belmont; beneficencia, los resultados pretenden ayudar a tener evidencia en el diagnóstico de Tb extrapulmonar realizado por el método de Gene Xpert MTB/RIF; No-maleficencia ya que no se causó ningún daño físico y/o moral a los participantes y personas en general por haberse realizado una revisión documental; autonomía, no se requirió obtener el consentimiento informado de los participantes ya que la muestras fueron indicadas en el proceso de vigilancia de la enfermedad de Tb que realiza el MINSAL a través de la indicación de las pruebas por parte de un médico

de la institución, dichos datos fueron registrados en bases de datos; Justicia, todos los datos de las muestras fueron tratados de igual manera siempre y cuando cumplieran con los criterios de inclusión; confidencialidad, se aseguró la privacidad y anonimato de los participantes ya que no se compartió o reveló ninguna información de identificación personal, de acuerdo con las buenas prácticas de ética de investigación en salud manteniendo el secreto profesional y las legislaciones vigentes sobre el manejo de información con fines de investigación. Todos los datos y formas recogidas permanecen en la sede del LVSP después de la finalización del estudio. El acceso a los registros del estudio se limitó al equipo investigador, se asignó un código de identificación numérico para no utilizar el nombre de los sujetos en estudio, el presente estudio no tuvo ningún propósito comercial más bien buscó generar evidencia informativa en el uso de la prueba de Gene Xpert MTB/RIF. El protocolo se sometió a revisión y aprobación por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud, (Anexo 3).

7. RESULTADOS

7.1. Caracterización de muestras

Se incluyó en el estudio 175 muestras que fueron procesadas por las metodologías de: cultivo de Löwenstein Jensen (como método de referencia) y Gene Xpert (prueba en estudio). Se caracterizó la población en estudio obteniéndose que 63% (110) pertenecen a pacientes del sexo masculino y 37% (65) al femenino, el promedio de edad de ambos sexos fue 36.87 (\pm 22.85), (edad mínima: un año, edad máxima: 89 años), en relación al establecimiento de procedencia de la muestras se incluyeron un total de 15 establecimientos, de los cuales el Hospital Nacional San Rafael, Hospital Nacional Benjamín Bloom y Hospital Nacional Zacamil tuvieron una mayor cantidad de muestras referidas con una frecuencia del 37.71% (66), 16.57% (29) y 13.71% (24) respectivamente constituyendo más del 68% de muestras extrapulmonares incluidas. En la tabla 3 se muestran las principales características en relación al sexo, edad de los pacientes a los que pertenecen las muestras, establecimiento de procedencia.

Tabla 3. Caracterización de muestras extrapulmonares procesadas por Gene Xpert y cultivo en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública en el año 2018.				
Característica	Total (n=175)			Gráfico
	n	%		
Sexo				
<i>Masculino</i>	110	63%		
<i>Femenino</i>	65	37%		
Edades (años)				
<i>0-14</i>	33	18.86%		
<i>15-24</i>	24	13.71%		
<i>25-34</i>	26	14.86%		
<i>35-44</i>	34	19.43%		
<i>45-55</i>	18	10.29%		
<i>56 y más</i>	40	22.86%		
Establecimiento				
<i>HN. San Rafael</i>	66	37.71%		
<i>HN. Benjamín Bloom</i>	29	16.57%		
<i>HN. Zacamil</i>	24	13.71%		
<i>HN. Sonsonate</i>	18	10.29%		
<i>Hospital Militar</i>	13	7.43%		
<i>HN. San Bartolo</i>	5	2.86%		

HN. Psiquiátrico	4	2.29%	■
HN. San Vicente	4	2.29%	■
HN. Zacatecoluca	3	1.71%	■
HN. Ahuachapán	2	1.14%	■
HN. Chalatenango	2	1.14%	■
HN. De la mujer	2	1.14%	■
CP Quezaltepeque	1	0.57%	■
HN. Rosales	1	0.57%	■
ISSS	1	0.57%	■

Fuente: Informe anual de procesamiento de muestras, sección Micobacterias, LVSP, 2018

Las muestras extrapulmonares se distribuyeron en los siguientes porcentajes: LCR con 47.43% (83), líquido pleural 19.43% (34) y muestras ganglionares diversa con 18.29% (32) estos tres tipos de muestra constituyeron 85.14% del total incluido, 14.76% se distribuye en tejidos diversos 6.29% (11), líquido ascítico 4.57% (8), líquido peritoneal 2.86% (5), secreciones diversas 1.14 % (2). Tabla 4.

