



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
 NÚCLEO BOLÍVAR
 ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
 "Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
 COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

ACTA

TGB-2023-14-10

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. FERNANDO LINARES y Prof. MARIELYS CHAHLA, Reunidos en: Sala Dra Mercedes Quiroga

a la hora: 9 am

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

RENDIMIENTO DE LAS PRUEBAS RAPIDAS INMUNOLOGICAS EN RELACIÓN A MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS CONVENCIONALES CONFIRMATORIOS

Del Bachiller ALFONZO SÁNCHEZ REINALDO JOSÉ C.I.: 26870216, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	<input checked="" type="checkbox"/>	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN
-----------	----------	-----------------------------	-------------------------------------	------------------------------

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 18 días del mes de Octubre de 2023

Prof. IVÁN AMAYA
 Miembro Tutor

Prof. FERNANDO LINARES
 Miembro Principal

Prof. MARIELYS CHAHLA
 Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
 Coordinador comisión Trabajos de Grado





UNIVERSIDAD DE ORIENTE
 NÚCLEO BOLIVAR
 ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
 "Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
 COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

ACTA

TGB-2023-14-10

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. FERNANDO LINARES y Prof. MARIELYS CHAHLA, Reunidos en: Sala Dra Mercedes Quiroga

a la hora: 9 am

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

RENDIMIENTO DE LAS PRUEBAS RAPIDAS INMUNOLOGICAS EN RELACIÓN A MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS CONVENCIONALES CONFIRMATORIOS

Del Bachiller **ANTICO RODRÍGUEZ ISABEL VERONA** C.I.: 28356447, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	X	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN
-----------	----------	-----------------------------	---	------------------------------

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 18 días del mes de octubre de 2023

Prof. IVÁN AMAYA
 Miembro Tutor

Prof. FERNANDO LINARES
 Miembro Principal

Prof. MARIELYS CHAHLA
 Miembro Principal

Prof. IVÁN AMATO RODRIGUEZ
 Coordinador comisión Trabajos de Grado





UNIVERSIDAD DE ORIENTE
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“Dr. Francisco Battistini Casalta”
Departamento de Parasitología y Microbiología

**RENDIMIENTO DE LAS PRUEBAS RAPIDAS INMUNOLOGICAS EN
RELACIÓN A MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS
CONVENCIONALES Y CONFIRMATORIOS**

Tutor académico:

Msc. Amaya Iván

Lcda. Annalia Rondón

Trabajo de Grado Presentado por:

Br: Alfonzo Sánchez, Reinaldo José

C.I: 26.870.216

Br: Antico Rodríguez, Isabel Verona

C.I: 28.356.447

**Como requisito parcial para optar
por el título de licenciatura en
Bioanálisis**

Ciudad Bolívar, octubre 2023

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	13
OBJETIVOS	15
Objetivo General.....	15
Objetivos Específicos	15
METODOLOGÍA.....	16
Tipo y Diseño de investigación	16
Universo.....	16
Muestra	16
Criterios de inclusión.....	16
Criterios de exclusión	16
Procedimiento	17
Análisis Estadístico.....	29
RESULTADOS	32
Tabla N°1.....	34
Tabla N°2.....	35
Tabla N°3.....	36
Tabla N°4.....	37
Tabla N°5.....	38
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIÓN	43
RECOMENDACIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45

ANEXOS	54
Anexo 1.....	55
Anexo 2.....	55

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradecemos a Dios por habernos dado la oportunidad de haber concluido este proyecto y habernos dado la fuerza para superar los obstáculos que a lo largo de la investigación se fueron presentando.

A nuestra casa más alta de la cual nos sentimos orgullosos, la “Universidad de Oriente” por ser la cuna de nuestra formación académica y profesional.

A nuestro tutor, el Lcdo. Iván Amaya y a la Lcda. Annalia Rondón, cotutora de este trabajo, por su colaboración y orientación en el procesamiento de las muestras y realización de nuestro trabajo de grado.

A todos los maestros que a lo largo de nuestro estudio aportaron sus conocimientos invaluable, sugerencias, apoyo y sobre todo por su gran paciencia para lograr que este trabajo llegará a su fin.

A todo el personal del laboratorio regional de Baciloscopia del Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez” y al Laboratorio de Salud Pública Dr. Armando Ortega por su colaboración en la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres, por su apoyo incondicional, por creer en mí aun cuando no creí, por la compañía en las madrugadas en las que escribía y por poner en mí todo lo bueno.

A Isabel Antico, por no callarse nunca y por su insistencia, por la forma sincera en la que se expresa, por compartirme su risa, por sus almuerzos rápidos, por ser ADP, y por su valiosa amistad.

A Beverly Lozada, por lo divertido que es reunarnos, por abrirme las puertas de su casa y su familia, por las risas que nunca faltan, por nuestros pasos compartidos en el mundo laboral, y por amistad maravillosa.

A Mag, Abdolis, Ana, Daniel, Nathaly, Javier, Andrea, Addy, Skarlet y demás compañeros de clases que estuvieron presentes a lo largo de la carrera por su amistad, conocimiento y compañía.

Al licenciado Heriberto Arteaga, por ser una fuente de conocimiento, por las muchas horas de permiso, por su apoyo y su buena voluntad.

Al licenciado Iván Amaya, por su tiempo, su conocimiento incalculable, sus consejos de redacción, su ocurrencia y su sentido del humor.

Reinaldo José Alfonzo Sánchez

DEDICATORIA

A mi familia, quienes por ellos soy lo que soy. A mis padres por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona. A mis maestros y amigos que en el andar por la vida nos hemos estado encontrando, Yolanda, Cristóbal, Reinaldo, Mag, Abdolis, Daniel, Ana, Javier, Andrea, Claudia, Valentina, Nataly, Daniela, Addy, Beverly, Ailec y Skarlet, porque cada uno de ustedes me ha ayudado en algún momento de mi carrera y ha motivado mis sueños de alguna manera.

A todos mis tutores de pasantías, que con mucho amor contribuyeron a mi formación profesional como bioanalista.

A mi compañero de tesis Reinaldo, que no sólo ha sido mi compañero en esta tesis sino también en las prácticas de laboratorio, cada trabajo, informe, taller, exposición o actividad que realicé en la universidad, por siempre ser mi amigo más leal y permanecer. Muchas veces nos vimos frustrados por las inconsistencias de la investigación pero que con su apoyo y la orientación del profesor Iván y la licenciada Annalia, terminamos con éxito nuestra investigación.

A mi compañero de vida Yunior, por ser mi máximo apoyo, mi bastón, por soportar mis momentos de crisis y aun así amarme sin importar que tan insoportable sea la situación, por su ayuda, compañía y muchas otras cosas más.

Al personal que trabaja en el laboratorio de rutina de la clínica Orinoco, que me enseñaron a dar mis primeros pasos en la parte práctica de mi carrera, por su inmenso cariño, amistad y dirección.

Isabel Verona Antico Rodríguez.

**RENDIMIENTO DE LAS PRUEBAS RAPIDAS INMUNOLOGICAS EN
RELACIÓN A MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS
CONVENCIONALES CONFIRMATORIOS**

Alfonzo Reinaldo; Antico Isabel

**Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la
salud “Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”. Universidad de Oriente;
Núcleo Bolívar.**

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica que puede producir daño a diversos órganos, especialmente a los pulmones. En el siglo XXI sigue siendo un problema de salud pública asociado a países en vías de desarrollo. Por ello se han desarrollado diferentes técnicas para diagnosticarla, desde la Baciloscopia, pruebas inmunológicas y de biología molecular (GeneXpert). Con el fin de señalar el rendimiento diagnóstico de estas pruebas se realizó esta investigación en muestras que fueron procesadas en el laboratorio de salud pública Dr. Armando Ortega, adscrito al Instituto de Salud Pública del Estado Bolívar. Las muestras obtenidas fueron procesadas a través de las técnicas de Baciloscopia, GeneXpert, pruebas de diagnóstico rápido (PDR) y liberación de interferón gamma (IGRA). Se encontró que por GeneXpert la frecuencia de casos confirmatorios fue 14,9%, mientras que por Baciloscopia fue 11,5%, al aplicar PDR fue 21,8% e IGRA fue 18,4%. En relación al rendimiento diagnóstico de las técnicas se observó una sensibilidad en general por debajo del 50% y una especificidad alrededor del 80%.

Palabras clave: Tuberculosis, Baciloscopia, IGRA, GeneXpert, PDR

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica y granulomatosa que afecta a diversos órganos, y particularmente a los pulmones, causada por un grupo de bacterias del orden Actinomycetales de la familia Mycobacteriaceae. El complejo *M. tuberculosis* incluye *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. Microti* y *M. canetii* (Sarmiento-Galván, 2014)

El bacilo de la tuberculosis o bacilo de Koch es delgado, se tiñe con dificultad y demuestra la propiedad de acidorresistencia. Son aerobios obligados, sin motilidad, que no forman esporas. Miden de 0,2 a 0,6 μm de ancho por 1,0 a 10 μm de largo. Respecto a su material genético presentan un alto contenido en guanina y citosina en el ADN (Ryan y Ray, 2017)

La morfología de las colonias micobacteriales en medios de cultivo sólidos es un carácter estable de una cepa determinada, aunque suelen aparecer variantes por mutaciones espontáneas. El tipo básico de colonias son "ásperas" y "lisas". La mayoría de las especies presentan colonias blanquecinas o color crema, pero especialmente en las especies de crecimiento acelerado existen varias con colonias que contienen pigmentos carotenoides dichos pigmentos se han utilizado para clasificar algunos *Mycobacterium* patogénicos (Rondón-Velásquez y Zambrano-Fernández, 2022)

La pared celular de las micobacterias consta de una gruesa pared, separada de la membrana celular por el espacio periplásmico, con cuatro capas. La más interna es el glicopéptido o peptidoglicano con moléculas de N-acetilglucosamina y ácido-N-glucolilmurámico, con cortas cadenas de alanina. Esta capa es el esqueleto de la bacteria que le da forma y rigidez. Externamente, hay otras 3 capas compuestas: una

por polímeros de arabinosa, ácidos micólicos y galactosa (Ramírez-Rivera et al., 2002)

Los polímeros de arabinosa y galactosa son ácidos grasos de cadena larga, de gran importancia para la taxonomía de las micobacterias, que se encuentran unidos a los ácidos micólicos de la tercera capa que es de particular importancia porque suponen más del 50 % del peso de la pared bacteriana, lo que define al género *Mycobacterium* y otra superficial formada por lípidos como los sulfolípidos y el cord factor, llamado así por su aparente asociación con la forma acordonada con que se agrupan las micobacterias virulentas, y los micósidos (Ramírez-Rivera et al., 2002). Otros componentes de la pared celular, como el lipoarabinomano, intervienen en la patogenia de la enfermedad y favorecen la supervivencia de las micobacterias en el interior de los macrófagos (Ryan y Ray, 2017)

