



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

**ACTA**

**TGB-2023-02-07**

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. ANTONELLA ANTONUCCI Prof. IVAN AMAYA y Prof. FERNANDO LINARES, Reunidos en: Salón de reuniones de Parasitología y Microbiología

a la hora: 2:00 pm

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

**RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL SISTEMA GENEXPERT EN COMPARACIÓN CON LA COLORACIÓN DE ZIEHL-NEELSEN**

Del Bachiller **ROJAS MARTÍNEZ CLAUDIA MISHELLE** C.I.: 26374478, 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 15 días del mes de Marzo de 2023.

  
**Prof. ANTONELLA ANTONUCCI**  
 Miembro Tutor

  
**Prof. IVAN AMAYA**  
 Miembro Principal

  
**Prof. FERNANDO LINARES**  
 Miembro Principal

  
**Prof. IVAN AMAYA RODRIGUEZ**  
 Coordinador comisión Trabajos de Grado





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

**ACTA**

**TGB-2023-02-07**

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. ANTONELLA ANTONUCCI Prof. IVAN AMAYA y Prof. FERNANDO LINARES, Reunidos en: Salón de Reuniones de Parasitología y Microbiología, a la hora: 2pm, Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

**RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL SISTEMA GENEXPERT EN COMPARACIÓN CON LA COLORACIÓN DE ZIEHL-NEELSEN**

Del Bachiller **LÓPEZ MEDINA VIOMAR JOSÉ C.I.: 27334284**, 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 15 días del mes de Marzo de 2023

*Antonella Antonucci*  
 Prof. ANTONELLA ANTONUCCI  
 Miembro Tutor

*Ivan Amaya*  
 Prof. IVAN AMAYA  
 Miembro Principal

*Fernando Linares*  
 Prof. FERNANDO LINARES  
 Miembro Principal

*Ivan Amaya Rodriguez*  
 Prof. IVAN AMAYA RODRIGUEZ  
 Coordinador comisión Trabajos de Grado



**DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS**

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



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO BOLÍVAR  
ESCUELA CIENCIAS DE LA SALUD  
“DR. FRANCISCO VIRGILIO BATTISTINI CASALTA”  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA

**RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL SISTEMA GENEXPERT  
EN COMPARACIÓN CON LA COLORACIÓN  
DE ZIEHL-NEELEN**

**Tutora Académica:**

Lcda. Antonella Antonucci

**Co-Tutora:**

Lcda. Annalia Rondón

**Trabajo de grado presentado por:**

Br. López Medina, Viomar José

C.I: 27.334.284.

Br. Rojas Martínez, Claudia Mischelle.

C.I: 26.374.478.

**Como requisito parcial para optar al Título de Licenciado en Bioanálisis**

Ciudad Bolívar, marzo de 2023

## INDICE

AGRADECIMIENTO .....	vii
DEDICATORIA .....	viii
DEDICATORIA .....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCION .....	1
JUSTIFICACION .....	12
OBJETIVOS .....	15
Objetivo General .....	15
Objetivos Específicos.....	15
METODOLOGIA .....	16
Tipo de estudio.....	16
Población.....	16
Muestra.....	16
Criterios de inclusión .....	16
Análisis de las muestras .....	20
Examen macroscópico .....	20
Examen microscópico .....	23
Tinción de Ziehl-Neelsen .....	23
Procedimiento de la Técnica .....	24
Informe de los resultados .....	26
GeneXpert Mtb/RIF .....	27
Preparación de la muestra .....	28

Preparación del cartucho: inoculación .....	29
Inserción del cartucho .....	29
Informes de los resultados.....	30
Análisis estadístico.....	31
RESULTADOS.....	32
Tabla 1.....	35
Tabla 2.....	36
Tabla 3.....	37
Tabla 4.....	38
Tabla 5.....	39
Tabla 6.....	40
Tabla 7.....	41
DISCUSION .....	42
CONCLUSIONES .....	47
RECOMENDACIONES .....	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
APÉNDICES.....	57
Apéndice 1 .....	58
Apéndice 2 .....	60
Anexo 1 .....	61
Anexo 2 .....	61
Anexo 3 .....	62
Anexo 4.....	62

Anexo 5 .....	63
Anexo 6 .....	63
Anexo 7 .....	64
Anexo 8 .....	65
Anexo 9 .....	66
Anexo 10 .....	67
Anexo 11 .....	68
Anexo 12 .....	69

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente, a Dios, por bendecirnos día a día, por permitirnos gozar de buena salud, guiarnos por el buen y darnos sabiduría para poder superar los obstáculos que han aparecido a lo largo de nuestra vida.

A la Universidad de Oriente, la Casa Más Alta, por ser una segunda casa durante estos años, de la cual llevamos muchos recuerdos, tanto juntos como separados.

A los profesores que constituyeron parte esencial en nuestra formación como profesionales.

A nuestra tutora, la Lcda. Antonella Antonucci y a la Lcda. Annalia Rondón, Co-Tutora de este trabajo, por ayudarnos y colaborarnos en el procesamiento de muestra y realización de nuestro trabajo de grado.

Al licenciado Ulises Medina, y al personal de los laboratorios involucrados, por permitirnos utilizar sus instalaciones para nuestro trabajo de investigación.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, José Félix Rojas y Denice Martínez, por estar conmigo durante cada paso que di durante mi estancia en la universidad, por motivarme cada vez que quería tirar la toalla y darme palabras de aliento para seguir adelante.

A mis hermanos, Ricardo y Adrián, que de manera directa e indirecta influyeron de manera positiva en mis estudios y en mi desarrollo como persona. A mis abuelitas, quienes siempre creyeron en mí y confiaron en que sería una profesional.

A la familia Brito-Pérez, Jairo, Geno, Beatriz, Jenni y Lupe, por ser mi segunda familia, por apoyarme en las buenas y en las malas, por darme mucho amor y aceptarme como parte de ellos a pesar de no tener lazos de sangre. A mis tíos y primos, que aún sin saber mucho acerca de la carrera me ayudaron a estudiar para las evaluaciones en muchas ocasiones.

A mi querida prima Annalia Rondón, por facilitarme la elección del tema y desarrollo de este trabajo. También por presionarme a ser mejor y tener la confianza en mí que yo no poseía. Al doctor Eduardo Santos y a todo el personal del Laboratorio Clínico Centro Médico Orinoco, por abrirme sus puertas y tratarme como uno más del equipo de trabajo y enseñarme en la práctica lo que no había terminado de comprender con la teoría.

A Mari, por ser mi lugar seguro y alguien con quien puedo contar siempre que lo necesito. A Judy, por no decirme las cosas que quería oír sino las que necesitaba en el momento indicado.

Al team Sin Oficio, porque sin Pedro ni Viomar no hubiera tenido motivación para estudiar, por brindarme su amistad y conocimiento, también por hacerme enojar y llorar de la felicidad, por enseñarme que no siempre la soledad es buena.