Tabla 4. Distribución de muestras extrapulmonares procesadas por Gene Xpert y cultivo en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública en el año 2018

Muestra	Nº de muestras	%	Gráfico.
LCR	83	47.43%	■
Líquido Pleural	34	19.43%	■
Muestra ganglionar diversa ¹	32	18.29%	■
Tejidos diversos ²	11	6.29%	■
Líquido Ascítico	8	4.57%	■
Líquido peritoneal	5	2.86%	■
Secreciones diversas ³	2	1.14%	■
Total de muestras	175	100.00%	

Fuente: Informe anual de procesamiento de muestras, sección Micobacterias, LVSP, 2018

¹: Incluye diferentes tipos de muestras ganglionares principalmente cervical e inguinal.

²: Tejidos de diferentes sitios anatómicos.

³: Secreciones de diferentes sitios anatómicos.

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos por ambas metodologías Gene Xpert MTB/RIF y cultivo en diferentes muestras biológicas, observándose que con Gene Xpert MTB/RIF se reportaron 4 falsos positivos y 7 falsos negativos, concordando con el método de referencia en 159 resultados verdaderos negativos y 5 verdaderos positivos.

Tabla 5. Resultados de Gene Xpert versus cultivo por tipo de muestra				
Tipo de muestra	CULTIVO NEGATIVO		CULTIVO POSITIVO	
	Gene Xpert negativo	Gene Xpert positivo	Gene Xpert negativo	Gene Xpert positivo
Biopsias diversas	9	1	0	1
LCR	79	0	3	1
Líquido Ascítico	8	0	0	0
Líquido peritoneal	5	0	0	0
Líquido Pleural	32	1	1	0
Muestra ganglionar diversa	25	2	2	3
Secreciones diversas	1	0	1	0
Total general	159	4	7	5
<i>Fuente: Informe anual de procesamiento de muestras, sección Micobacterias, LVSP, 2018</i>				

7.2. Desempeño diagnóstico observado

Se realizó el cálculo de los indicadores del desempeño diagnóstico (seguridad y validez) de la prueba de Gene Xpert MTB/RIF utilizando como prueba de referencia (gold standard) el cultivo bacteriológico por el método de Löwenstein Jensen.

Como indicadores de la validez diagnóstica de las prueba de Gene Xpert MTB/RIF se calculó la sensibilidad y especificidad, obteniéndose como resultado de sensibilidad 41.67% (IC95%= 16.50%-71.40%) y una especificidad de 97.55% (IC 95%= 93.44-99.21), a partir de los datos obtenidos, la prueba Gene Xpert MTB/RIF aplicada en el laboratorio tiene una baja capacidad para detectar los verdaderos positivos y alta capacidad de detección de verdaderos negativos (6).

Calculando los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN), se obtuvo el 55.56% de VPP y 95.78% de VPN, ante esto, en la prueba Xpert, por cada resultado positivo, un paciente tuvo el 55.56% de probabilidad de estar enfermo y por cada resultado negativo tuvo el 95.78% de probabilidad que no tuviera la enfermedad; puesto que estos valores están influenciados por la prevalencia de la enfermedad, se realizaron cálculos de las razones de probabilidad positiva y negativa, este valor no se ven influenciados por prevalencia de la enfermedad, se obtuvo un valor de Cociente de probabilidad positiva de 16.98, lo que significa que es 16.98 más probable de que un paciente con TB extrapulmonar obtenga un resultado positivo en la prueba de Gene Xpert que un paciente sin la enfermedad tenga el mismo resultado y un valor de cociente de probabilidad negativa de 0.60, significa que es 0.60 más probable de que un paciente con TB extrapulmonar obtenga un resultado negativo en la prueba de Gene Xpert MTB/RIF que un paciente sin la enfermedad tenga el mismo resultado. En la tabla 6 se muestra en resumen los resultados obtenidos.