La tuberculosis es prevenible, curable y se transmite de persona a persona a través del aire, las partículas de mayor tamaño, quedan retenidas en la mucosa de las vías respiratorias superiores y son eliminadas por el sistema mucociliar o expectorar. Los microorganismos depositados en la piel o en las mucosas indemnes no penetran los tejidos y, por lo tanto, no son infectantes (Olmos-González, 2020)

No todas las personas infectadas por la bacteria enferman; de ahí que se suele diferenciar entre infección y enfermedad (o bien entre tuberculosis latente y tuberculosis activa). La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que una cuarta parte de la población mundial está infectada por el bacilo de la tuberculosis, lo que significa que tienen la bacteria en su organismo, pero no han enfermado ni pueden transmitir la infección. Las personas infectadas por el bacilo tuberculoso tienen un riesgo de entre el 5% y el 15% de enfermarse a lo largo de su vida (Sánchez-Monge, 2021)

De las posibles formas clínicas de presentación, la más frecuente en todos los casos es la tuberculosis pulmonar (TBP), donde el paciente puede presentar síntomas respiratorios de varias semanas de duración con tos no remitente, dolor torácico y expectoración, así como sintomatología general (sudoración, fiebre, astenia, anorexia y pérdida de peso). Debido a que en muchas ocasiones su sintomatología no es específica, es necesario un alto índice de sospecha clínica en pacientes con sintomatología sugerente para poder disminuir así la demora diagnóstica e inicio del tratamiento (Rojas-Martínez y López-Medina, 2023)

Las formas de presentación de casos de tuberculosis extrapulmonar (TBEP) van en aumento en los últimos años, pasando del 14% en los años 2005 - 2007 al 20% en 2010 - 2013. Teniendo en cuenta la dificultad diagnóstica de estas formas es probable que la proporción real de TBEP sea mucho mayor que la notificada constituyendo aproximadamente el 15 - 20% de todos los casos de tuberculosis. Debido a las dificultades para la confirmación de las TB extrapulmonar el diagnóstico requiere una elevada sospecha clínica y la utilización de pautas de diagnóstico distintas. Ello conduce a retrasos diagnósticos, diagnósticos erróneos y aumento de morbilidad y mortalidad en estos pacientes (Rojas y López, 2023)

Las micobacterias representan un género muy antiguo de bacterias. Han estado por millones de años y se han adaptado a casi cualquier entorno en la tierra (es decir, agua, tierra, polvo y aire). Su antigüedad y su gran edad fueron apoyadas por la valiosa evidencia recolectada del estudio de íbices y gatos momificados en las tumbas egipcias (Rondón-Velásquez y Zambrano-Fernández, 2022)

En el año 1719 el médico inglés Benjamín Marten fue el primero en aventurar que la causa de la tuberculosis podría ser una "diminuta criatura viviente" que, una vez en el organismo, podría generar los signos y síntomas de la enfermedad. Fue Robert Koch, en 1882, al utilizar una nueva técnica de tinción, el primero que por fin

pudo ver al "enemigo oculto". Posteriormente Paul Ehrlich mejoraría el método de tinción del bacilo, dando inicio a los primeros pasos en la baciloscopía (García-Murillo, 2010)

La baciloscopía es una herramienta de diagnóstico confirmatorio directo de la tuberculosis pulmonar activa (TBA) porque a través de este método se puede demostrar la presencia de bacilos ácido resistentes en una muestra de cualquier lesión por medio de un examen microscópico, la limitación que tiene esta prueba es que no se puede hacer una distinción entre *M. tuberculosis* y otras micobacterias. Por otro lado, también puede requerir una toma de muestra de forma invasiva en casos de TB extrapulmonar (Sardiñas et al., 2016)

La baciloscopía, a través del examen directo de la muestra y coloración con la técnica de Ziehl Neelsen, no es 100% confiable, pues el bacilo no siempre es detectado en las muestras clínicas examinadas. La sensibilidad deja mucho que desear, varía dependiendo del tipo de muestra y la micobacteria involucrada, ya que como regla deben existir entre cinco mil a diez mil bacilos por mililitro de expectoración para que tengan un 50% de posibilidades de ser detectados. El rango de sensibilidad de la baciloscopía, oscila entre 50 - 80% y la especificidad es virtualmente del 100% (Navas et al., 2005)

Durante el siglo pasado se ha implementado el uso de la baciloscopía y la utilización de la prueba cutánea de la tuberculina, inicialmente descubierta por Robert Koch en 1890. Se esperaba que la tuberculina se convirtiera en un tratamiento para la tuberculosis, sin embargo, esta no pudo utilizarse con dicho fin y en 1907 Clemens von Pirquet la estableció como prueba de diagnóstico para la tuberculosis, pero en vista de que esta prueba tiene varias limitaciones, en el año 2001 aparece la prueba de ensayo de liberación de Interferón- γ (IGRAS, por sus siglas en inglés) (Vásquez y Salazar, 2018)

El ensayo de liberación de Interferón- γ (IGRAS) es una prueba de tipo inmunológico que determina si una persona está infectada por tuberculosis. Mide el grado de reacción del sistema inmunitario antes las bacterias de la TB, mediante un análisis de sangre en el laboratorio (CDC, 2013)

En principio estos tests superarían las limitaciones de la prueba de la tuberculina ya que emplean otros antígenos que no están presentes en la cepa vacunal BCG ni en la mayoría de las cepas de micobacterias no tuberculosas. Además, la interpretación de los resultados es más objetiva ya que son tests in vitro en los que se realizan determinaciones cuantitativas (Oubiña et al., 2017)

El primer test in vitro fue el QuantiFERON-TB (QFT), un test ELISA que emplea muestras de sangre total que mide la producción de interferón gamma (INF- γ) en respuesta a un derivado proteico purificado. El QFT ha sido reemplazado por una segunda y tercera generación: QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) y QuantiFERON-G In Tube (QTF-GIT). El QFT-G emplea antígenos específicos de *M. tuberculosis*, la proteína CFP-10 (culture filtrate protein 10) y la ESAT6 (early secretory antigenic target). El QFT-GIT consiste en una serie de tubos pretratados con antígenos de TB y control (mitógeno) que minimizan el fallo en el tratamiento de las muestras y que contienen el antígeno TB7.7 (Rv2654) (Puñal y Teresa, 2010)

Los test de IGRA presentan una sensibilidad del 76% con una especificidad del 96%, su sensibilidad es similar a la prueba de la tuberculina pero su especificidad es mayor, esto se traduce en un número menor de falsos positivos y falsos negativos, evitando tratamientos innecesarios con sus correspondientes efectos secundarios y con la posibilidad de detectar los pacientes verdaderos con tuberculosis latente (Ramos, 2018)

Se estima que 23% de la población mundial tiene tuberculosis latente (1,7 billones de habitantes el año 2014). Cada año 0,8% de la población adquiere tuberculosis latente (55,5 millones de habitantes cada año). La prevalencia más baja se observa en la región de América (11%) (OPS, 2019)

El aumento creciente de publicaciones ha ido demostrando la utilidad de los IGRA para el diagnóstico de infección tuberculosa latente, dando excelentes resultados en población de alto riesgo como pacientes con VIH, indígenas, niños mayores a cinco años, ancianos o pacientes con alguna patología de base. Con respecto a la enfermedad activa, los test de IGRA no poseen una alta precisión para la predicción de esta (Oubiña et al., 2017)

Hay determinados factores de riesgo relacionados con el huésped, como ser menor de 2 años, el alcoholismo, la diabetes, la corticoterapia, el puerperio, el período inmediato a ciertas vacunaciones e infecciones por virus durante la infancia, el uso de drogas inyectadas y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (Andueza-Orduna et al., 2000)

La principal limitación de los Programas de Control de la Tuberculosis es la dificultad para lograr el diagnóstico temprano de la enfermedad. La baciloscopía ha sido y es a nivel mundial el método inicial para el diagnóstico de la TB. Sin embargo, la baja sensibilidad con respecto al cultivo, limita la utilidad de esta técnica. El cultivo tiene una mayor sensibilidad, pero para lograr el crecimiento micobacteriano pero requiere de un largo período de tiempo que oscila entre 30-60 días. Por eso, en los últimos decenios se han desarrollado nuevos métodos moleculares para el diagnóstico de la TB, que intentan superar estas limitaciones (Mederos-Cuervo et al., 2020)

Principalmente a través de la detección de ADN de patógenos, se han diseñado pruebas para el diagnóstico de la tuberculosis, aunque también se han empleado ensayos dirigidos a la detección de proteínas o lípidos de la micobacteria. El uso de pruebas que amplifican directamente los ácidos nucleicos (NAA, por sus siglas en inglés) ofrece un tiempo de respuesta reducido para el diagnóstico de TB en comparación con la detección convencional de crecimiento en medios sólidos (López et al., 2019)

La prueba de reacción en cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN) polimerasa fue el primer método disponible para amplificar secuencias de ácidos nucleicos a finales de la década de los 80; sin embargo, su aplicación en el diagnóstico de la tuberculosis (TB) había sido muy limitada, debido principalmente a la complejidad en la extracción, amplificación y detección del ADN de micobacterias y a los riesgos de seguridad biológica inherentes a su uso (Acosta-Sanchez et al., 2022)

En 2011 la Fundación para la Obtención de Medios de Diagnóstico Innovadores (FIND) estuvo asociada con Cepheid, Inc. (Sunnyvale, California, EE.UU.) para crear el método Xpert MTB/RIF, prueba automatizada de amplificación del ácido nucleico que emplea un cartucho para diagnosticar la tuberculosis a través de la plataforma multienfermedades GeneXpert (PAHO, 2011)

Entre las numerosas pruebas disponibles de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de tuberculosis, la GeneXpert Mycobacterium tuberculosis/rifampicina (MTB/RIF) es una de las más ampliamente evaluadas, pues constituye un método molecular automatizado que integra la extracción de ADN, la amplificación genómica por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, la detección semicuantitativa y la detección de la resistencia a la rifampicina debido a mutaciones en el gen *rpoB* (Acosta-Sanchez et al., 2022)

El desarrollo de la prueba Xpert MTB/RIF fue un gran paso en la mejora del diagnóstico de la tuberculosis y la detección de la resistencia a la rifampicina a nivel mundial. Sin embargo, la sensibilidad de la prueba Xpert MTB/RIF no es óptima, sobre todo en pacientes con baciloscopía negativa y TB asociada a infección por el VIH. La prueba Xpert MTB/RIF Ultra, en lo sucesivo denominada prueba Xpert Ultra, fue desarrollada por Cepheid como prueba de próxima generación para superar estas limitaciones (OPS, 2020)

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. Para el diagnóstico de TB pulmonar la OMS informa 88% y 95% para la detección de MTB y resistencia a RIF respectivamente. En ambos casos, la especificidad informada corresponde a 99 y 98% (Arias et al., 2019)

En 2010, la Organización Mundial de la Salud (OMS) aprobó Xpert ® MTB/RIF, la primera prueba de Cepheid para la tuberculosis y un hito importante para el tratamiento de la TB y la TB resistente a múltiples fármacos (Multidrug-resistant-TB, MDR-TB), a la que siguió Xpert MTB Ultra (Cepheid, 2022)