A todas las personas que conocí en mi paso por la Universidad, sobre todo a Gloria, Genesis, Wilfredo y Jhoana, por ser las personas más optimistas y colaboradoras que he conocido en mi vida.



**-Claudia Mischelle Rojas Martínez**

## **DEDICATORIA**

Dedico este paso a mis padres Franny Carolina Medina y Oscar Efrén Pulido, a quienes amo, respeto y admiro profundamente. Que este y muchos otros logros me ayuden a retribuirles todo su esfuerzo, su tiempo, y la dedicación que han dispuesto para convertirme en lo que soy hoy.

A mis hermanas Fraybelis y Viomaris, que siempre creen en mí y me motivan a seguir mejorando como persona. Les dedico este momento, en donde estén sepan que todo cuanto logre alcanzar, es suyo también.

A mi amada esposa María Moya, quien no me dejó desmayar en este camino. Estudiando, trabajando, en casa, en la universidad, ella siempre está allí para darme su apoyo y contagiarme de su energía. Sigamos creciendo juntos toda la vida.

Al Team Sin Oficio. Ustedes han hecho esto posible. Me han dado su amistad, su apoyo, su tiempo, su cariño, sus regaños, sus conocimientos y han hecho de todo para que llegáramos hasta este punto. Pedro y Claudia, solo puedo decir gracias.

A mis dos hermanos de otra madre, Fernando Mesa y Amerluis Salazar. Ambos tienen mi respeto y admiración por cómo persiguen sus objetivos hasta lograrlos. Estoy feliz de seguir su ejemplo.

A las grandes personas con las que tuve la oportunidad de compartir ideas, horas de estudio, fiestas y hasta casa. Naimar, Yomar, Gerard, Roberto, Gloria, Gabriela, Diosa, Liz. Estoy muy orgulloso de ustedes, sé que todos se convertirán en los mejores profesionales del Bioanálisis y que gratificante ser su colega.

A todos quienes han estado allí y han formado parte de mi educación, muchísimas gracias por todo lo aprendido.



*-Viomar José López Medina*

## RESUMEN

### RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL SISTEMA GENEXPERT EN COMPARACIÓN CON LA COLORACIÓN DE ZIEHL-NEELSEN

**Autores:** Br. Rojas M., Claudia M. y Br. López M., Viomar J.

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa y una de las principales causas de mortalidad mundial. El diagnóstico microbiológico de (TB) se ha basado tradicionalmente en la realización inicial de una baciloscopia, aislamiento en cultivo de la cepa y en la identificación fenotípica del crecimiento. El auge de casos positivos para Tuberculosis en el país no cesa. La falta de actualización en los métodos de detección, así como la necesidad de áreas especializadas y adecuadas para el análisis y procesamiento de estas muestras infecto contagiosas, dan lugar a incertidumbres sobre la confiabilidad y la sensibilidad de los procesos actualmente aplicados. **Objetivo:** Señalar el rendimiento del sistema GeneXpert en comparación con la tinción de Ziehl-Neelsen en pacientes atendidos en el laboratorio de baciloscopia del Ambulatorio tipo II “La Sabanita”. Abril – Agosto, 2022. **Metodología:** estudio descriptivo, comparativo, experimental y de corte transversal, utilizando muestras pulmonares y extra pulmonares. **Resultados:** Para las muestras procesadas con la tecnología Xpert contra la Baciloscopia aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen los indicadores de desempeños mostraron una sensibilidad de 96,67% para muestras pulmonares y 96.29% para muestras extra pulmonares, una especificidad de 86,96% para muestras pulmonares y 79.52% para muestras extra pulmonares, valores de predicción positivos de 65,91% para muestras pulmonares y 60.47% para muestras extra pulmonares, y de predicción negativos 99,01% para muestras pulmonares y 98.50% para muestras extra pulmonares, además el índice de Kappa se ubicó en 0,72 que en la escala de interpretación se traduce como una concordancia considerable. **Conclusiones:** introducir métodos moleculares para el diagnóstico de *M. tuberculosis*, acortará los tiempos en la entrega de resultados por lotes. Sin embargo, la Baciloscopia, aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen es el método más rápido para la detección de BAR en la relación muestra/resultado.

**Palabras clave:** Tuberculosis (TB), Esputo, Baciloscopia (BK), Ziehl-Neelsen (ZN), GeneXpert MTB/ RIF, Bacilo de Koch, Índice Kappa.

## INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa granulomatosa crónica producida por *Mycobacterium tuberculosis* o bacilo de Koch, que se localiza generalmente en el pulmón, aunque puede afectar otros órganos. Se transmite de persona a persona por inhalación de aerosoles contaminados por el bacilo, que han sido eliminados por los individuos enfermos al toser, estornudar o hablar<sup>1</sup>.

Los bacilos inhalados ingresan al aparato respiratorio hasta llegar a los alveolos. Allí son ingeridos por células que forman parte del sistema inmune inespecífico (macrófagos) que los transportan hacia los ganglios locales. Estos ganglios habitualmente filtran las partículas extrañas e impiden que se desarrolle la enfermedad. En ciertas circunstancias la infección no es contenida en este nivel y se disemina por sangre hacia cualquier órgano. Si el paciente tiene su inmunidad conservada los linfocitos entran a las áreas de infección y junto a macrófagos se organizan en granulomas. Dentro de ellos, las bacterias permanecen vivas pero impedidas de multiplicarse o diseminarse, constituyendo una tuberculosis latente. Es decir, la infección está presente pero controlada por el sistema inmune. Si el sistema inmune falla en organizar la barrera defensiva, los bacilos se replican y se desarrolla una tuberculosis activa<sup>1</sup>.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa y una de las principales causas de mortalidad mundial. Es una patología que se ha mantenido presente por siglos y afecta a todos los estratos sociales. En la última década enfatiza su importancia por el surgimiento de un nuevo reto como es la multirresistencia a los antimicrobianos usuales para su tratamiento. Esto sumado a los problemas inherentes a la enfermedad como son el incremento de condiciones de pobreza, la necesidad de tratamientos con múltiples drogas por periodos prolongados, el debilitamiento de los programas de

control de la misma y el surgimiento de la pandemia del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), hacen que la tuberculosis sea una prioridad para la salud pública<sup>2</sup>.

Aun en el caso que se disponga de una adecuada red de diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los casos, existen factores predisponentes de la TB que determinan su ocurrencia como las condiciones ambientales, sociales, sanitarias e individuales. El hacinamiento, la malnutrición, el SIDA, el abuso de alcohol y las malas condiciones de vida disminuyen la inmunidad posibilitando la aparición de la enfermedad. La diabetes mellitus (DM), inmunosuprime y predispone a la TB<sup>3</sup>.

De las posibles formas clínicas de presentación, la más frecuente en todos los casos es la TB 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<sup>4</sup>.

Las formas de presentación de casos de TB 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 TB. 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 morbi- mortalidad en estos pacientes<sup>4</sup>.