Tabla 6. Indicadores del desempeño de Gene Xpert MTB/RIF contra el cultivo de Löwenstein Jensen en muestras extrapulmonares procesadas en la sección de Micobacterias LVSP 2018.		
Indicadores de desempeño	Resultado	IC 95 %
Validez diagnóstica		
Sensibilidad	41.67%	(16.50%--71.40%)
Especificidad	97.55%	(93.44%--99.21%)
Seguridad diagnóstica		
Valor predictivo positivo	55.56%	(22.65%--84.66%)
Valor predictivo negativo	95.78%	(91.16%--98.14%)
Razones de probabilidad		
Cociente de probabilidades positivo	16.98	(5.23-55.08)
Cociente de probabilidades negativo	0.60	(0.37--0.97)
Fuente: Informe anual de procesamiento de muestras, sección Micobacterias, LVSP, 2018		

Para determinar la concordancia entre los métodos de Gene Xpert MTB/RIF y cultivo de Löwenstein Jensen se calculó el índice de Kappa utilizando el software EPIDATA 4.2, el resultado obtenido fue de un índice de Kappa igual a 0,4435 (IC_{95%}=0.1696-0.7174) (tabla 7), el cálculo del índice de Kappa nos indica hasta qué punto las dos pruebas coincidieron en su medición, para este estudio el valor obtenido nos dice que Gene Xpert MTB/RIF tiene un grado de acuerdo Moderado en relación al método de cultivo por Löwenstein Jensen.

Tabla 7. Resultados del índice kappa		
Métodos diagnósticos	Índice kappa	(IC95%)
Gene Xpert® MTB/RIF Vs. Cultivo por Löwenstein Jensen	0,4435	(0,1696-0,7174)
<i>Fuente:</i> Informe anual de procesamiento de muestras, sección Micobacterias, LVSP, 2018		

8. DISCUSIÓN

El diagnóstico de la tuberculosis sigue siendo una prioridad en salud pública (2), por ello se debe sumar todos los esfuerzos necesarios para lograr su control aunque existan los métodos convencionales como la baciloscopia y el cultivo. La OMS recomienda incluir en los algoritmos diagnósticos de la TB la detección de ácidos nucleicos del MTB a través de pruebas moleculares (23)

Los resultados obtenidos para determinar el desempeño diagnóstico de la prueba de Gene Xpert MTB/RIF en muestras extrapulmonares procesadas en el año 2018 por El Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública de El Salvador, se incluyeron un total de 175 muestras consideradas no respiratorias, de éstas 63 % (110) lo constituyeron muestras de pacientes masculinos y 37% (65) femeninos, los grupos de edad de estas muestras fue muy variado considerándose como la edad mínima 0 años y máxima 89 años, la distribución observada en las edades fue de 18.86% (33) en paciente que oscilan entre los 0 y 14 años de edad; 13,71% (24) de pacientes entre los 15 y 24; 14.86% (26) entre los 25 y 34 años; 19.43% (34) entre los 35 y 44 años; 10.23% (18) entre 45 y 55 años; y los paciente arriba de 56 años

22.73% (40), estos datos obtenidos muestran que según base de datos, la población más afectada con diagnóstico de TB extrapulmonar fueron pacientes mayores de 65 años y de sexo masculino, este estudio defiere con la caracterización realizada por Yu pang y colaboradores en un estudio realizado en China (32), donde el mayor número de muestras obtenidas fue de pacientes menores de 25 años y según sexo fue femenino, en Brasil en el 2011 un estudio de evaluación de prueba diagnóstica, se obtuvo que la población más afectada fue en población entre los 25 a 34 años y de sexo masculino (33).