Este método es el único de su tipo que emplea un cartucho en el que están contenidos todos los elementos necesarios para la reacción, incluidos los reactivos liofilizados, amortiguadores líquidos y soluciones de lavado. El proceso de detección y caracterización se realiza en tiempo real e integra un ordenador, un lector de código de barras y un software precargado que controla el desarrollo de las pruebas (PAHO, 2011)

La OMS considerando el costo de este equipo y su mantenimiento, recomienda que este no debiera ser aplicado a todos los pacientes, su utilización principal debe ser en aquellos grupos de pacientes más vulnerables a contraer esta enfermedad, como son los pacientes VIH/Sida y pacientes que por otras causas puedan tener algún otro tipo de deterioro en su barrera inmunológica lo cual los haga más susceptible a contraer la infección (Mederos et al., 2020)

Otra opción más económica y de fácil mantenimiento son las pruebas que usan suero como muestra para determinar el estado de salud, son adecuadas para países con recursos limitados porque a menudo requieren equipos fácilmente disponibles, aunque estos no son 100% satisfactorios para la detección de TB. Actualmente, es común tener antígenos precargados en una membrana de nitrocelulosa y agregarles muestras de suero o sangre completa (López et al., 2019)

Anteriormente en la búsqueda de antígenos apropiados, se había observado repetidamente que los ensayos basados en un solo antígeno nunca logran un rendimiento serodiagnóstico satisfactorio y no se tenía claro si los desempeños deficientes de los ensayos de serodiagnóstico reflejaban la falta de respuestas de anticuerpos en un gran número de pacientes o la falta de reactivos apropiados para medir las respuestas (Lyashchenko et al., 1998)

Estas pruebas serológicas están basadas en cócteles de antígenos, esto se debe a que en muchas infecciones, la mayoría de las personas infectadas, sino todas, producen anticuerpos contra los mismos antígenos inmunodominantes. En otros casos, sobre todo en infecciones causadas por ciertos patógenos intracelulares, el repertorio de anticuerpos es muy diverso, con sueros de diferentes personas que reaccionan con diferentes antígenos y este es el ejemplo de la tuberculosis (Lyashchenko et al., 2000)

En 2011, se evaluó el desempeño de una prueba rápida inmunocromatográfica mexicana (PRIM). Se consideró como estándar de oro el cultivo y los datos clínicos o radiográficos de enfermedad evidente. A todos los pacientes se les realizó exploración física, baciloscopia, placa convencional de tórax y PRIM. para la detección de tuberculosis pulmonar, se incluyeron 143 pacientes (edad media de 41 años). La sensibilidad de la PRIM fue de 79.2 % (intervalo de confianza [IC] 95 % = 67.2-87.5), la especificidad de 100 % (IC 95 % = 93.6- 100), el valor predictivo positivo de 100 % (IC 95 % = 92.1-100) y el valor predictivo negativo de 82.6 % (IC 95 % = 72.5-89.6). La PRIM tuvo buena sensibilidad y alta especificidad, que demuestran el potencial de la prueba para identificar a los pacientes con tuberculosis pulmonar que requieren tratamiento (García-Cruz et al., 2011)

Bjerrum y colaboradores en Reino Unido (2019), evaluaron la exactitud de la Prueba de lipoarabinomano en orina de flujo lateral para el diagnóstico de la tuberculosis activa en adultos con pruebas positivas para el VIH y signos y síntomas de tuberculosis para una población de 1000 personas donde 300 tienen tuberculosis confirmada microbiológicamente, la utilización de la LF-LAM daría lugar a: 189 positivos en la LF-LAM; de los mismos, 63 (33%) no tendrían tuberculosis (positivos falsos), y 811 negativos en la LF-LAM: de los mismos, 174 (21%) tendrían tuberculosis (negativos falsos).

Se encontró que la LF-LAM tiene una sensibilidad del 42% para diagnosticar la tuberculosis en individuos con pruebas positivas para el VIH y síntomas de tuberculosis. Como una prueba sencilla en el lugar de atención que no depende de la evaluación del esputo, la LF-LAM puede ayudar con el diagnóstico de la tuberculosis, en particular cuando el paciente no puede producir una muestra de esputo.

Perez-Catalan y colaboradores, en España (2019), analizaron la concordancia entre la prueba de la tuberculina (PT) e “Interferon Gamma Release Assay-IGRA” en relación con el tipo de enfermedad inflamatoria mediada por la inmunidad (EIMI) y tratamiento inmunosupresor (IS). Se estudiaron 146 pacientes (33 [22,6%] vacunados con BCG, 1 [0,7%] con diagnóstico previo de tuberculosis y 22 [15,1%] originarios de país endémico). El índice de Kappa (k) fue de 0,338 entre PT e IGRA para la totalidad de la muestra. Menor concordancia en pacientes con enfermedad de Crohn (k=0,125), en los tratados con corticoides (k=0,222), vacunados con BCG (k=0,122) y en pacientes procedentes de países endémicos de tuberculosis (k=0,128). La concordancia entre la PT y el IGRA se ve afectada en pacientes con EIMI y en mayor medida en la enfermedad inflamatoria intestinal, con la corticoterapia, con la vacunación con BCG o en los procedentes de países endémico

Un estudio en Perú (2020), evaluó el rendimiento de la prueba Genexpert MTB/RIF en el diagnóstico del *Mycobacterium tuberculosis* en muestras respiratorias y no respiratorias en relación al cultivo sólido como Gold standard. incluyó 596 muestras en donde el rendimiento de la prueba Genexpert MTB/RIF fue de 13.6% mostrando positividad para el *Mycobacterium tuberculosis*, mientras tanto la prueba de cultivo solido fue de 11.6% mostrando crecimiento bacteriano. La prueba Genexpert MTB/RIF tuvo una sensibilidad de 95.65%, una especificidad de 97.15%. Se demostró que la prueba Genexpert MTB/RIF tuvo buen rendimiento con respecto a su Gold standard en el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras respiratorias y no respiratorias (Taipe-Tuñoque, 2020)

Un estudio analítico retrospectivo en Uruguay (2020), comparó el rendimiento del GeneXpert con la baciloscopía para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar en la edad pediátrica utilizando el cultivo como patrón de referencia. Se diagnosticaron 67 menores de 15 años con TB, confirmándose bacteriológicamente el 46% de los casos. Se analizaron 1.670 muestras; 82%

respiratorias y 17% no respiratorias. La sensibilidad del Xpert para todas las muestras fue 80%; la especificidad 99,5%. El Xpert mostró un buen perfil de sensibilidad y especificidad, tanto en muestras respiratorias como no respiratorias, similar a la reportada en trabajos internacionales. El principal aporte en relación con la baciloscopía es la mayor sensibilidad para el diagnóstico de TB en menores de 15 años (Amaya et al., 2020)

A partir de 2021 han aparecido nuevas alternativas para el diagnóstico de la tuberculosis mediante el principio de la inmunocromatografía, uno de los más prometedores es el casete de prueba rápida de tuberculosis el cual es un inmunoensayo tipo sándwich de dos sitios, de fase sólida y cualitativo para la detección de anticuerpos anti-TB en muestras de sangre total, suero o plasma. La membrana está prerrevestida con antígeno recombinante de TB en la región de la línea de prueba del casete. Durante la prueba, los anticuerpos anti-TB, si están presentes en muestras de sangre total, suero o plasma, reaccionan con las partículas recubiertas con el antígeno recombinante de TB. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el antígeno recombinante de TB en la membrana y generar una línea de color (Advin Biotech, 2021)

En 2023 han surgido numerosos casos de tuberculosis en el país, sumado a que las herramientas de diagnóstico clínico convencionales son costosas, engorrosas y requieren de personal especializado ha generado la necesidad de buscar otras opciones que permitan la detección de tuberculosis en el menor tiempo posible, sin perder la confiabilidad de los resultados. Este estudio busca comprobar la confiabilidad de las pruebas rápidas inmunológicas, como una alternativa de diagnóstico para la enfermedad tuberculosa activa y latente.

JUSTIFICACIÓN

La tuberculosis es considerada una causa importante de morbilidad y mortalidad en los adultos de todo el mundo y causa de muerte de 1,6 millones de personas en 2021. La OMS estima que un paciente sin tratamiento puede infectar entre 10 y 15 personas al año, aunado a las pruebas de tuberculosis se estima que una cuarta parte de la población está infectada (OMS, 2021)

En Venezuela existe un alto nivel de desinformación, algunas fuentes registran que en 2015 10,4 millones de personas enfermaron de tuberculosis y 1,8 millones murieron por esta enfermedad. El aumento es altamente significativo con una tasa estimada de 42,2 por 100.000 habitantes. Hay además, ciertos grupos de alto riesgo como es el caso de la población carcelaria donde el hacinamiento y la mala alimentación, causan estragos imponiendo cuotas de mortalidad importantes al asociarse a otras enfermedades, especialmente el VIH/SIDA (Sánchez-Gutiérrez y Martínez-Padilla, 2018)

Una forma de contener la tuberculosis, además de su prevención, es su correcto diagnóstico. Existen muchos métodos para su determinación, el ideal además del cultivo, que tarda mucho tiempo, es el molecular que es más costoso y solo está disponible en algunos laboratorios. Han aparecido nuevas técnicas que permiten discriminar tuberculosis activa o latente, como por ejemplo las pruebas inmunológicas de alta gama como QuantiFERON o estimulación de monocitos. Sin embargo, dado que es importante hacer un diagnóstico precoz se han desarrollado diferentes técnicas denominadas pruebas rápidas que permiten a través de ensayos inmunocromatograficos u otras técnicas, hacer un diagnóstico rápido y con cierta sensibilidad, especialmente en entornos con recursos limitados o en situaciones donde se necesita una respuesta diagnostica rápida (Shah et al., 2016)

Son pocos los estudios realizados a nivel nacional y local acerca de la correlación entre el diagnóstico de las pruebas confirmatorias convencionales con técnicas emergentes de diagnóstico rápido. Es por esta razón que se propone realizar esta comparación a fin de verificar los parámetros de la efectividad o rendimiento diagnóstico que tienen estas técnicas, y mejorar la metodología actual hacia un método más rápido, sensible y económico.

OBJETIVOS

Objetivo General

Señalar el rendimiento de las pruebas de diagnóstico rápido y pruebas inmunológicas en relación a pruebas confirmatorias, en muestras que fueron procesadas en el laboratorio de salud pública Dr. Armando Ortega, Instituto de Salud Pública del Estado Bolívar, en el periodo de tiempo comprendido entre Abril - Mayo 2023.

Objetivos Específicos

- Detectar frecuencia de casos confirmatorios de tuberculosis.
- Comparar parámetros de rendimiento diagnóstico de pruebas inmunológicas y Baciloscopia en relación al método confirmatorio GeneXpert.
- Comparar frecuencia de casos positivos y negativos de las pruebas de diagnóstico directo y liberación de interferón gamma en relación a las pruebas de diagnóstico rápido.