En el año 2015 se estima que hubo 10,4 millones de nuevos casos de tuberculosis (incluidos 1,2 millones de casos en personas VIH positivas), de los cuales 5,9 millones corresponden a hombres, 3,5 millones a mujeres y 1,0 millones a niños. En general, el 90% de los casos fueron adultos y 10% niños, y la proporción hombre-mujer fue de 1,6:1, de los cuales se estimó que hubo aproximadamente 1,4 millones de muertes por tuberculosis y 0,4 millones de muertes como resultado de la tuberculosis en pacientes seropositivos<sup>5</sup>.

Las Naciones Unidas adoptaron en 2015 los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) para 2030; una de sus metas es poner fin a la epidemia mundial de tuberculosis. En la estrategia Fin a la Tuberculosis de la Organización Mundial de la Salud (OMS), aprobada por la Asamblea Mundial de la Salud en 2014, se pide una reducción del 90% de las muertes por TB y una reducción del 80% en su tasa de incidencia para el año 2030<sup>5</sup>.

Entre las estrategias recomendadas por la OMS para estos objetivos resulta de enorme interés práctico aquellas basadas en mejorar de forma determinante los métodos microbiológicos de diagnóstico del caso y de detección de brotes resistentes. Parece coherente y adecuado aplicar para ello métodos de diagnóstico etiológico rápido, especialmente en los pacientes bacilíferos, tratamientos efectivos tanto de la infección como de la enfermedad, así como establecer medidas de prevención y control adecuadas con apoyo institucional como base para su eficacia. Existen circunstancias actuales, como el incremento de la resistencia a fármacos, la coinfección por VIH y la movilidad geográfica relacionada con la inmigración que dificultan esta tarea. Esto supone un mayor trabajo y una mayor dedicación de los organismos estatales e internacionales que deberán coordinar de forma adecuada el control de la tuberculosis a nivel mundial<sup>4</sup>.

El diagnóstico microbiológico de TB se ha basado tradicionalmente en la realización inicial de una baciloscopía, el aislamiento en cultivo de la cepa y en la identificación fenotípica del crecimiento. Aunque el método más rápido, fácil y barato disponible sigue siendo la tinción ácido resistente, su baja sensibilidad (45%-80% sobre muestras con posterior cultivo positivo) limita su utilidad<sup>4</sup>.

La baciloscopía es una prueba capaz de dar un diagnóstico en menos de dos horas, caracterizándose por ser la más económica y la única prueba existente en muchos países en desarrollo. La sensibilidad puede llegar a ser una limitante, debido a que se requieren una gran cantidad de bacterias en la muestra (5 000-10 000 bacilos/mL) para ser positiva. Esto hace que un porcentaje variable de los casos de tuberculosis (entre 30 y el 50 %) no sean bacilíferos, por lo que una baciloscopía negativa nunca descarta la enfermedad. El estudio microscópico del esputo para la búsqueda de bacilos ácido-alcohol resistentes sigue mostrando una alta sensibilidad (80 %) y especificidad (97.5 %), con un valor predictivo positivo de 73.3 y negativo de 93 %<sup>6,7</sup>.

Se estima que la sensibilidad de la tinción en muestras pulmonares es alrededor de 55-60% y en las muestras extrapulmonares varía según la localización. En formas ganglionares es similar a la tuberculosis pulmonar, siendo inferior al 15% en líquidos biológicos, como líquido pleural, articular, ascítico, peritoneal o cefalorraquídeo. En pacientes que padecen tuberculosis e infección por VIH, el rendimiento de la microscopía es menor. El diagnóstico diferencial con especies que pueden ser parcialmente ácido-alcohol resistentes como *Nocardia* o *Rhodococcus*, no plantea dificultades debido a su baja incidencia, sin embargo, no debe descartarse la presencia de dichos microorganismos<sup>6</sup>.

Para diagnosticar la tuberculosis se utilizan los métodos: prueba cutánea de la tuberculina, cultivo Lowenstein Jensen que es exclusivo para caracterizar

*Mycobacterium tuberculosis* y las tinciones de Ziehl-Neelsen y Auramina, siendo estas más sensibles y específicas. La tinción de Ziehl-Neelsen es el método más utilizado alrededor del mundo para determinar tuberculosis debido a su técnica sencilla y bajo costo<sup>6</sup>.

La técnica de Ziehl-Neelsen (ZN) es una tinción diferencial que utiliza tres reactivos: el colorante primario es la fucsina, que tiene por objetivo la formación de complejos micolatofucsina con los ácidos micólicos presentes en las micobacterias; luego se aplica calor, que sirve de mordiente y estabiliza los complejos. El alcohol ácido al 3% es la solución decolorante que elimina la fucsina, excepto la impregnada en los bacilos ácido resistentes (BAR); el azul de metileno funciona como colorante de contraste tiñendo el resto de la preparación, facilitando así la evaluación e interpretación diagnóstica<sup>6</sup>.

La tinción de (ZN) puede detectar la presencia BAR del género *Mycobacterium* en la muestra siempre que haya 5.000- 10.000 bacilos/ ml, no siendo específica de la presencia de MTB. Su sensibilidad varía entre 40- 60%, existiendo así casos de TB con baciloscopía negativa que no deben descartar la enfermedad, que se confirmará tras cultivo y casos con presencia de BAR donde no se debe descartar la presencia de una MNT (micobacterias no tuberculosas). El recuento del número de BAR en la muestra utilizando un método semicuantitativo que informe entre una cruz (1+) a cuatro cruces (4+), servirá para valorar la eficacia del tratamiento ya que el número de BAR irá reduciéndose si el tratamiento es eficaz. Ello puede tardar más o menos dependiendo de la carga bacilar inicial de las lesiones<sup>4</sup>.

Identificar los casos bacilíferos es un punto clave en el control de la cadena epidemiológica, ya que se trata de los pacientes más contagiosos y su detección es objetivo básico preferente en todos los programas de lucha contra la TB. Como la eliminación de BAR en las secreciones respiratorias es irregular, deben estudiarse al

menos 3 muestras de buena calidad obtenidas en diferentes días antes de considerar al paciente como no bacilífero<sup>4</sup>.

La muestra más adecuada para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar es el esputo obtenido por expectoración espontánea, tras un golpe de tos profunda. Estas muestras son generalmente de consistencia espesa y mucoide, de color variable (desde blanquecinas hasta verdosas) e incluso sanguinolentas. Las muestras de saliva, secreciones nasales o faríngeas no son muestras adecuadas para el diagnóstico de tuberculosis, aunque pueden examinarse por la posibilidad de que hayan quedado bacterias retenidas en esas zonas (boca, faringe) tras la tos<sup>8</sup>.