La población estudiada no muestra una homogeneidad, sin embargo la edad y el sexo de los pacientes de donde se obtuvo la muestra no afecta el desempeño diagnóstico de la prueba en estudio, lo que es compatible con los hallazgos descritos en otro estudio; en Medellín, Colombia en lo que se incluyeron muestras extrapulmonares provenientes de diferentes sexos y edades *Peñate y colaboradores* (34), obtuvieron que del total de muestras, 182 (60%) provenían del sexo masculino y el promedio de edad en ambos sexos fue de 42 años ($\pm 19,35$) y en un 50% de los pacientes fue de hasta 41.5 años, de las muestras extrapulmonares que se procesaron por los dos métodos se obtuvo que 47.43% fueron muestras de LCR, 19.43% de líquido pleural y 18.29% muestras ganglionares, 6.29% de muestras de tejidos diversos, y en menor proporción se incluyeron 4.57% de muestras de líquido ascítico, líquido peritoneal 2.86% y 1,14% de secreciones diversas, al igual que en el estudio realizado por en Medellín por *Peñata y colaboradores* (34), se evidencia que las muestras de pacientes con sospecha de TB extra pulmonar es LCR, siendo los sitios estériles los más estudiados en ambos estudios (El Salvador y Colombia), esto debido a la alta comorbilidad que puede presentarse en los pacientes con sospecha de TB extrapulmonar según el estudio realizado por *Zolanki y colaboradores* en 2019 (35), mientras que Brasil la muestra que más se evalúa es el líquido pleural (33) ya que, es más común la afectación del parénquima pulmonar, mientras que El Salvador el

sitio más afectado extrapulmonar son las meninges y se debe de considerar que en este sitio la comorbilidad del sitio de afectación.

En estas muestras procesadas se encontraron 2.29% de falsos positivos distribuidas en 0.57% corresponden a biopsias diversas 0.57% de líquido pleural y 1.14% de muestras ganglionar, dada la baja prevalencia de positividad observada que de 100% de muestras 6.86% fueron positivas con respecto al método de referencia, esta cantidad de falsos positivos observados afectaron al cálculo de la especificidad y valor predictivo positivo, las muestras provenientes de sitios no estériles tienen mayor probabilidad de obtener resultados de falsos positivos debido a la complejidad de la toma de muestras para obtener una muestra confiable (34).

Se encontraron 7 valores falsos negativos reportados por Gene Xpert, estos representaron 4% del 6.86% de resultados de positivos por el método de cultivo, las muestras en las que se observaron estos valores fueron LCR con 1.71%, muestra ganglionar 1.14%; 0.57% secreciones diversas y 0.57% de líquidos pleural.

Los resultados de sensibilidad obtenida fue de 41.67% (IC_{95%}=16.50-71.40) y una especificidad de 97.55% (IC_{95%}=93.44%-99.21%), en un estudio realizado en México en el 2013 (36), se obtuvo una sensibilidad y especificidad casi similar, esta sensibilidad se considera baja, no así la especificidad que se mantiene en los rangos documentados en otros estudios realizados en *Medellín, Colombia* donde se evaluaron muestras extrapulmonares provenientes de diferente sexos y edades (34), obtuvieron una sensibilidad de 93,5 % (IC_{95%} 83,2-100) y una especificidad del 97 % especificidad (IC_{95%} 95,1-99), (34) . Otro estudio realizado en Sudáfrica considerado como un país con alta prevalencia de tuberculosis, se encontraron valores de sensibilidad del 59 (IC_{95%} 53-65) y una especificidad de 92 (IC_{95%}=90–94) (37). Comparando estos valores con los obtenidos en este estudio observamos una sensibilidad baja, hay que considerar que el porcentaje (6.86%) de muestras positivas fue muy baja encontrándose registrados en la base de datos solo 12 cultivos positivos y de estos con Gene Xpert MTB/RIF se obtuvieron 7 resultados