METODOLOGÍA

Tipo y Diseño de investigación

Para este estudio se realizó una investigación de tipo descriptivo y correlacional, de corte transversal.

Universo

La población objeto de estudio estuvo representada por muestras procesadas en el laboratorio de salud pública Dr. Armando Ortega, adscrito al Instituto de Salud Pública del Estado Bolívar, en el periodo de tiempo comprendido entre Abril - Mayo 2023.

Muestra

La muestra estuvo conformada por 87 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, seleccionados al azar, de ambos sexos, del Estado Bolívar.

Criterios de inclusión

- Muestras procesadas en el laboratorio de salud pública Dr. Armando Ortega.
- Pacientes que acepten voluntariamente ingresar al estudio.
- Pacientes de ambos sexos

Criterios de exclusión

- Pacientes que sean menores a 18 años.

- Muestras insuficientes
- Muestras contaminadas
- Muestras mal identificadas

Procedimiento

QuantiFERON-TB Gold PLUS - QIAGEN® (ENSAYO DE LIBERACION DE INTERFERON- γ)

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT®) es un ensayo de diagnóstico in vitro que utiliza un cóctel de péptidos que simula la actividad de las proteínas ESAT-6 y CFP-10 para estimular células en sangre total. La detección de interferón- γ (IFN- γ) mediante el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) sirve para detectar reacciones in vitro a estos antígenos peptídicos vinculadas a la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (Qiagen, 2017)

Flujo De Trabajo De QTF-PLUS

1. Recolección de las muestras
2. Mezcla de los tubos
3. Incubación
4. ELISA

Toma de la muestra

1. Fueron obtenidos 5 ml de sangre en un tubo con EDTA.
2. Se mezclaron por inversión para que se mezclaran con el anticoagulante.
3. Se transfirieron a los tubos QFT-Plus, utilizando 1 ml en cada tubo QFT-Plus

4. Fueron agitados 10 veces.
5. Se incubaron de 16 a 24 horas a temperatura de 37.°C +/- 1°C

ELISA

1. Se agregó conjugado y plasma
2. Se incubó
3. Después de un lavado se adicionó el sustrato
4. Se incubó nuevamente
5. Después de adicionar solución de parada se leyó la absorbancia
6. Se calcularon los resultados

Interpretación de resultados

QTF positivo: La infección por M. tuberculosis es probable

QTF negativo: La infección por M. tuberculosis no es probable

QTF indeterminado: Los resultados son indeterminados para la respuesta al antígeno TB. La infección de TB no puede excluirse ni confirmarse. Sigue siendo un resultado significativo.

PRUEBA DE DIAGNOSTICO RAPIDO - ADVIN BIOTECH®

La prueba rápida inmunológica de la casa comercial Advin Biotech está basada en el principio de inmunocromatografía de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos contra micobacterias. Esta prueba utiliza una combinación de tres antígenos purificados inmovilizados en un soporte sólido. Si en la muestra (suero o plasma) existen anticuerpos específicos contra tuberculosis, reaccionarán con un reactivo revelador, formando un complejo colorido visible que fluirá a lo largo de la

tira y quedará atrapado por los antígenos en la zona de la prueba, produciendo una línea de color púrpura fácilmente visible e identificable (Advin Biotech, 2021)

Recolección y preparación de la muestra

1. El casete de prueba rápida de tuberculosis se puede realizar utilizando muestras de suero o plasma de sangre completa (de venopunción o punción digital). En este caso se utilizó plasma.

2. Para recolectar muestras de sangre completa por punción venosa se recolectaron muestras de sangre anticoagulada (EDTA) siguiendo los procedimientos estándar del laboratorio.

3. Se separó el plasma de la sangre lo antes posible evitando la hemólisis. Se recomienda utilizar únicamente muestras transparentes no hemolizadas.

4. Las muestras fueron llevadas a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente. Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones federales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

Procesamiento de la muestra

1. Se dejó que el casete de prueba, la muestra, el tampón y / o los controles se equilibraran a temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de realizar la prueba.

2. Se retiró el casete de prueba de la bolsa de aluminio sellada y se utilizó lo antes posible. Se obtienen mejores resultados si el ensayo se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa de aluminio.

3. Se colocó el casete sobre una superficie limpia y nivelada. Sosteniendo el gotero en posición vertical, se transfirieron 3 gotas de suero o plasma

(aproximadamente 75 μ L) al pocillo de la muestra (S) del casete de prueba y luego inició el temporizador.

4. Se esperó a que aparecieran las líneas de color. El resultado debe leerse a los 10 minutos.

Interpretación de resultados

POSITIVO: Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea debe estar en la región de control (C) y otra línea debe estar en la región de prueba (T). La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos anti-TB presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de prueba (T) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea de color aparente en la región de prueba (T)

NO VÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

BACILOSCOPIA

La baciloscopia consiste en la observación microscópica de una muestra teñida con colorantes específicos para Mycobacterium con el fin de diagnosticar los cuadros clínicos producidos por las especies clínicamente relevantes de este género bacteriano.

La muestra utilizada para este estudio es el esputo, para que el laboratorio pueda obtener resultados confiables no sólo es necesario que ejecute la técnica en forma correcta., necesita recibir una buena muestra, entendiéndose por tal la que proviene del sitio de la lesión que se investiga, obtenida en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado, bien identificada, conservada y transportada (ISP Chile, 2019)

- ✓ El envase más adecuado debe tener las siguientes características:
- ✓ Boca ancha, de no menos de 50 mm de diámetro.
- ✓ Capacidad entre 30 y 50 ml, para que el paciente pueda depositar la expectoración con facilidad dentro del envase, sin ensuciar sus manos o las paredes del frasco y para que en el laboratorio se pueda seleccionar y tomar la partícula más adecuada para realizar el extendido.
- ✓ Cierre hermético, con tapa a rosca, para evitar derrames durante el transporte y la producción de aerosoles cuando se abre en el laboratorio. Las tapas a presión generan mayor riesgo de formación de aerosoles y salpicaduras en el momento de ser retiradas.
- ✓ Material plástico transparente, resistente a roturas, para poder observar la calidad de la muestra cuando la entrega el SR, evitar roturas y derrames de material infeccioso y facilitar su eliminación. No se recomienda lavar y reutilizar frascos de vidrio, para evitar posibles errores originados en la transferencia de material de una muestra a otra y minimizar la manipulación de material potencialmente infeccioso.

Obtención espontánea del esputo

El primer paso para asegurar la calidad de la baciloscopía consiste en explicar al paciente, con mucha claridad, la importancia de examinar muestras de esputo, la

necesidad de recolectar esputo y no saliva, cómo lograr una buena muestra, dónde coleccionarla y cómo manipularla hasta entregarla al servicio de salud.

Para la recolección de las muestras se deben tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

Elegir un lugar bien ventilado y que ofrezca intimidad para que el SR produzca la expectoración. Puede ser una habitación bien ventilada y con acceso a luz natural (sol) o algún lugar abierto no concurrido del patio del Servicio de Salud. No utilizar lugares cerrados o muy concurridos tales como laboratorios, consultorios médicos, salas de espera o baños, porque éste es el proceso más riesgoso entre todos los necesarios para realizar la baciloscopía.

Entregar al SR el envase de recolección ya rotulado con su nombre o número de identificación y, de ser posible, el servicio que solicita la baciloscopía. Estos datos deben ser escritos en la pared del frasco y no en la tapa para evitar errores, con rótulos que no se despeguen o con lápiz indeleble.

Instruir al SR con lenguaje simple y comprensible para el paciente. Solicitar una buena muestra con la palabra que la identifica en cada lugar (gallo, pollo, gargajo). Solicitar al paciente que:

1. Inspire profundamente llenando sus pulmones de aire tanto como sea posible.
2. Retenga el aire un momento.
3. Expulse luego la expectoración con esfuerzo de tos, tratando de arrastrar las secreciones del pulmón.
4. Recoja el esputo producido dentro del envase tratando de que entre en su totalidad sin manchar sus manos o las paredes externas del frasco.

5. Repita el procedimiento otras dos veces, colocando todas las secreciones en el mismo frasco.

6. Limpie el exterior del envase con un pañuelo de papel y lávese las manos con agua y jabón.

Calidad de la muestra

La muestra de catarro mucopurulento proveniente de pulmón es la que asegura mayor probabilidad de que se puedan observar bacilos.

Una buena muestra tiene aproximadamente 3 a 5 ml, es generalmente espesa y mucoide. Puede ser fluida con partículas de material purulento. El color es variable (blanco, amarillento y hasta verdoso) A veces son sanguinolentas. Las secreciones nasales, faríngeas o la saliva no son buenas muestras para investigar tuberculosis, aunque es conveniente examinarlas de todas formas porque siempre existe la posibilidad de que los bacilos hayan quedado en la boca, nariz o faringe.

Recepción de la muestra de esputo

Se evaluó la muestra para verificar que cumpliera con los criterios de inclusión.

Se recolectaron 87 muestras en el periodo Abril - Mayo 2023. Las cuales fueron enumeradas para el control interno del laboratorio e identificadas con los datos de cada paciente. La prueba de Baciloscopía (BK) fue realizada por los investigadores bajo la instrucción y supervisión de dos expertos en el área. Las muestras fueron procesadas al momento de ser recibidas, esto para cuidar la viabilidad de la misma, así como también la veracidad de los resultados.

Examen macroscópico

Las características que a simple vista se distinguen de una muestra de esputo brindan una cantidad importante de información sobre la calidad de la misma. Los ítems que se evaluaron en este examen son: Aspecto, Cantidad, Color. Estas observaciones se registraron aun sin haber destapado el envase en el que se recibió la muestra, de allí la importancia de usar un envase translucido para la recolección de la muestra.

Reactivos

- ✓ Colorante primario: Se usa carbol fucsina al 0,3 %. Este colorante se prepara a partir de una mezcla de alcoholes, fenol en etanol o metanol, y se disuelven 3 gramos de fucsina básica.
- ✓ Solución decolorante: Se emplean soluciones de ácido alcohol al 3 % o ácido sulfúrico al 25 %.
- ✓ Colorante secundario: El colorante más empleado para realizar el contraste en las muestras suele ser el azul de metileno al 0,3 %. Sin embargo, también se pueden emplear otros, como el verde malaquita al 0,5 %.

Procedimiento

1. Las muestras fueron ordenadas y numeradas con el número correspondiente al del registro.
2. Para cada muestra, se enumeró una lámina portaobjetos, siempre en el mismo borde.
3. Se usó una lámina para cada muestra.

4. Se tomó la primera muestra y la lámina correspondiente y se colocó detrás del mechero de manera que la llama quede entre el operador y el frasco.

5. El envase se destapó con cuidado para evitar la formación de aerosoles.

6. Se procedió a romper un aplicador en dos, tratando de que las puntas queden ásperas.

7. Tomando cada parte del aplicador entre el pulgar y el índice de cada mano y con los extremos irregulares de cada trozo se seleccionó la partícula más densa o purulenta de la muestra de esputo.