La situación actual de la TB se ha visto agravada desde hace años por el creciente número de casos/brotos con resistencia a isoniacida y rifampicina (cepas multidrogoresistentes de tuberculosis o MDR-TB), o más recientemente por casos de MDR-TB con resistencias además a fármacos de segunda línea de uso parenteral (amikacina, kanamicina o capreomicina) y a fluoroquinolonas (cepas extremadamente resistentes de tuberculosis o XDR-TB)<sup>4</sup>.

El diagnóstico rápido de presencia de MTB (*Mycobacterium tuberculosis*) en la muestra de un paciente con sospecha de TB como pauta para un abordaje precoz adecuado conlleva el no tener que manejarse con datos “preliminares” que tardarían en confirmarse con pautas convencionales, produciendo semanas de demora. En los últimos años se han desarrollado numerosos y distintos métodos con distintas técnicas de PCR “in house” y/ o comercializadas<sup>4</sup>.

La empresa Cepheid, Inc. (Sunnyvale, California, EE.UU.) desarrolló la técnica Xpert MTB/RIF, que es un test automatizado para el diagnóstico de tuberculosis basado en la detección de ácidos nucleicos específicos del bacilo de Koch, con cartuchos, en cualquier muestra orgánica. Simplifica la identificación de

ADN micobacteriano, integrando y automatizando los 3 procesos requeridos para pruebas moleculares basadas en PCR: extracción, amplificación y detección. Reduce la complejidad de las pruebas moleculares, el riesgo de contaminación cruzada y las limitaciones de bioseguridad, detectando la presencia de *M. tuberculosis* directamente de una muestra en menos de 2 h. Esta técnica tiene una muy buena sensibilidad y especificidad<sup>9</sup>.

GeneXpert MTB/ RIF es una prueba diagnóstica “in vitro” de *nested* PCR semicuantitativa y en tiempo real que se utiliza para amplificación de dos posibles dianas: i) la detección de compuestos de ADN de MTB en muestras de esputo positivas y/ o negativas para BAR; y ii) la detección de mutaciones del gen *rpoB* asociadas a resistencia a rifampicina. Esta detección molecular de MTB con sondas de amplificación de especie y de mutaciones en el gen *rpoB* asociadas a la resistencia a rifampicina acelera el diagnóstico de TB resistente a este fármaco, que se asocia habitualmente a cepas MDR-TB. Con la prueba GeneXpert MTB/ RIF esto puede conseguirse en menos de 3 horas a partir de muestras respiratorias del paciente<sup>4</sup>.

El sistema GeneXpert automatiza e integra el procesamiento de muestras, la multiplicación del ácido nucleico y la detección de las secuencias diana mediante PCR y en tiempo real. Este sistema requiere el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso para los reactivos y el proceso de PCR. Dado que los cartuchos son independientes, se elimina el riesgo de contaminación cruzada entre muestras<sup>4</sup>.

El ensayo GeneXpert MTB/ RIF incluye reactivos para la detección de la tuberculosis y la resistencia a rifampicina, así como un control de procesamiento de muestra (SPC, *Sample Processing Control*) para controlar el adecuado procesamiento de las bacterias diana y para supervisar la presencia de inhibidores en la PCR. Mediante la función de comprobación de sonda (PCC, *Probe Check Control*), se

comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de la sonda y la estabilidad del fluorocromo. Los cebadores del ensayo GeneXpert MTB/ RIF amplifican una porción del gen *rpoB* que contiene la región central de 81 pares de bases. Las sondas son capaces de distinguir entre la secuencia salvaje conservada y las mutaciones de la región central que se asocian a la resistencia a rifampicina<sup>4</sup>.

Diagnosticar la resistencia a Rifampicina (R) es muy importante, ya que más del 90% de los bacilos con resistencia a este fármaco la tienen también a la Isoniacida y, por lo tanto, son portadores de TB-MDR. Facilita la detección de resistencia a la R el hecho que este fármaco tenga sólo un gen que codifica para la resistencia, a diferencia de la Isoniacida (I), que tiene varios genes involucrados. En la literatura se señala que la sensibilidad para detectar la resistencia a la R con este método es de 95% aproximadamente, pero con una especificidad menor<sup>9</sup>.

La biología molecular ha contribuido en forma muy importante, no sólo al diagnóstico de la tuberculosis, sino también al estudio de la resistencia a las drogas y también tiene gran utilidad con fines epidemiológicos, ya que hoy es posible discriminar entre las diferentes cepas que afectan a los enfermos<sup>9</sup>.

En el año 2015, se realizó un Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis donde se analizó un total de 529 muestras. Previamente se descartaron 3 muestras en las que se detectó *M. Avium complex*. De las 529 muestras 384 (73%) fueron respiratorias y 145 (27%) no respiratorias. Un total de 43 (8%) de las 529 muestras estudiadas fueron positivas para *M. tuberculosis* (33 respiratorias y 10 no respiratorias). El Xpert detectó 15 de 17 casos con baciloscopía negativa y cultivo positivo, lo que le da una sensibilidad de 88,2% para las muestras respiratorias con baciloscopía negativa. Se detectaron 12 muestras con resistencia a la R, 8 respiratorias y 4 no respiratorias<sup>9</sup>.

Colomer E., en su tesis doctoral Tuberculosis en el Departamento de Salud Valencia- Doctor Peset, indica que las baciloscopias iniciales sobre las muestras de los 469 pacientes con TB confirmada proporcionan un diagnóstico preliminar de “sospecha” de TB en 216 casos (46%) BAR positivos, siendo los 253 casos restantes (54%) BAR negativo. La cuantificación en cruces, de los casos positivos los clasificó en: 21% BAR 1+ (46 casos); 27% BAR 2+ (58 casos); 26% BAR 3+ (56 casos) y 26% BAR 4+ (56 casos). Cuando se introdujo la técnica de PCR en tiempo real para TB, se pudo realizar esta prueba en 151 casos (71,2%), ya que los 61 restantes se diagnosticaron a partir del crecimiento en cultivo sin petición expresa de PCR. De los 151 casos donde se realizó la técnica en casos de TB confirmada en 145 el resultado fue positivo siendo 6 (4%) casos con aislamiento de MTB los que dieron un resultado falso negativo<sup>4</sup>.

En 2018, se evaluó una técnica de PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a la rifampicina en Guatemala, donde se recolectaron 523 muestras provenientes de pacientes con sospecha de tuberculosis en el Área de Tuberculosis y Hongos del Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios. La sensibilidad para muestras pulmonares procesadas con la técnica Xpert® MTB/RIF, fue de 95.65% (IC<sub>95%</sub> = 85.14 - 100.00, IC: Índice de confianza), siendo mayor en comparación con extrapulmonares (68.75%, IC<sub>95%</sub> = 42.91-94.59) y la agrupación de ambas (84.62%, IC<sub>95%</sub> =72.01-97.22) (pulmonares y extrapulmonares)<sup>6</sup>.