negativos, esta discordancia se considera alta en relación a la positividad del método de referencia ya que, esto representa 58% de resultados discordantes, es importante mencionar que 5 de los 12 cultivos positivos fueron positivos con un recuento de 1 a 19 colonias. esto podría estar asociado a la carga bacilar en las muestras, lo que afecta la sensibilidad de la prueba (38), de acuerdo a esto, los estudios realizados por *Gustavo y colaboradores en el 2011* y el nuestro, la baja sensibilidad, significa en el caso de *Gustavo y colaboradores* (36), por un paciente con la enfermedad se tiene 73% de posibilidad de que la prueba Gene Xpert será positiva y en el caso de nuestro estudio, por cada paciente enfermo habrá una posibilidad del 41.6% que la prueba dará un resultado positivo. En el caso de la especificidad del 95 al 100% en ambos estudios, por cada paciente no enfermo tendrá del 95 al 100% de posibilidad de tener un resultado negativo.

Los valores predictivos encontrados fueron de 55.56% (IC95%=22.65-84.66) para el valor predictivo positivo, es decir, por cada prueba positiva solo tendría el 55,56% de probabilidad de estar enfermo; y de 95,78% (IC95%=91,16-98,14) para el valor predictivo negativo, lo que significa que por cada prueba negativa el 95,78% de probabilidad de no estar enfermo. Teniendo en cuenta que la sensibilidad, especificidad y valores predictivos, son afectados directamente por la prevalencia de la enfermedad ya que son propiedades inherentes de las pruebas, esto las hace perder utilidad en la toma de decisión clínica, a diferencia de los valores predictivos que si están asociados a la prevalencia de la enfermedad pero estos sí permiten tomar decisiones clínicas a partir de sus resultados, pero el verdadero valor clínico de una prueba diagnóstica radica en las razones de probabilidad, que expresan cuanto más es probable según la presencia o ausencia de la enfermedad (27).

El cociente de probabilidad positivo obtenido, fue de 16.98 (IC 95%= 5.23-55.08), y la probabilidad negativo fue de 0.60 (IC 95%=0.37-0.97), el cociente de probabilidad positivo indica que fue más posible 16.98 veces que el Gene Xpert sea positivo en presencia de la tuberculosis que en su ausencia y con la razón de probabilidad negativa indica que la prueba es negativa en 0,60 pacientes con la enfermedad por

cada paciente sin la enfermedad, estos datos no han sido comparados con otros estudios debido a que no se encontró información.

Se estableció la concordancia entre los métodos de Gene Xpert MTB/RIF y Cultivo de Löwenstein Jensen utilizando el índice de kappa el resultado obtenido fue de 0,4435 (IC_{95%}=0.1696-0.7174) que se interpreta como un grado de acuerdo Moderado, comparado con otros estudios que ha registrado una concordancia de 0.95 con grado de acuerdo ⁽²⁶⁾ y comparado con otro estudio realizado por *Ganavalli S. Ajantha y colaboradores* ⁽³⁹⁾ registraron una concordancia entre la prueba Gene Xpert MTB/RIF y el cultivo un índice de kappa=0.59 con un grado de acuerdo Moderado muy similar a lo encontrado en este estudio, sin embargo este valor de Kappa no nos permite inferir en una verdadera concordancia ya que este valor está influenciado cuando la prevalencia del fenómeno observado es baja ⁽⁴⁰⁾.

El tener muy pocos registros validos según criterios de inclusión y periodo de estudio muy corto, fue una de la limitantes más importantes, así como no considerar la prevalencia de la enfermedad para seleccionar el tamaño de la población a estudiar, otra limitante fue, que muchas de las muestras solo tenían un estudio realizado ya fuera el Cultivo o el Gene Xpert esto dependía del establecimiento que refería la muestra si tenía capacidad de realizar uno de los dos análisis en su laboratorio por tanto en el LVSP solo se procesaba por la metodología solicitada lo que determino la poca cantidad de muestras que aplicaban a los criterios de inclusión.