8. Se colocó la partícula seleccionada sobre el portaobjetos y fue extendida con el aplicador con movimientos suaves, circulares, tratando de dispersarla en forma homogénea en el centro de la lámina, dibujando un óvalo de 2 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho.

9. Se verificó que el extendido tuviera grosor homogéneo y adecuado.

10. Se dejó el extendido en un soporte ubicado al costado del mesón para que se seque a temperatura ambiente.

11. Una vez realizado el extendido de la muestra se cubrió totalmente la superficie del mismo con fucsina fenicada.

12. Se calentó suavemente por debajo del extendido con la llama de un hisopo embebido en alcohol y movimientos de vaivén, hasta que se observó que se desprendían los primeros vapores blancos, dejando de calentar y repitiendo el procedimiento dos veces más. Esto permitió que la pared de la micobacteria se abra posibilitando que la fucsina penetre adecuadamente en el bacilo y se fije a sus lípidos.

13. Se enjuagó con abundante agua fría a baja presión muy suave y cuidadosamente sobre la superficie, eliminando totalmente la solución de fucsina. Se giró el extendido y lavar con cuidado también la parte posterior.

Con una pinza, se levantó cuidadosamente el portaobjetos desde el extremo más cercano al operador. El agua fría es importante para que la pared que fue abierta por la acción del calor, vuelva a naturalizarse.

14. Inclinando el portaobjetos se eliminó el exceso de agua y se cubrió la totalidad del extendido con alcohol ácido y se dejó actuar 3 minutos. Luego se enjuagó con abundante agua a baja presión.

15. El exceso de agua fue eliminado inclinando el portaobjetos y cubriendo todo el extendido con el colorante secundario solución de azul de metileno. Dejándolo actuar durante un minuto.

16. Se enjuagó la lámina en ambas caras con agua a baja presión y se limpió la parte inferior con un algodón impregnado en alcohol.

17. La lámina se secó a temperatura ambiente, apoyándola en posición vertical en un soporte sobre un papel absorbente.

Lectura del extendido

Contar el número de campos que ha leído y el número de BAR que ha identificado. El número total de campos a examinar depende de si se encuentran bacilos y en qué cantidad. Numero de campos microscópicos a leer según promedio de BAR:

Promedio de BAAR encontrados	Número mínimo de campos útiles a examinar
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20

1 a 10 en todo el extendido	Todo el extendido
-----------------------------	-------------------

GENEXPERT MTB/RIF – CEPHEID INNOVATION ®

El método Xpert MTB/RIF es una prueba de amplificación del ácido nucleico totalmente automatizada que emplea un cartucho para diagnosticar la tuberculosis y la resistencia a la rifampicina, apropiada para los países donde ésta enfermedad es endémica. Este método purifica, concentra, amplifica (mediante una prueba de Reacción en Cadena de Polimerasa – RCP - rápida en tiempo real) e identifica secuencias de ácido nucleico específicas del genoma de tuberculosis; los resultados se obtienen a partir de muestras de esputo sin procesar en menos de 2 horas, con empleo de tiempo mínimo por parte de personal técnico (Cepheid, 2020)

Preparación de la muestra

- ✓ Se abrió el frasco de esputo cuidadosamente.
- ✓ Añadimos directamente en el frasco 2 veces el volumen del reactivo de la muestra en el esputo (dilución 2:1, reactivo: esputo). 1 ml de esputo fue la cantidad mínima, mientras que 3-4 ml fue la cantidad requerida ideal).
- ✓ Para volumen de muestra mayor de 4 ml), fue necesario tomar una porción de reactivo de muestra en un segundo frasco, ya que cada frasco contiene una cantidad de 8 ml de reactivo.
- ✓ Cerramos bien el frasco y agitamos enérgicamente de 10 a 20 veces.
- ✓ Incubamos la muestra a temperatura ambiente por 10 minutos.
- ✓ Luego agitamos nuevamente de 10 a 20 veces.
- ✓ Incubamos a temperatura ambiente durante 5 minutos. Transcurrido el tiempo, la muestra debe estar líquida antes de ser procesada. Verificamos

que se encuentra sin grumos visibles de esputo. Si aún la muestra persistía viscosa, se esperaban 5-10 minutos más antes de inocular al cartucho (solución final de 2-4 ml).

Preparación del cartucho: inoculación

- ✓ Abrimos el cartucho y depositamos de 2-4 ml. de la muestra preparada usando la pipeta plástica de transferencia (suministrada en el kit).
- ✓ Introducimos la muestra cuidadosamente evitando formar aerosoles o burbujas.
- ✓ Se debe evitar transferir partículas sólidas en el interior del cartucho.
- ✓ Cerramos la tapa firmemente.
- ✓ Iniciamos la prueba.

Inserción del cartucho

- ✓ Abrimos completamente la puerta del módulo elegido indicada por una luz verde parpadeante por encima del módulo seleccionado.
- ✓ Insertamos el cartucho cuidadosamente con el código de barras hacia adelante.
- ✓ Al cerrar la puerta del módulo con el cartucho la prueba se inicia automáticamente.
- ✓ Después de cargar el cartucho en el equipo GeneXpert, el software del sistema permite supervisar el progreso de la prueba.

Al cargar el cartucho en el equipo, se siguieron las instrucciones indicadas en el software para dar inicio a la prueba. El software del GeneXpert generó los resultados a partir de las señales fluorescentes detectadas en conjunto con la aplicación de un algoritmo de cálculo integrado. Una vez finalizada la prueba se emitió el informe del

resultado y se visualizaron las curvas de amplificación de la PCR. Respecto a las curvas de las sondas, cada una tuvo un valor CT (del inglés Cycle Threshold, ciclo límite o umbral) determinado: este valor es inversamente proporcional a la cantidad de ADN, es decir, a mayor cantidad de ADN en la muestra, menor el valor del CT. Con esta información, el software interpretó y clasificó los resultados positivos para MTB en una de las siguientes categorías:

- ✓ Valores de CT menores a 16 fueron interpretados como MTB detectado en nivel alto.
- ✓ Valores de CT entre 16-22 fueron interpretados como MTB detectado en nivel medio.
- ✓ Valores de CT entre 22-28 correspondieron a MTB detectado en nivel bajo.
- ✓ CT mayores a 28 se interpretaron como MTB detectado muy bajo.

Esta característica de la PCR en tiempo real permite que el Xpert sea considerado como una prueba semicuantitativa, es decir, nos permitió determinar la carga de bacterias en la muestra inicial. Como observación, no olvidar que el rendimiento de la prueba depende directamente de la calidad de la muestra.

Informes de los resultados

Transcurrido el tiempo necesario para el procesamiento de las muestras, los resultados emitidos por el software del GeneXpert fueron registrados e interpretados en base al manual de procedimientos del equipo.

Análisis Estadístico

Para la descripción de forma estadística de los resultados del estudio se utilizó

como herramienta principal el paquete Microsoft Office LTSC Standard 2021 / Excel.

A través de tabla 2x2 se calcularon los atributos de las pruebas diagnósticas, como sigue:

- Sensibilidad: Es la proporción de individuos enfermos en los que la prueba es positiva y se obtiene como sigue: $\text{Sensibilidad} = a/(a+c)$.
- Especificidad: Es la proporción de individuos sanos en los que la prueba es negativa y se obtiene así: $\text{Especificidad} = d/(b+d)$.

La sensibilidad y especificidad se presentan como porcentajes y a medida que ambos índices se acerquen a 100% se considera que la prueba es más efectiva.

Sin embargo, al clínico también le puede interesar conocer, cuando la prueba es positiva ¿cuál es la probabilidad de que el individuo realmente tenga la enfermedad?, o si la prueba es negativa ¿cuál es la probabilidad de que esa persona realmente no tenga la enfermedad?, lo anterior se conoce como el valor de predicción de una prueba, varía en relación con la prevalencia de la enfermedad estudiada y se puede obtener como sigue:

- Valor de predicción positivo: Se enuncia como la capacidad que tiene una prueba, cuando es positiva, de predecir que el paciente tiene la enfermedad y se puede estimar dividiendo a los verdaderos positivos (a) entre los verdaderos y falsos positivos (a+b): $\text{VPP} = a/(a+b)$.

- Valor de predicción negativo: Es la capacidad de una prueba diagnóstica, cuando es negativa, de predecir que el paciente no tiene la enfermedad y se estima dividiendo a los verdaderos negativos (d) entre los falsos y verdaderos negativos (c+d): $\text{VPN} = d/(c+d)$.

La exactitud o eficiencia de una prueba diagnóstica utiliza todos los valores de la tabla 2 X 2 y se obtiene dividiendo la suma de los verdaderos positivos (a) con los verdaderos negativos (d) entre la suma de todos los valores (a+b+c+d), de la siguiente manera:

$$\text{Exactitud} = (a+d)/(a+b+c+d).$$

Si lo que se desea cuantificar es el grado de acuerdo o consistencia entre dos observaciones (concordancia intraobservador o interobservador), la tabla 2 x 2 permite hacerlo a través de la cuantificación de: a) el porcentaje de concordancia, es decir la proporción de observaciones en las cuales dos observaciones emiten resultados iguales o b) el coeficiente kappa.

El porcentaje de concordancia absoluto es igual a la suma de las concordancias dividido entre el total de observaciones, es decir: $(47 + 45)/106 = 87\%$. Sin embargo, con esta medición no se elimina la concordancia debida al azar.

Una medida más adecuada para estimar la concordancia entre dos observadores si la variable es dicotómica, es el coeficiente kappa (κ), el cual descarta la proporción de la concordancia debida al azar. Se calcula con la siguiente ecuación:

$$\kappa = (P_o - P_c) / (1 - P_c)$$

Donde:

P_o es la concordancia observada = $(a + d)/n$

P_c es la concordancia esperada debida al azar = $\{[(a+b)/n] \cdot [(a+c)/n]\} + \{[(b+d)/n] \cdot [(c+d)/n]\}$

Los valores de kappa varían desde -1 a +1, en donde menos de 0 indica una deficiente concordancia y a medida que el valor se acerca a +1 la concordancia va en aumento.

RESULTADOS

Para estimar el rendimiento diagnóstico de las pruebas rápidas inmunocromatograficas, asumiendo como prueba confirmatoria al GeneXpert, se procesaron 87 muestras provenientes de pacientes atendidos en el laboratorio de salud pública Dr. Armando Ortega en el periodo de tiempo de Abril- Mayo 2023.