La mayor especificidad se obtuvo al analizar las muestras extrapulmonares con un 90.18% (IC<sub>95%</sub>= 86.85-93.51), en contraste para el total de muestras con 89.05%, (IC<sub>95%</sub> = 86.16-91.93), y las muestras pulmonares presentaron la menor especificidad con 86.49% (IC<sub>95%</sub> = 80.64-92.33). Se realizó la comparación entre la técnica de Ziehl-Neelsen contra cultivo para muestras pulmonares y la totalidad de

muestras. Las muestras extrapulmonares fueron excluidas del análisis debido a que no se obtuvo ninguna tinción de Ziehl-Neelsen positiva. La sensibilidad para muestras pulmonares fue de 34.78% (IC<sub>95%</sub> = 13.14-56-42), y especificidad de 97.30% (IC<sub>95%</sub> =94.35-100.00)<sup>6</sup>.

En Ecuador para el año 2018, se realizó un estudio para la validación e implementación de GeneXpert MTB/RIF para uso rutinario en la detección rápida de tuberculosis, donde 1592 muestras respiratorias y fueron analizadas en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Guayaquil. El análisis de los resultados de GeneXpert en comparación con la baciloscopía mostraron una sensibilidad inicial de 99,8% y especificidad de 93,2%; el análisis de discrepancias utilizando los resultados del cultivo como método de referencia mostró que los resultados de GeneXpert considerados falsos negativos resultaron ser verdaderos negativos, lo mismo sucede con los falsos positivos que corresponden a verdaderos positivos<sup>10</sup>.

En la investigación “Importancia Diagnóstica del “GeneXpert Mtb – Rif” en pacientes infectados por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)”, informan que por baciloscopía se detectó la presencia de BAR en 18 (11.84%) muestras, por cultivo en medio sólido LJ se detectó la presencia de *Mtb* en 33 (21.7%) muestras, con un aislamiento de micobacteria no tuberculosa (MNT), y por Xpert *Mtb*/Rif se detectó la presencia de *Mycobacterium tuberculosis*) en 39 (25.65%) muestras, de estas 36 (23.68%) fueron *Mtb*-no resistente a la Rifampicina, y 3 (2.00%) fueron *Mtb*-resistente a Rif, debemos aclarar que en 2 (1.31%) muestras fueron invalidadas pues el equipo detecto error, lo que permitió obtener una sensibilidad, especificidad y concordancia por encima del 90%<sup>11</sup>.

En Venezuela existen al menos ocho laboratorios que cuentan con la tecnología del GeneXpert MTB/RIF siendo el que se encuentra ubicado en Ciudad Guayana la más reciente adquisición. Debido a las condiciones del país este estudio se propone para comparar la efectividad y rentabilidad del equipo GeneXpert MTB/Rif con una tinción convencional como lo es la tinción de Ziehl-Neelsen.

## JUSTIFICACIÓN

En concordancia con el último editorial de la Revista Venezolana de Salud Pública, se permite agregar que para el año 2018 la tuberculosis se perfiló como una de las diez principales causas de mortalidad en el mundo presentándose en Venezuela una tasa moderada de 26,1 por cada 100.000 habitantes<sup>12</sup>.

El 18 de septiembre del 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó el reporte global de tuberculosis donde se revela que en el año 2016 en Venezuela se registraron 10.952 casos de esta enfermedad, número de casos que ha ido creciendo en los últimos años. Para ese mismo año, Venezuela había notificado al organismo 8.592 casos, lo que evidenció que, en apenas 12 meses, el número de infectados por tuberculosis se incrementó en un 28%, es decir, que existieron más de 2.400 casos en apenas un año<sup>13</sup>.

El estado Delta Amacuro representa una de las más altas casuísticas en Venezuela especialmente en las poblaciones indígenas como la etnia Warao donde se han conseguido prevalencias en niños de hasta 60% de tuberculosis pulmonar en poblaciones como San Francisco del Guayo en el Delta del Orinoco; también en indígenas de la Orinoquía colombiana se han presentado índices en ascenso de tuberculosis mayores al 1% de la población. Entre las principales causas de este incremento se encuentran el aumento de la resistencia del agente causal a los fármacos, el incremento en el número de casos de pacientes con VIH, el debilitamiento de los programas de vigilancia epidemiológica, la presencia de casos de tuberculosis pulmonar no diagnosticada y no tratada, retardo en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la enfermedad, así como la persistencia de la desnutrición y el hacinamiento las cuales son expresiones de la vulnerabilidad económica en este grupo de pacientes<sup>14,15</sup>.

La incidencia de la tuberculosis también se vio reflejada en el último reporte del organismo adscrito a la Organización de las Naciones Unidas (ONU) tal que, para el año 2016, la tasa de incidencia en Venezuela era de 32 por cada 100 mil habitantes. En el año 2017 esa proporción aumentó a 42 lo cual representa más de 10 mil casos notificados por Venezuela a la OMS los cuales corresponden en su mayoría a tuberculosis pulmonar; 60% de los infectados también habían sido diagnosticados como portadores del virus de inmunodeficiencia humana, tal que, la tuberculosis figura entre las principales enfermedades oportunistas que afectan el organismo en este grupo de pacientes debido a la deficiencia del sistema inmunológico que produce la infección por este virus. Es por esta razón, que la ONU desarrolló una estrategia para poner fin a la tuberculosis y así, por primera vez, las Naciones Unidas enfatizan la importancia de esta enfermedad infecciosa<sup>13</sup>.

La emergencia de la Tuberculosis hace indispensable la aplicación de técnicas que permitan acortar el tiempo diagnóstico, es por ello que se recomienda el uso de técnicas moleculares, de las numerosas pruebas disponibles de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de tuberculosis, la prueba de GeneXpert Mtb/RIF es una de las más ampliamente evaluadas. En nuestro país, los centros hospitalarios públicos y privados utilizan las pruebas de referencia o estándar de oro bajo las condiciones locales de trabajo en muestras pulmonares y extrapulmonares tales como biopsias, líquidos corporales (cefalorraquídeo, pleural, peritoneal), heces u orina. Sin embargo, no existen datos que permitan comparar su desempeño con la prueba Xpert® MTB/RIF del sistema GeneXpert para la detección molecular del complejo *M. tuberculosis* y su resistencia a la rifampicina debido a la poca cantidad de laboratorios que cuentan con esta tecnología.

El auge de casos positivos para Tuberculosis en el país no cesa. La falta de actualización en los métodos de detección, así como la necesidad de áreas

especializadas y adecuadas para el análisis y procesamiento de estas muestras infecto contagiosas, dan lugar a incertidumbres sobre la confiabilidad y la sensibilidad de los procesos actualmente aplicados. Tomando esto en cuenta, el presente estudio tuvo como propósito comparar y analizar dos de los métodos más utilizados para el diagnóstico de *M. tuberculosis*, evaluar los resultados e informar al respecto.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Señalar el rendimiento del sistema GeneXpert en comparación con la tinción de Ziehl-Neelsen en pacientes atendidos en el laboratorio de baciloscopía del Ambulatorio tipo II “La Sabanita”. Abril – Agosto, 2022.