9. CONCLUSIONES

- Los registros obtenidos pertenecen en su mayoría a pacientes con sospecha de Tb extrapulmonar mayores de 56 años, masculinos; las muestras que se analizaron con más frecuencia durante el periodo de estudio fue el LCR y la mayor parte de muestras recibidas en el Laboratorio Nacional de Salud Pública pertenecen al Hospital San Rafael.
- La prueba de Gene Xpert MTB/RIF, tuvo una baja sensibilidad y alta especificidad (validez diagnóstica), sin embargo, esta baja sensibilidad estuvo sujeta a la baja carga bacilar de las muestras positivas estudiadas.
- Un resultado de Gene Xpert MTB/RIF con reporte MTB No detectado, no es un resultado concluyente para el Diagnóstico Negativo de Tuberculosis extrapulmonar, se debe concluir hasta tener el resultado de Cultivo.
- Según este estudio la prueba Gene Xpert MTB/RIF en muestras extrapulmonares tiene una concordancia “Moderada” en relación al cultivo de Löwenstein Jensen, siendo más efectivo realizar el cultivo.

10. RECOMENDACIONES

- A futuros investigadores realizar estudios más robustos, donde se incluya un mayor número de unidades de análisis con mayor positividad para la evaluación de pruebas diagnósticas y tener en cuenta la prevalencia de la enfermedad.
- A los médicos, indicar más estudios de Gene Xpert MTB/RIF y cultivo en pacientes con sospecha de tuberculosis extrapulmonar aplicando los algoritmos diagnósticos definidos por el MINSAL.
- Al LNSP incorporar pruebas moleculares con un nivel de detección bacilar más bajo (como es el caso de Gene Xpert Ultra) y a la vez implementar métodos de concentración para las muestras extrapulmonares que lo requieran.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Menzies NA, Cohen T, Lin H-H, Murray M, Salomon JA. Population Health Impact and Cost-Effectiveness of Tuberculosis Diagnosis with Xpert MTB/RIF: A Dynamic Simulation and Economic Evaluation. PLoS Med. Noviembre de 2012.
Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3502465/>
2. OMS. Informe mundial sobre tuberculosis 2018. Geneva: World Health Organization.; 2018.
Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274453>
3. Gowda NC, Ray A, Soneja M, Khanna A, Sinha S. Evaluation of Xpert® Mycobacterium tuberculosis/rifampin in sputum-smear negative and sputum-scarce patients with pulmonary tuberculosis using bronchoalveolar lavage fluid. Lung India. Agosto de 2018;35(4):295-300.
4. Steingart KR, Ng V, Henry M, Hopewell PC, Ramsay A, Cunningham J, et al. Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. Octubre de 2006;6(10):664-74.
5. Moore DF, Guzman JA, Mikhail LT. Reduction in turnaround time for laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis by routine use of a nucleic acid amplification test. Diagn Microbiol Infect Dis. julio de 2005;52(3):247-54.
6. Herrera T, Arias F, Ruiz N. Manual Operativo Implementación de Gene Xpert MTB/RIF en el Programa de Tuberculosis. Ministerio de Salud Gobierno de Chile; 2017.
7. Caminero JA, Farga V. Tuberculosis. Tercera Edición. Santiago de Chile: Mediterráneo; 2011.
8. WHO Global TB Programme. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational «how-to»: practical considerations. 2014.
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK254323/>
9. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention, Division of Tuberculosis Elimination. Self-Study Modules on Tuberculosis Module 1: Transmission and Pathogenesis of Tuberculosis. 2019.