Con respecto a los de casos de tuberculosis se encontró que con el método GeneXpert (método confirmatorio) la frecuencia fue de 14,9% (n=13/87), mientras que de la prueba de diagnóstico rápido (PDR) fue de 21,8% (n=19/87), ambos métodos coincidieron en una frecuencia de 6,9% (n= 6/87). Se observó que el número de casos negativos fue el predominante en ambos casos, en el caso de PDR con 78,2% (n=68/87) mientras que con el sistema GeneXpert fue de 85,1% (n=74/87) coincidiendo ambos en 70,1% (n= 61/87). Referente a la sensibilidad de las pruebas de diagnóstico rápido frente al GeneXpert se encontró que la sensibilidad fue 46,15%, la especificidad 82,43%, el valor predictivo positivo 0,32, el valor predictivo negativo 0,90, eficiencia 0,77 y el índice kappa 0,79, respectivamente (tabla N°1)

En relación a la comparación de los resultados obtenidos por el GeneXpert con la Baciloscopia convencional se encontró que con Baciloscopia la frecuencia de casos positivos de tuberculosis fue de 11,5% (n=10/87) coincidiendo con el GeneXpert en 6,9% (n=6/87). Con respecto a los resultados negativos por Baciloscopia se obtuvo 78,2% (n=68/87) coincidiendo con el GeneXpert en 70,1% (n= 61/87). En cuanto a los medidores de desempeño se encontró que la sensibilidad fue de 46,15%, la especificidad 94,60%, el valor predictivo positivo 0,67, el valor predictivo negativo 0,90, eficiencia 0,87 y el índice kappa 0,67 (tabla N°2)

Acerca de la comparación de los resultados obtenidos por el GeneXpert con el IGRA se observó una frecuencia de casos positivos de 18,4% (n=16/87). En concordancia con el GeneXpert se obtuvo una frecuencia de 3,4% (n=3/87). Con respecto a los casos negativos por parte de la técnica de IGRA se encontró que el número de casos negativos fue el predominante siendo este de 81,6% (n=71/87) concordando con el GeneXpert en un 70,1% (n= 61/87). Sobre los indicadores de desempeño de la técnica de IGRA tenemos la sensibilidad de 23,08%, la especificidad 82,43%, el valor predictivo positivo 0,19, el valor predictivo negativo 0,86, eficiencia 0,74 y el índice kappa 0,82 (tabla N°3)

En contraposición de las técnicas de Baciloscopia y PDR tenemos que con respecto a los casos positivos coincidieron ambos métodos en 6,9% (n=6/87) mientras que en los casos negativos fue de 73,6% (n=64/87) y su índice kappa fue de 0,79 (tabla N°4)

Sobre la comparación del IGRA frente a la pruebas de diagnóstico rápido tenemos una frecuencia de casos positivos en donde ambas técnicas concordaron en 11,5% (n=10/87) mientras que en los casos negativos estas coincidieron en 71,3% (n=62/87) y su índice kappa fue de 0,79 (tabla N°5)

Tabla N°1

**RENDIMIENTO DE LAS PRUEBAS DE DIAGNOSTICO RAPIDO (PDR) EN
EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS EN RELACION CON LA
TECNICA CONFIRMATORIA (GENEXPERT). LABORATORIO DE SALUD
PUBLICA “Dr. ARMANDO ORTEGA, ESTADO BOLIVAR. PERIODO Abril –
Mayo 2023.**

PDR	GENEXPERT				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		n	%
	n	%	n	%		
POSITIVO	6	6,9	13	14,9	19	21,8
NEGATIVO	7	8,0	61	70,1	68	78,2
TOTAL	13	14,9	74	85,1	87	100,0
SENSIBILIDAD	46,15					
ESPECIFICIDAD	82,43					
VPP	0,32					
VPN	0,90					
EFICIENCIA	0,77					
INDICE KAPPA	0,79					

Tabla N°2

**RENDIMIENTO DIAGNÒSTICO DE BACILOSCOPIA EN EL
DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS EN RELACION CON LA TECNICA
CONFIRMATORIA (GENEXPERT). LABORATORIO DE SALUD PUBLICA
“Dr. ARMANDO ORTEGA, ESTADO BOLIVAR. PERIODO Abril – Mayo
2023.**

BACILOSCOPIA	GENEXPERT				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		n	%
	n	%	n	%	n	%
POSITIVO	6	6,9	4	3,4	10	11,5
NEGATIVO	7	8,0	70	70,1	77	88,5
TOTAL	13	14,9	74	85,1	87	100,0
SENSIBILIDAD	46,15					
ESPECIFICIDAD	94,60					
VPP	0,67					
VPN	0,90					
EFICIENCIA	0,87					
INDICE KAPPA	0,67					

Tabla N°3

**RENDIMIENTO DIAGNÒSTICO DE TEST DE LIBERACION DE
INTERFERON GAMMA (IGRA) EN EL DIAGNOSTICO DE
TUBERCULOSIS EN RELACION CON LA TECNICA CONFIRMATORIA
(GENEXPERT). LABORATORIO DE SALUD PUBLICA “Dr. ARMANDO
ORTEGA, ESTADO BOLIVAR. PERIODO Abril – Mayo 2023.**

IGRA	GENEXPERT				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		n	%
	n	%	n	%		
POSITIVO	3	3,4	13	14,9	16	18,4
NEGATIVO	10	11,5	61	70,1	71	81,6
TOTAL	13	14,9	74	85,1	87	100,0
SENSIBILIDAD	23,08					
ESPECIFICIDAD	82,43					
VPP	0,19					
VPN	0,86					
EFICIENCIA	0,74					
INDICE KAPPA	0,82					

Tabla N°4

**RELACION DE RESULTADOS OBTENIDOS ENTRE LA PRUEBA DE
DIAGNOSTICO RAPIDO (PDR) Y LA TECNICA DE BACILOSCOPIA
COMO METODOS PARA EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS.
LABORATORIO DE SALUD PUBLICA “Dr. ARMANDO ORTEGA, ESTADO
BOLIVAR. PERIODO Abril – Mayo 2023**

PDR	BACILOSCOPIA				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		n	%
	n	%	n	%		
POSITIVO	6	6,9	13	14,9	19	21,8
NEGATIVO	4	4,6	64	73,6	68	78,2
TOTAL	10	11,5	77	88,5	87	100,0
INDICE KAPPA	0,79					

Tabla N°5

**CONCORDANCIA DE RESULTADOS OBTENIDOS ENTRE LA PRUEBA DE
DIAGNOSTICO RAPIDO (PDR) Y EL ENSAYO DE LIBARACION DE
INTERFERON GAMMA (IGRA) COMO METODOS PARA EL
DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS. LABORATORIO DE SALUD
PUBLICA “Dr. ARMANDO ORTEGA, ESTADO BOLIVAR. PERIODO Abril –
Mayo 2023**

PDR	IGRA				Total	
	POSITIVO		NEGATIVO		n	%
	n	%	n	%		
POSITIVO	10	11,5	9	10,3	19	21,8
NEGATIVO	6	6,9	62	71,3	68	78,2
TOTAL	16	18,4	71	81,6	87	100,0
INDICE KAPPA	0,79					

DISCUSIÓN

El método más utilizado para detectar tuberculosis (TB) en la mayoría de los países donde la enfermedad es endémica es la baciloscopia de esputo, que ya tiene 125 años de antigüedad, esta técnica posee algunos inconvenientes, como la baja sensibilidad, en particular cuando se evalúa a personas viviendo con VIH y a los niños; la incapacidad para determinar la farmacosenibilidad y la variabilidad de los resultados, que dependen de la capacitación y la voluntad de quienes la realizan (PAHO, 2011)

Con el advenimiento de la biología molecular y su incorporación creciente como método de diagnóstico los resultados se hacen más certeros, debido a que el diagnóstico se hace a través de material nuclear, por lo tanto, la sensibilidad es mucho más alta. Por esto se asume que el diagnóstico confirmatorio es por biología molecular a través del método GeneXpert. Un estudio realizado en Uruguay por Amaya et al. (2020) evaluó el rendimiento del Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB utilizando el cultivo como patrón de referencia y comparó el rendimiento del GeneXpert con la baciloscopia. En dicho estudio se observó que el Xpert obtuvo una sensibilidad de 80% y una especificidad de 99,5%, mostrando un buen perfil de sensibilidad y especificidad. Por otro lado, al comparar la baciloscopia con el sistema GeneXpert la sensibilidad fue 44,4% y la especificidad de 99,4%, dejando ver la similitud de sus resultados con los de este estudio.

Acosta-Sánchez, et al. (2022) señalaron que la determinación de GeneXpert en el diagnóstico de la tuberculosis es más precisa dada su sensibilidad y especificidad altas en relación con estudios de cultivo, lo cual confirmaron por la elevada concordancia del índice kappa. Sin embargo, en vista de que Venezuela es un país en vías de desarrollo es difícil acceder a esta técnica, desencadenando que a pesar de que

el sistema GeneXpert sea mucho más sensible y específico, no esté al alcance de todos los laboratorios. Por esta razón para el diagnóstico de tuberculosis se acude a las técnicas convencionales como la Baciloscopia que si bien es reconocida a nivel internacional también existen los métodos de diagnóstico indirecto mediante los análisis de sangre que permiten hacer un diagnóstico rápido para determinar tuberculosis activa o latente. (CDC, 2022)

Para las PDR se encontró una frecuencia de casos positivos de 21,8%, al visualizar los medidores de rendimiento diagnóstico de la prueba se encontró una sensibilidad de 46,15%, especificidad de 82,43%, VPP de 0.32, VPN de 0.90 y un índice kappa de 0.79. El VPP está disminuido y el VPN está considerablemente aumentado. Por lo tanto, la PDR es de utilidad para el descarte de positividad en pacientes que no tengan sintomatología respiratoria, ya que el VPN indica que los resultados negativos que se obtengan en dicha prueba son verdaderamente negativos.

En un estudio realizado por Garcia-Cruz en México (2011) se analizó la Prueba Rápida Inmunológica Mexicana (PRIM) la cual tiene el mismo principio de inmunocromatografía de flujo lateral, considerando como estándar de oro el cultivo y los datos clínicos, mostrando una sensibilidad de 79.2 %, la especificidad de 100%, VPP 100 %, VPN 82.6 % y un índice kappa de 0.83. La PRIM obtuvo buenos resultados en sus medidores de rendimiento a diferencia del casete de prueba rápida de tuberculosis utilizado en este estudio. Esta discrepancia podría estar asociada a que el antígeno utilizado por cada una es diferente. Además, la sensibilidad de las pruebas rápidas puede variar según el momento de la infección (Dines J. et al, 2022)

La sensibilidad que se encontró en el test de liberación de interferón gamma (IGRA) fue 23,08%, esta se encuentra considerablemente disminuida pues debería ser superior a los resultados obtenidos, teniendo en cuenta que el IGRA mide la respuesta del organismo frente a la infección tuberculosa. El test de IGRA detecta una infección

latente, pero que tiene posibilidades de activarse, por lo tanto no se justifica que la sensibilidad se encuentre tan baja porque incluso un paciente con tuberculosis activa este estaría positivo.