### **Objetivos Específicos**

- 1) Determinar el número de casos positivos y negativos de tuberculosis pulmonar y extra pulmonar.
- 2) Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índice de concordancia Kappa de la metodología Xpert para muestras pulmonares y extra pulmonares en comparación con la baciloscopía aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen.
- 3) Categorizar la resistencia de los aislados de MTB del área mediante el método Xpert.

## **METODOLOGÍA**

### **Tipo de estudio**

El presente estudio es de tipo descriptivo, comparativo, experimental y de corte transversal.

### **Población**

Representada por 631 pacientes, que acudieron al laboratorio de Baciloscopía (BK) en el Ambulatorio tipo II “La Sabanita”, para la realización de dicho examen. En el periodo comprendido desde abril hasta agosto del año 2022.

### **Muestra**

La muestra quedó representada por 170 pacientes de la población estudiada, esta cantidad comprende las muestras biológicas a las cuales se les procesó por baciloscopía (BK) aplicando la tinción Ziehl-Neelsen y por el sistema GeneXpert MTB/ RIF.

### **Criterios de inclusión**

- Muestras pulmonares y extra pulmonares de pacientes sintomáticos respiratorios.
- Pacientes de todas las edades.
- Pacientes de ambos sexos.
- Pacientes con factores de riesgo.
- Muestras procesadas con ambos estudios: GeneXpert y Baciloscopia (BK).

### **Criterios de exclusión**

- Pacientes con registros incompletos.
- Pacientes con solo uno de ambos estudios realizados: GeneXpert o Baciloscopía.
- Muestras contaminadas.
- Muestras insuficientes.
- Muestras que transgredan los protocolos de bioseguridad establecidos para el procesamiento de material infectocontagioso.

### **Proceso de recolección de datos**

Los investigadores, de la mano de profesionales calificados registraron, procesaron y analizaron conforme a los lineamientos de la Norma Oficial Venezolana del Programa Nacional Integrado de Control de la Tuberculosis, todas las muestras biológicas referidas al área de Baciloscopia del Ambulatorio Tipo II “La Sabanita”.

De la misma manera y bajo la aprobación del ISP, se recabó la data de los resultados de los pacientes que fueron remitidos al laboratorio de salud pública “Dr. Armando Ortega” para su análisis bajo el método de GeneXpert. Esta información se recolectó desde principios de abril hasta finales de agosto del año 2022.

### **Recepción de las muestras**

- 1) Recepción de las muestras, de 07:00 am a 09:00 am en el al área de Baciloscopia del Ambulatorio Tipo II “La Sabanita”. El BK fue realizado en muestras de esputo con aspecto mucosalival, mucoso o mucopurulento,

recibidas en recipientes estériles y translucidos, tapados correctamente y debidamente identificados con los datos del paciente.

- 2) Se evaluó la muestra para verificar que cumpliera con los criterios de inclusión.
- 3) Se recolectaron 631 muestras en el periodo Abril - Agosto 2022. Las cuales fueron enumeradas para el control interno del laboratorio e identificadas con los datos de cada paciente. La prueba de Baciloscopia (BK) fue realizada por los investigadores bajo la instrucción y supervisión de dos expertos en el área, los licenciados en Bioanálisis: Annalia Rondón y Ulises Medina. 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.
- 4) Se evaluaron las características macroscópicas y microscópicas de la muestra.

Una buena muestra de esputo es la que proviene del árbol bronquial, recogida después de un esfuerzo de tos y no la que se obtiene exclusivamente de la faringe o por aspiración de secreciones nasales o saliva. Para los cual el personal de enfermería o el médico pueden dar las instrucciones adecuadas al paciente sobre la recolección de la muestra<sup>19</sup>.

Se debe enseñar al paciente la siguiente técnica para una buena recolección de la muestra:

- a) Tomar aire profundamente por la boca.
- b) Retener el aire en los pulmones por unos segundos
- c) Toser fuertemente para eliminar la flema (gargajo, esputo).
- d) Depositar la flema (gargajo, esputo) en el envase.
- e) Repetir los pasos anteriores por lo menos 3 veces para obtener una buena cantidad de flema.
- f) Tapar bien el envase.

- g) Entregar el envase rotulado personal de salud (nombre, apellido, fecha, número de muestra).

Enviar la muestra lo antes posible para su procesamiento, si no puede ser transportada al momento, se guardará en la nevera por un máximo de 4 días para la Baciloscopia y 2 días para cultivo. Si no hay nevera se guardará en un lugar fresco protegido de la luz por un máximo de 48 horas. Cuando no se pueda enviar la muestra en estos lapsos por estar los establecimientos ubicados en áreas dispersas, que no cuenten con medios de transporte, deberán elaborar los extendidos ese mismo día de su recolección, el extendido de la lámina será elaborado por el personal auxiliar de salud, previamente capacitados por el Bioanalista ( si la muestra va a ser procesada solo por Baciloscopia y se deba observar por algunos días, se le puede agregar 1ml de fenol, lisol, cresol al 5% o hipoclorito de sodio al 2% (cloro industrial)<sup>19</sup>.

Una buena muestra tiene aproximadamente 3 a 5 ml, es generalmente espesa y mucoide. Puede ser fluida y 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 contengan una parte de la expectoración o bacilos expulsados por la tos que hayan quedado en la boca, nariz o faringe<sup>17</sup>.

Una vez recibida la muestra en el laboratorio clínico se procedió a la identificación de la misma con nombre, apellido, edad, sexo y condiciones predisponentes como enfermedades de base, inmunosupresión o cualquier otro factor de riesgo. Posteriormente, se realizó la evaluación de la muestra y para verificar que cumpla o no con los criterios de inclusión.

### **Análisis de las muestras**

El primer paso fue inspeccionar el estado en el cual son recibidas las muestras, chequeando aspectos como: identificación, envase adecuado, muestra apropiada, conservación apropiada, transporte, contaminación visible.

### **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.

El aspecto varió entre salival, mucosalival, mucoso, mucopurulento, purulento e incluso hay ocasiones en las que se pueden observar muestras de esputo sanguinolentas. La cantidad se midió en una escala cualitativa que va de escasa a abundante, por lo general el material biológico es escaso o moderado. El color varía y se atribuye a diferentes cuadros clínicos, pero se toma igualmente la referencia para identificar todos los aspectos que sean posibles de la muestra, hay esputos de color amarillo, verde, blanco, hemoptoico (rojo), asalmonado, entre otros. Todos estos aspectos fueron evaluados y tipificados en cada muestra.