10. European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union: updated 2018. 2018. Disponible en: http://publications.europa.eu/publication/manifestation_identifier/PUB_TQ0318237ENN
11. Alejandra RRN, Elvia CRB, Armando MP, José AB. Mycobacterium tuberculosis: Su pared celular y la utilidad diagnóstica de las proteínas 16 y 38 kDa. 2002.
12. Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 27 E. Edition: 27. McGraw-Hill Education/Medical; 2015. 864 p.
13. García-González R, Cervantes-García E, Reyes-Torres A. Tuberculosis, un desafío del siglo XXI. :9.
14. Chirico M, Morcillo N, Kuriger A. Transmisión de la Tuberculosis en los Trabajadores de la Salud. Medidas de Bioseguridad. 2006. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd49/bioseguridad.pdf>
15. Lozano JA. Tuberculosis: Patogenia, diagnóstico y tratamiento. 2002. 21:6.
16. Dorronsoro I, Torroba L. Microbiología de la tuberculosis. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. 2007. 30:67-85.
17. Fontanilla J-M, Barnes A, von Reyn CF. Current Diagnosis and Management of Peripheral Tuberculous Lymphadenitis. Clin Infect Dis. Septiembre de 2011.
18. González-Martín J, García-García JM, Anibarro L, Vidal R, Esteban J, Blanquer R, et al. Documento de consenso sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. Enferm Infecc Microbiol Clin. Mayo de 2010.
19. Espinosa Gimeno A, Martínez-Sanz J, Asong Engonga Obono L, Rodríguez Zapata M. Protocolo diagnóstico y terapéutico de las tuberculosis extrapulmonares. Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado. Abril de 2014.
20. Reuter H, Burgess L, van Vuuren W, Doubell A. Diagnosing tuberculous pericarditis. QJM. Diciembre de 2006.
21. Ramírez-Lapausa M, Menéndez-Saldaña A, Noguero-Asensio A. Tuberculosis extrapulmonar, una revisión. Revista Española de Sanidad Penitenciaria. 2015

22. Ministerio de Salud. Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias Norma técnica para la prevención y control de la tuberculosis.; 2018. Disponible en: http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/norma/norma_tecnica_prevenccion_y_control_tb_v1.pdf
23. Ministerio de Salud. Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias. Lineamientos Técnicos Para El Diagnóstico Bacteriológico De La Tuberculosis Por Microscopía Directa. 2016.
24. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Parte 2: Cultivo.; 2008.
25. Organización Panamericana de la Salud. Guía Técnica para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis Parte:3 Pruebas de sensibilidad. Organismo Andino de Salud-Convenio Hipólito Unanue. Programa «Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la región de las Américas»; 2018.
26. García P, Balcells ME, Castillo C, Miranda C, Geoffroy E, Román JC, et al. Evaluación de la técnica Xpert® MTB/RIF para la detección de Mycobacterium tuberculosis complex en muestras extra-pulmonares. Rev chil infectol. Agosto de 2017.
27. Medina MC. Generalidades de las pruebas diagnósticas, y su utilidad en la toma de decisiones médicas. Revista Colombiana de Psiquiatría. Diciembre de 2011.
28. Pita Fernández, Pértegas Díaz, Investigación: pruebas diagnósticas. Fistera Atención primaria en la red. 2003;10.
29. Cerda L J, Villarroel del P L. Evaluation of the interobserver concordance in pediatric research: the Kappa Coefficient. Revista chilena de pediatría. Febrero de 2008.
30. Abaira V. Análisis de la calidad de los estudios de evaluación de pruebas diagnósticas. 2008.
31. Cortés E, Rubio JA. Métodos Estadísticos de Evaluación de la Concordancia y la Reproducibilidad de Pruebas Diagnósticas. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 2010.