Se puede asumir entonces que este resultado se debe a que la respuesta celular de los pacientes está disminuida, esto puede ser por distintas causas como desnutrición, infecciones virales, infecciones de larga data u otras comorbilidades como una infección por VIH, diabetes tipo 1, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico u otras enfermedades inflamatorias. A pesar de su sensibilidad disminuida su especificidad de 82.43% y VPN de 0.86 la hacen de utilidad en el descarte de tuberculosis latente en pacientes que vayan a recibir algún tratamiento biológico. Estos tratamientos tienen como efecto secundario que conducen a un mayor riesgo de activación de la enfermedad (Singh et al., 2011)

Al comparar los resultados de Baciloscopia con los obtenidos por pruebas de diagnóstico rápido (PDR) se encontraron casos positivos de Baciloscopia y PDR que coincidieron en un 6,9%, mientras que los casos negativos coincidieron en 73,6%. Hay que tomar en cuenta que ambos métodos poseen una sensibilidad disminuida. Sin embargo, para que la Baciloscopia tenga un 50% de posibilidades de detectar la tuberculosis, deben existir entre cinco mil a diez mil bacilos por ml. de expectoración. Solo cuando el número de bacilos alcanza a más de 100.000 por ml. de expectoración, se pueden esperar resultados consistentemente positivos. Por lo tanto, una ventaja de la baciloscopia frente a las PDR es que tomar muestras seriadas de esputo puede aumentar la sensibilidad de la Baciloscopia, ya que puede detectar más bacilos en diferentes momentos (Nava-Paz et al., 2005)

Con relación a la concordancia del test de IGRA con las PDR se obtuvo un 11,5% de casos positivos y un 71,3 % de casos negativos en los que coincidieron ambos métodos. Sin embargo a pesar de que tanto el IGRA como las PDR son

pruebas inmunológicas, estas deben utilizarse en diferentes grupos de pacientes. Las PDR son de mayor utilidad en el descarte de positividad para tuberculosis activa en pacientes asintomáticos respiratorios, mientras que el test de IGRA está más orientado al descarte de tuberculosis latente.

Relacionado al diagnóstico se encontró una frecuencia de casos de tuberculosis confirmados de 21,8%, esto coincide con Bermejo y Clavera (2017), que afirmaron que la tuberculosis es más frecuente en países en vía de desarrollo. En Venezuela, se cuentan con pocos datos oficiales, sin embargo en estudios anteriores se ha informado que la tuberculosis ha sido un problema constante, con un número de casos que ha ido creciendo.

El diagnóstico de tuberculosis en países en vías de desarrollo como Venezuela se hace complicado tanto por el acceso a las pruebas diagnósticas, como por el comportamiento de los pacientes y las pautas oficiales para el diagnóstico. Es importante a tener en cuenta que las pruebas diagnósticas tienen una utilidad y deben ser empleadas en el momento adecuado de la infección, bajo una indicación e interpretación apropiada, en base a la historia del paciente y a su epidemiología.

CONCLUSIÓN

Se confirmó un 14,9% de casos positivos de tuberculosis, tomando como método confirmatorio el sistema GeneXpert. La frecuencia de casos positivos por Baciloscopia fue de 11,5%, mientras que en las pruebas de IGRA y PDR los porcentajes positivos fueron de 18,4% y 21,8%, respectivamente.

Los resultados de la prueba de diagnóstico rápido (PDR) muestran que posee una sensibilidad de 46,15%, y una especificidad de 82,43% lo que pone en duda la confiabilidad de sus resultados positivos y la hace no recomendada para el diagnóstico definitivo de tuberculosis. Por otro lado, su valor predictivo negativo de 0,90 es considerable para que sus resultados negativos sean tomados como verdaderos, indicando su utilidad para el descarte de positividad de tuberculosis en pacientes asintomáticos.

El test de IGRA obtuvo una sensibilidad de 23,08%, aún más baja que la de las PDR, y una especificidad de 82,43%. Su VPP y VPN resultaron bajos, por lo que tampoco se considera un método para el diagnóstico definitivo de tuberculosis. Es por ello que su uso es de mayor utilidad para el diagnóstico de tuberculosis latente en pacientes asintomáticos.

Con respecto a la Baciloscopia se observó una sensibilidad de 46,15% y una especificidad de 94,49%. Su VPP de 0,67 y su VPN de 0,90, siendo los más elevados de la investigación, la mantienen como una prueba útil en el diagnóstico de la tuberculosis activa en pacientes con sintomatología respiratoria.

RECOMENDACIONES

Realizar más estudios referentes al tema, donde se tomen en cuenta datos epidemiológicos o el sistema inmunitario del paciente.

Incitar el uso de tests de IGRA en pacientes oncológicos o pacientes que vayan a recibir un tratamiento que cause que su sistema inmunitario se desplome.

Fomentar la toma de muestras seriadas de esputo para baciloscopia, con el fin de aumentar la sensibilidad de la técnica y si se tiene la posibilidad, hacer un diagnóstico confirmatorio con el sistema GeneXpert.

Promover la capacitación del personal de laboratorio en el uso de técnicas especializadas con biología molecular.

Impulsar la aplicación de las diferentes técnicas para el diagnóstico de tuberculosis en el momento más adecuado, de acuerdo a la sintomatología e historia clínica de cada paciente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acosta-Sánchez D.R., Domínguez-Sánchez L., López-González J., Duarte-Grandales S. 2022. GeneXpert como método de diagnóstico de la tuberculosis en Santiago de Cuba. MEDISAN [Serie en línea] 26 (2): 255-265. Disponible: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192022000200255&lng=es [Mayo, 2023]
- Advin Biotech. 2021. Casette de prueba rápida de tuberculosis (Sangre completa / suero / plasma). [Serie en línea]. Disponible: <https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2021/03/Inserto-Advin-Tuberculosis-ITB-C41.pdf> [Mayo, 2023]
- Amaya G., Contrera M., Arrieta F., Montano A., Pérez C. (2020). Rendimiento del GeneXpert en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar en la edad pediátrica. Arch. Pediatr. Urug. [Serie en línea]. 91 (2): 12-23. Disponible: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-12492020000800012 [Septiembre, 2023]
- Andueza-Orduna, J., Pérez-Trullén, A., Suárez-Pinilla, F.J. y Moreno-Iribas, C. 2000. Factores de riesgo asociados a la tuberculosis respiratoria. Elsevier [Serie en Línea] 36 (7). Disponible: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-factores-riesgo-asociados-tuberculosis-respiratoria-12964> [Mayo, 2023]

Carrillo-Cunalata, D.N. 2014. Influencia de la Tuberculosis Pulmonar en la Calidad de Vida de los Pacientes Atendidos en el Área de Salud N.- 2 Período Enero - Diciembre 2013. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Técnica de Ambato. pp 170 (Multígrafo)

Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). 2023. Liderando el progreso para poner fin a la Tuberculosis. [En Línea]. Disponible: <https://www.cdc.gov/globalhivtb/who-we-are/about-us/globaltb/globaltb.html> [Mayo, 2023]

Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. 2013 (CDC). Pruebas de detección de Tuberculosis. [En Línea]. Disponible: <http://www.cdc.gov/tb/esp/topic/testing/pruebas-de-detecci%C3%B3n-de-tuberculosis.htm> [Mayo, 2023]

Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. 2022 (CDC) Preguntas y respuestas sobre la tuberculosis.. [En Línea]. Disponible: https://www.cdc.gov/tb/publications/faqs/default.htm?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Ftb%2Fpublications%2Ffaqs%2Fqa_tbdisease.htm [Mayo, 2023]

Cepheid. 2019. Nuestra misión e historia. [En Línea]. Disponible: <https://www.cepheid.com/es/about/mission-history> [Mayo, 2023]

Cepheid. 2020, Julio. Xpert® MTB/RIF. [En Línea]. Disponible: <https://www.cepheid.com/content/dam/www-cepheid-com/documents/package-insert-files/Xpert-MTB-RIF->

SPANISH-Package-Insert-301-1404-ES-Rev-G.pdf [Junio, 2023]

Fundación Mundial de Investigación y Prevención de Tuberculosis. 2012. Preguntas frecuentes sobre el método Xpert MTB/RIF. [En Línea]. Disponible:

https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Preguntas_frecuentes_Xper_MTB-RIF_final.pdf [Septiembre, 2023]

Instituto de Salud Pública de Chile. 2019. Manual de Procedimientos Técnicos para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. [Serie en línea]. Disponible:

<https://www.ispch.cl/sites/default/files/Manual%20de%20procedimientos%20t%C3%A9cnicos%20para%20el%20diagn%C3%B3stico%20bacteriol%C3%B3gico%20de%20la%20TBC.pdf> [Mayo, 2023]

López-Medina, V.J., Rojas-Martínez, C.M. 2023. Rendimiento Diagnóstico del Sistema Genexpert en comparación con la coloración de Ziehl-Neelsen. Trabajo de Grado. Departamento de Parasitología y Bacteriología. Esc. Cs. Salud. Bolívar U.D.O. pp 50 (Multígrafo)

López-Romero W., Flores-Valdez M., Camacho-Villegas T.A. 2019. Métodos actuales empleados para el diagnóstico de tuberculosis y su eficacia en diversos entornos clínicos. Rev. Sal. Jal. [Serie en línea] 6 (3). Disponible:

<https://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2019/sj193e.pdf> [Mayo, 2023]

- Lyashchenko KP, Singh M, Colangeli R, Gennaro ML. 2000. Un inmunoensayo de impresión multiantígeno para el desarrollo del diagnóstico serológico de enfermedades infecciosas. *Revista de métodos inmunológicos*. [Serie en línea] 242 (1-2): 91-100. DOI: 10.1016/s0022-1759(00)00241-6. PMID: 10986392.
- Lyashchenko, K., Colangeli, R., Houde, M., Al Jahdali, H., Menzies, D. y Gennaro, M.L. 1998. Heterogeneous antibody responses in tuberculosis. *Rev. ASM* [Serie en línea] 66 (8), 3936–3940. Disponible: <https://doi.org/10.1128/IAI.66.8.3936-3940.1998> [Mayo, 2023]
- Mederos-Cuervo, L.M., Martínez-Romero, M.R., Sardiñas-Aragón, M., García León, G., Pereira Gross, E.G., Díaz Rodríguez, R. 2020. Aplicabilidad de la herramienta molecular GeneXpert MTB/RIF en el diagnóstico de Tuberculosis. *Rev. CENIC Cienc. Biol.* [Serie en línea] 51(3): 173-180. Disponible: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24502020000300173&lng=es&tlng=es [Mayo, 2023]
- Munyangaju, I., García-Basteiro, A., López-Varela, E. y Saura-Lázaro, A. 2022. ¿Cómo ha afectado la COVID-19 a la lucha global contra la tuberculosis? [En Línea]. Disponible: <https://www.isglobal.org/-/como-ha-afectado-la-covid-19-a-la-lucha-global-contra-la-tuberculosis-> [Mayo, 2023]
- Nava-Paz, O., Hassanhi, M. y Prieto, L. 2005. Evaluación de la baciloscopía, cultivo y reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. *Kasmera* [Serie en Línea] 33(2): 119-131. Disponible:

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222005000200005&lng=es&tlng=es [Mayo, 2023]

Navarro-Ballester, A. 2017. Hallazgos radiológicos de la tuberculosis pulmonar y su correlación con la presencia de cultivo positivo para *Mycobacterium tuberculosis*. Tesis de Ascenso. Universitat Jaume I. pp 216 (Multígrafo).