**Aspecto:** por naturaleza el esputo suele tener un aspecto viscoso y espeso, aunque esto puede variar dependiendo de la calidad y la cantidad de la muestra. Se clasificó, en base a la apreciación visual que se tiene de la fluidez de la muestra, bajo los siguientes términos:

- **Salival:** como su nombre lo indica, este tipo de muestra presenta parcialmente saliva mezclada con el esputo. Algunos autores y laboratorios clínicos tienen como protocolo descartar este tipo de muestras y hacer la solicitud al paciente de repetir nuevamente la toma. La razón de ello es que en la saliva no es material de expectoración, ni proviene directamente de zonas de la vía respiratoria, el material de interés es la mucosidad acumulada en estas vías, no las secreciones salivales. Se distingue la saliva del esputo transparente por fluidez de la misma, además se pueden observar en estas muestras burbujas que le dan una apariencia espumosa.

Aunque no sea mucoso, el material recolectado debe ser examinado por baciloscopía y cultivo, y mediante una prueba molecular rápida (como el Xpert MTB/RIF o el Xpert MTB/ Ultra RIF), según lo establezcan las políticas nacionales<sup>17</sup>.

- **Mucoso:** de color blanquecino, se observa en inflamaciones agudas del árbol traqueo bronquial.
- **Purulento:** de color verdoso o amarillento, es característico de las supuraciones pulmonares (neumonía, bronquitis, bronquiectasias y abscesos pulmonares). Cuando es maloliente debe sospecharse de infección por microorganismos anaerobios.
- **Hemoptoico:** esputos que contienen algo de sangre, pero sin llegar a ser hemáticos (solo sangre).

**Color:** el esputo puede tener diferentes colores, estos colores ayudan a identificar el tipo de infección o saber si una enfermedad crónica ha empeorado. Los colores que con mayor frecuencia se observaron:

- Transparente e incoloro: en general, significa que no hay enfermedad. Sin embargo, la presencia de mucho esputo claro puede ser signo de una enfermedad pulmonar.
- Blanco o gris: este color también puede significar normalidad, pero una cantidad abundante puede significar enfermedad pulmonar.
- Amarillo oscuro o verde: frecuentemente se encuentra asociada a infecciones bacterianas, como neumonía. el esputo verde amarillento también es común en las personas con fibrosis quística. La fibrosis quística es una enfermedad hereditaria que hace que se acumule mucosidad en los pulmones y en otros órganos.
- Rojo: puede ser un signo temprano de cáncer de pulmón. También puede ser un signo de embolia pulmonar. Ocurre cuando un coagulo de sangre se desprende de alguna parte del cuerpo y se desplaza a los pulmones, poniendo la vida del paciente en riesgo.

**Cantidad:** la cantidad normal de esputo va desde 3 a 5ml de muestra. Cantidades menores a esta y de aspecto salival dificultan un buen procesamiento, lo que en consecuencia incide en la confiabilidad de los resultados.

En las fases iniciales de un proceso inflamatorio, por lo general la expectoración es escasa para aumentar en los periodos de estado y de declinación. La expectoración muy abundante (a veces más de 300ml/día) suele indicar la existencia de cavidades que drenan un bronquio en los procesos supurativos pulmonares o bronquiectasias. Esta cantidad de esputo en ocasiones puede no observarse si el enfermo deglute los esputos (frecuente en el sexo femenino), si hay broncooplejia u obstrucción.

### **Examen microscópico**

Los bacilos acidorresistentes tienen entre 1 y 10  $\mu\text{m}$  de largo. Con la coloración de Ziehl-Neelsen se observan como bastones delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia destacándose claramente contra el fondo azul. A veces se observan con gránulos o cuentas intensamente coloreados en el interior. En la muestra de esputo pueden presentarse aislados, apareados o agrupados <sup>22</sup>.

Es muy difícil distinguir el bacilo de la tuberculosis de otras micobacterias por examen microscópico. Algunas micobacterias que no son *M. tuberculosis* pueden aparecer como bastones muy largos o como bacilococos. De todas formas, es muy poco frecuente encontrar más de 10 microorganismos ácido resistentes diferentes a *M. tuberculosis* en las muestras de esputo <sup>22</sup>.

La prueba Gold estándar para el diagnóstico de la tuberculosis (TB) es la combinación de la identificación del bacilo por microscopia con la identificación del subtipo y su resistencia a antibióticos mediante cultivo. Pero el lento crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* ha llevado a la búsqueda de pruebas rápidas de diagnóstico y de nuevos métodos que lo detectan directamente, sin la necesidad de hacer cultivos <sup>20</sup>.

### **Tinción de Ziehl-Neelsen**

La tinción (ZN) se fundamenta en la estructura de las paredes celulares de las micobacterias que contienen lípidos y otros ácidos grasos (ácidos micólicos) de elevado peso molecular, que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos calientes, por lo que se denominan bacterias ácido resistentes o ácido-alcohol resistentes. La tinción se basa en colocar carbol-fucsina y calentar la preparación ligeramente para solubilizar las

ceras, lípidos y otros ácidos grasos de la pared celular para que permita el paso libre del colorante, el cual tiene una enorme afinidad por los ácidos micólicos presentes en la pared. Al enfriar con agua, los componentes de la pared vuelven a solidificar, resistiendo la acción abrasiva del alcohol-ácido, donde el azul de metileno se utiliza como contratinción <sup>21</sup>.

En esta técnica se emplearon tres productos: Carbol Fucsina Fenicada (Fucsina Básica), Solución de Azul de Metileno al 1% y Solución de Alcohol Ácido (soluciones que conforman el Kit de Ziehl-Neelsen) <sup>21</sup>.

### **Procedimiento de la Técnica**

- 1) Se realizó el extendido en láminas portaobjetos y se dejó secar.
- 2) Se fijó extendido, mediante calentamiento suave, flameándolo sobre la llama del mechero; repitiendo 3 veces esta acción.
- 3) Se agregó colorante fucsina que cubrió la totalidad del extendido por 5 minutos.
- 4) Luego, se flameó por debajo del portaobjetos hasta el desprendimiento de vapores blancos (evitando producir ebullición por exceso de calor).
- 5) Se dejó enfriar 5 minutos y se repitió el flameado hasta nuevo desprendimiento de vapores blancos. Luego se dejó enfriar 5 minutos.
- 6) Se lavó con agua corriente y se cubrió con alcohol ácido al 3% durante 2 minutos.
- 7) Después se lavó con agua corriente y luego se cubrió con azul de metileno durante 1 minuto. Se lavó con agua corriente.
- 8) Se inclinó el portaobjeto hasta drenar el exceso de agua. Finalmente, se colocó cada portaobjetos en una gradilla para que secan al aire.
- 9) Por último, se colocó una gota de aceite de inmersión sobre la lámina y se observó al microscopio en el objetivo de 100x.