32. Pang Y, An J, Shu W, Huo F, Chu N, Gao M, et al. Epidemiology of Extrapulmonary Tuberculosis among Inpatients, China, 2008–2017. *Emerg Infect Dis*. Marzo de 2019;25(3):457-64.
33. Gomes T, Reis-Santos B, Bertolde A, Johnson JL, Riley LW, Maciel EI. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis in Brazil: a hierarchical model. *BMC Infect Dis*. diciembre de 2014;14(1):9.
34. 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. *Biomédica*. 23 de febrero de 2016 Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3088>
35. Solanki AM, Basu S, Biswas A, Roy S, Banta A. Sensitivity and Specificity of Gene Xpert in the Diagnosis of Spinal Tuberculosis: A Prospective Controlled Clinical Study. *Global Spine Journal*. 18 de junio de 2019.
36. Angulo GB, Trejo MS, Rosas AA, Álvarez LL, Cruz FR, Hernández MEM, et al. Evaluación de la prueba Gene Xpert MTB/RIF en el diagnóstico rápido de la tuberculosis y de la resistencia a rifampicina en muestras extrapulmonares. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2014; 61 (3): 140-144.
37. Scott LE, Beylis N, Nicol M, Nkuna G, Molapo S, Berrie L, et al. Diagnostic Accuracy of Xpert MTB/RIF for Extrapulmonary Tuberculosis Specimens: Establishing a Laboratory Testing Algorithm for South Africa. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 de junio de 2014;52(6):1818-23.
38. Vadwai V, Boehme C, Nabeta P, Shetty A, Alland D, Rodrigues C. Xpert MTB/RIF: a New Pillar in Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis *Journal of Clinical Microbiology*. 1 de julio de 2011;49(7):2540-5.
39. Ajantha GS. PCR as a Diagnostic Tool for Extra-Pulmonary Tuberculosis. *JCDR* [Internet]. 2013 [citado 25 de octubre de 2019]; Disponible en: http://www.jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2013&month=June&volume=7&issue=6&page=1012-1015&id=3075
40. López de Ullibarri G., Pita Fernández, S. Medidas de concordancia: El índice de Kappa. *Cad Aten Primaria*. 1999;6:169-71.

12. ANEXOS

Anexo 1.

INVESTIGACIÓN 2019:

**“DESEMPEÑO DE GENE XPERT MTB/RIF EN EL DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS EXTRAPULMONAR LABORATORIO DE VIGILANCIA EN SALUD
PÚBLICA 2018”**

***PROTOCOLO DE REGISTRO DE RESULTADOS DE PRUEBAS CULTIVO EN MEDIO
LÖWENSTEIN-JENSEN Y GENE XPERT MTB/RIF***

Expediente interno	Edad	Sexo	F. Recepción LNR	Motivo de indicación	Descripción de motivo	Tipo de Muestra	Establecimiento	Prueba	Resultado

Anexo 2.

Autorización de uso de datos de la institución.



MINISTERIO DE SALUD

No. 2019-9200-268

MEMORANDUM

PARA: Dr. Kochitl Sandoval
Sub Directora Instituto Nacional de Salud

DE: Lic. María Guadalupe Hidalgo de Guzmán
Jefe de Departamento de Laboratorio Nacional de Salud Pública

ASUNTO: Solicitud de lineamientos para uso de bases

FECHA: 19 de septiembre de 2019



Reciba un cordial saludo

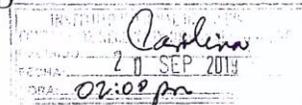
Sirva el presente para remitir copia de memorándum 2019-9200-315 por medio del cual el equipo de profesionales que trabajará en la investigación que llevará el nombre "Desempeño de Genexpert MTB/RIF en el Diagnóstico de Tuberculosis Extrapulmonar en el Laboratorio de Vigilancia en Salud Pública 2018", solicita la autorización para poder hacer uso de los datos de resultados de pruebas de Biología Molecular (Genexpert) y cultivo 2018.

Por lo que agradeceremos sus lineamientos o autorización para el uso de dichas bases.

Atentamente

*23-09-2019
OK pueden usar las bases de datos
ESD No requiere SIN NINGUN problema
Solo uso con la debida privacidad
y uso exclusivo para la investigación*

DIOS UNION LIBERTAD



Alameda Roosevelt Edificio "Max Block" Departamento de Laboratorio Nacional de Salud Pública,
frente al Parque Cuscatlán
San Salvador, El Salvador. C.A. MINSAL
Teléfonos (503) 2205-1605; Conmutador PBX (503) 2205-1600
www.salud.gob.sv

Anexo 3

Acta de aprobación del comité de ética.