Observatorio Venezolano de la Salud (OVS). 2017. Tuberculosis. [Serie en Línea]. Disponible: <https://www.ovsalud.org/boletines/salud/tuberculosis/> [Septiembre, 2023]

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2021. Informe mundial sobre la tuberculosis 2021. [Serie en Línea]. Disponible: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021> [Mayo, 2023]

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2019. Infección Latente por Tuberculosis. Directrices Actualizadas y Unificadas para el Manejo Programático. Edit OMS. Washington, D.C. pp 88.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2022. Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 3: Diagnóstico. Métodos de diagnóstico rápido para la detección de la tuberculosis. [Serie en Línea]. Disponible: <https://doi.org/10.37774/9789275325391> [Mayo, 2023]

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2023. Tuberculosis. [En Línea]. Disponible: <https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis> [Mayo, 2023]

Oubiña M., Bardach A., Pichón-Riviere A., García Martí S., Augustovski F., Alcaraz A., Ciapponi A., et al. 2014. Test de Liberación de interferón Gamma para el diagnóstico de Tuberculosis. Documentos de evaluación de tecnologías sanitarias, Informe de respuesta rápida N 372. [Serie en línea]. Disponible: <https://www.iecs.org:ar>. [Mayo, 2023].

Puñal-Riobóo, J., Queiro-Verdes, T. 2010. Interferón- γ release assays (IGRAs) en el diagnóstico de la infección y enfermedad tuberculosa. Sistema de detección de tecnologías nuevas y emergentes (DETECTA-T). Inf. Ev. Tec. Sanit. [Serie en línea] 1 (1) Disponible: <https://extranet.sergas.es/catpb/Docs/gal/Publicaciones/Docs/avalia-t/PDF-2017-ga.pdf> [Mayo, 2023].

Qiagen. 2017, Agosto. QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus). [En Línea]. Disponible: <https://www.qiagen.com/es-us/products/diagnostics-and-clinical-research/tb-management/quantiferon-tb-gold-plus-us> [Junio, 2023]

Ramírez-Rivera, N.A., Cocotle Ronzón, B.E., Méndez Pérez, A., Arenas Benhumea J. 2002. Mycobacterium tuberculosis: Su pared celular y la utilidad diagnóstica de las proteínas 16 y 38 kDa. Rev Med de la Universidad Veracruzana [Serie en línea] 2 (2).

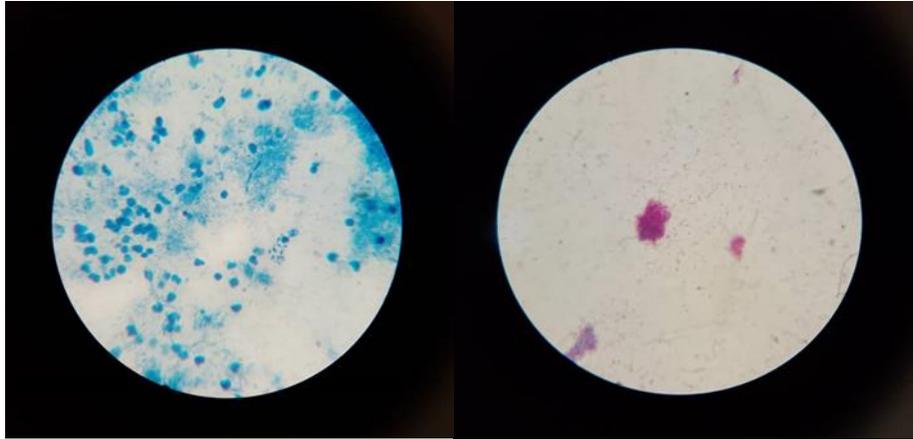
Disponible:https://www.uv.mx/rm/num_antteriores/revmedica_vol2_num2/articulos/mycobaterium.html [Mayo, 2023].

- Ramos-Ávila, R. 2018, Abril. Tuberculosis Latente y los Test IGRA. [En línea]. Disponible: <https://annardx.com/tuberculosis-latente-y-los-test-igra/> [Mayo, 2023].
- Rondón-Velásquez, P.L., Zambrano-Fernández, J.L. 2022. Rendimiento Diagnóstico de la Tinción de Kinyoun frente a la prueba de Reacción en Cadena de Polimerasa (Genexpert) para el diagnóstico de Mycobacterium tuberculosis. Trabajo de Grado. Departamento de Parasitología y Microbiología. Esc. Cs. Salud. Bolívar U.D.O. pp 50 (Multígrafo)
- Ryan, K.J., Ray, C.G. 2015. Sherris Microbiología Médica. Edit Elsevier. Barcelona, España. 6°ed. pp 1216.
- Salvador-Álvarez, M. 2021. Tuberculosis - Síntomas y causas. [En Línea]. Disponible: <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/tuberculosis/symptoms-causes/syc-20351250> [Mayo, 2023]
- Sánchez-Gutiérrez, G., Martínez-Padilla, E. 2018. Tuberculosis en Venezuela un problema constante. Rev. Ven. Sal. Pub. [Serie en Línea] 6 (2). Disponible: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/234/234997007/html/> [Mayo, 2023]
- Sánchez-Monge M. 2021. Tuberculosis. [En Línea]. Disponible: <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/infecciosas/tuberculosis.html> [Mayo, 2023]

- Sardiñas, M., García G., Rosarios Martínez M., Díaz R., Mederos L.M. 2016. Importancia del Control de Calidad de la Baciloscopía en laboratorios que realizan diagnósticos de tuberculosis. *Rev. chil. Infectol.* [Serie en Línea] 33 (3): 282-286. Disponible: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000300005>
- Sarmiento-Galván, D.K. 2014. Costos Tangibles e Intangibles de la Tuberculosis Pulmonar y sus Comorbilidades en Pacientes Adscritos al HGR No. 1. Trabajo de Ascenso. Instituto Mexicano del Seguro Social. Universidad Veracruzana. pp 66 (Multígrafo)
- Shah M., Hanrahan C, Wang Z.Y., Dendukuri N., Lawn S.D., Denkinger C.M., Steingart K.R. 2016. Lateral flow urine lipoarabinomannan assay for detecting active tuberculosis in HIV-positive adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* [Serie en Línea] (5):CD011420. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4916932/> [Junio, 2023]
- Singh J. A., Wells G. A., Christensen R., Tanjong-Ghogomu E., Maxwell L. J., MacDonald J. K., Filippini G., Skoetz N., Francis D. K., Lopes L. C., Guyatt G. H., Schmitt J., La Mantia L., Weberschock T., Roos J. F., Siebert H., Hershan S., Cameron C., Lunn M. P. T., Tugwell P., Buchbinder R. 2011. Efectos secundarios de nueve productos biológicos utilizados habitualmente. [En Línea]. Disponible: https://www.cochrane.org/es/CD008794/MUSKEL_efectos-secundarios-de-nueve-productos-biologicos-utilizados-habitualmente [Junio, 2023]

Vásquez Chávez, I.L., Salazar Batres, C.B. 2018. Desempeño de la prueba de QuantiFERON-Tb Gold Plus en el diagnóstico de tuberculosis latente en pacientes que asisten a una clínica de atención en VIH en un hospital público en Guatemala. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala. pp 54 (Multígrafo).

ANEXOS



Anexo 1

Muestras de esputo observadas por Baciloscopia



Anexo 2

Observación de las muestras procesadas (Br. Isabel Antico y Br. Reinaldo Alfonzo)

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	RENDIMIENTO DE LAS PRUEBAS RAPIDAS INMUNOLOGICAS EN RELACIÓN A MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS CONVENCIONALES Y CONFIRMATORIOS
---------------	---

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Alfonzo Sánchez, Reinaldo José	CVLAC: 26.870.216 E MAIL: r3iinaldo@gmail.com
Antico Rodríguez, Isabel Verona	CVLAC: 28.356.447 E MAIL: anticoisabel1998@gmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Tuberculosis
Baciloscopia
IGRA
GeneXpert
PDR

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA y/o DEPARTAMENTO	SUBÀREA y/o SERVICIO
Dpto de Bioanálisis	Microbiología
	Bacteriología

RESUMEN (ABSTRACT):

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica que puede producir daño a diversos órganos, especialmente a los pulmones. En el siglo XXI sigue siendo un problema de salud pública asociado a países en vías de desarrollo. Por ello se han desarrollado diferentes técnicas para diagnosticarla, desde la Baciloscopia, pruebas inmunológicas y de biología molecular (GeneXpert). Con el fin de señalar el rendimiento diagnóstico de estas pruebas se realizó esta investigación en muestras que fueron procesadas en el laboratorio de salud pública Dr. Armando Ortega, adscrito al Instituto de Salud Pública del Estado Bolívar. Las muestras obtenidas fueron procesadas a través de las técnicas de Baciloscopia, GeneXpert, pruebas de diagnóstico rápido (PDR) y liberación de interferón gamma (IGRA). Se encontró que por GeneXpert la frecuencia de casos confirmatorios fue 14,9%, mientras que por Baciloscopia fue 11,5%, al aplicar PDR fue 21,8% e IGRA fue 18,4%. En relación al rendimiento diagnóstico de las técnicas se observó una sensibilidad en general por debajo del 50% y una especificidad alrededor del 80%.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
Msc. Iván Amaya	ROL	CA	AS	TU(x)	JU
	CVLAC:	12.420.648			
	E_MAIL	rapomchigo@gmail.com			
	E_MAIL				
Msc. Marielis Chahla	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	15.468.033			
	E_MAIL	mchahla@gmail.com			
	E_MAIL				
Lcdo. Fernando Linares	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	24.850.713			
	E_MAIL	fernando.lch17@gmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				
	CVLAC:				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2023 AÑO	10 MES	18 DÍA
--------------------	------------------	------------------

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis rendimiento de las PDR inmunologicas en relación a métodos de TBC convencionales y confirmatorios	. MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: Laboratorio regional de Baciloscopia del Complejo Hospitalario Universitario “Ruiz y Páez” y al Laboratorio de Salud Pública Dr. Armando Ortega

TEMPORAL: 10 AÑOS

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO:

Dpto. de Bioanálisis

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *Mazley*
FECHA *5/8/09* HORA *5:20*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

Juan A. Bolaños Cunele
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telesinformática, Coordinación General de Postgrado.
JABC/YGC/mariya

Apartado Correos 094 / Telf: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

"Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario "

AUTOR(ES)

Br. ANTICO RODRÍGUEZ ISABEL VERONA
C.I. 28356447
AUTOR

Br. ALFONZO SÁNCHEZ REINALDO JOSÉ
C.I. 26870216
AUTOR

JURADOS

TUTOR: Prof. IVAN AMAYA
C.I.N. / 2420648

EMAIL: RAPONChigo@gmail.com

JURADO Prof. FERNANDO LINARES
C.I.N. 24.850.713

EMAIL: fernando.LCh13@gmail.com

JURADO Prof. MARIELYS CHAHLA
C.I.N. 15.468.033

EMAIL: mchahla@gmail.com

P. COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO

DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS

Avenida José Méndez c/c Colimbo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela
Teléfono (0285) 6324976