La coloración de Ziehl-Neelsen en extendido o frotis de la muestra es la técnica más apropiada para ser utilizada en todos los laboratorios de los países de América Latina, recomendada por la Organización Mundial de la Salud y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias por ser la que asegura resultados reproducibles con un entrenamiento relativamente simple y con un bajo costo para su implementación. Entre los inconvenientes de la baciloscopía se encuentra que tiene baja sensibilidad y la detección requiere un mínimo de carga bacilar por muestra de 5.000 a 10.000 bacilos/mL para arrojar un diagnóstico positivo. La sensibilidad informada de un frotis único de esputo es del 22% al 43%, presentando un aumento de la tasa de detección cuando se analizan dos o tres frotis en dos días, por lo que sólo alrededor del 50% al 70% de los pacientes con tuberculosis pulmonar activa tienen extendidos positivos. Para que la baciloscopía sea una buena herramienta de diagnóstico y control de la enfermedad, además de la calidad técnica es necesaria la calidad de los registros, de los informes del laboratorio y el análisis de la información que produce el laboratorio<sup>18</sup>.

Para la lectura, se tomaron en cuenta las siguientes indicaciones:

- 1) Se ubicó cerca del microscopio todos los elementos que se necesitan para la lectura: (Aceite de inmersión, pañuelos o trozos de papel suave, lapicero, registro del laboratorio, una caja para guardar portaobjetos)
- 2) Se depositó una gota de aceite de inmersión en un extremo del frotis, sin tocar el preparado con el gotero.
- 3) Se enfocó el extendido donde fue colocada la gota de aceite, con la lente 100x de inmersión.
- 4) Se observó cada campo microscópico en superficie y profundidad, moviendo permanentemente el micrométrico, antes de desplazarse al campo contiguo.

- 5) Se observó la calidad del extendido y de la coloración. Algunas por no cumplir con los parámetros de control de calidad interno, tuvieron que ser repetidas.

### **Informe de los resultados**

En la siguiente tabla se expresa la forma de reportar y la cantidad de campos a contar para cada caso:

<b>Resultados del Examen Microscópico</b>	<b>Informe</b>
No se encuentran BAR en los 100 campos observados.	No se observaron bacilos ácido-alcohol resistente.
Se observan de 1 a 9 BAR en 100 campos observados	Nro. Exacto de bacilos en 100 campos.
Se observan de 10 a 99 BAR en 100 campos observados.	Positivo (+)
Se observan de 1 a 10 BAR por campo en 50 campos observados.	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAR por campo en 20 campos observados.	Positivo (+++)

Los campos leídos deben ser “campos microscópicos útiles”. Se considera campo microscópico útil a aquel en el cual se observan células bronquiales (leucocitos, células ciliadas) o fibras mucosas, que aparecen teñidos de azul. Los campos sin estos elementos no deben ser considerados para contar el total de campos observados, a menos que contengan BAR<sup>22</sup>.

El informe mediante la escala semicuantitativa estandarizada asegura la reproducibilidad de los resultados y permite evaluar la severidad de la enfermedad, grado de infectividad del paciente y la evolución del paciente bajo tratamiento<sup>22</sup>.

### **GeneXpert Mtb/RIF**

La prueba de Xpert MTB/RIF es un sistema de microfluidos integrado compuesto por el equipo GeneXpert, cartuchos de prueba Xpert MTB / RIF, un protocolo automatizado (amplificación de ADN y la detección simultánea de la fluorescencia) con los controles internos (CPC y SPC). Los protocolos de preparación de muestras se deben seguir para esputo directo (2:1) o sedimento de esputo procesado (3:1), y para las muestras extrapulmonares seguir las medidas de bioseguridad de acuerdo con la muestra recibida<sup>23</sup>.

Se comprobó la integridad del cartucho antes de su uso, la correcta identificación de la muestra. Se debe inocular con una cantidad suficiente (2-4 ml) de la solución final. Después de cargar el cartucho en el equipo GeneXpert, el software del sistema permite supervisar el progreso de la prueba.

Para el análisis molecular GeneXpert *Mtb*/RIF se cumplió con el protocolo de trabajo según recomendaciones del fabricante; 1 mL de la muestra por 2 mL del reactivo descontaminante GeneXpert *Mtb*/ RIF, posteriormente se homogenizó en Vórtex y se dejó actuar la descontaminación por 15 minutos, pasado este tiempo la muestra descontaminada fue transferida con pipeta estéril al cartucho GeneXpert *Mtb*/RIF el cual fue introducido en el equipo para la detección de *Mtb* y determinación de la susceptibilidad y/o resistencia a Rifampicina, la obtención de los resultados se obtuvo aproximadamente en 90 minutos, lo que reafirma las bondades de esta metodología sobre todo para el grupo de pacientes más vulnerable<sup>11</sup>.

El uso de Xpert MTB/RIF es un procedimiento de riesgo bajo y requiere el mismo nivel de precauciones que se utilizan cuando se realiza una baciloscopía. El principal riesgo en el laboratorio está relacionado a la generación de aerosoles que puedan ser inhalados.

El riesgo de la generación de aerosoles está asociado a los diferentes procedimientos realizados, su frecuencia, la carga de trabajo y la consistencia del material utilizado (viscoso vs sólido) y su carga bacilar.

### **Preparación de la muestra**

- 1) Se abrió el frasco de esputo cuidadosamente.
- 2) 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).
- 3) 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.
- 4) Cerramos bien el frasco y agitamos enérgicamente de 10 a 20 veces.
- 5) Incubamos la muestra a temperatura ambiente por 10 minutos.
- 6) Luego agitamos nuevamente de 10 a 20 veces.
- 7) 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**

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

### **Inserción del cartucho**

- 1) Abrimos completamente la puerta del módulo elegido indicada por una luz verde parpadeante por encima del módulo seleccionado.
- 2) Insertamos el cartucho cuidadosamente con el código de barras hacia adelante.
- 3) Al cerrar la puerta del módulo con el cartucho la prueba se inicia automáticamente.
- 4) 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<sup>24</sup>. 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<sup>24</sup>.

### **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 (Apéndice 1).

El Xpert MTB/Rif tiene como objetivo la identificación del material genético (ADN) de bacilos vivos o muertos, por tanto, no está indicado para evaluar la respuesta al tratamiento de TB. Para estos casos se realizará el seguimiento con las baciloscopías y cultivos de control<sup>24</sup>.

### **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.

## RESULTADOS

En la tabla número 1, se muestran el número de casos positivos y negativos de tuberculosis, procesadas tanto por BK, como por el sistema GeneXpert MTB/Rif. Se observó que el número de casos negativos fue predominante en ambos casos, siendo un 69.41% (n=118) en el caso del GeneXpert y 82.3% (n=140) en el caso del BK, mientras que los casos positivos fueron de 30.59% (n=52) en el caso del GeneXpert y 17.65% (n=30) en el caso del BK.

En la tabla número 2, se muestran los resultados obtenidos de las 170 muestras procesadas en base al tipo de muestra (pulmonares y extra pulmonares) y el método mediante el cual se procesó. Se observó que todas las muestras extra pulmonares procesadas por BK arrojaron un 100% (n=25) de negatividad, mientras que las muestras pulmonares arrojaron un 20.69% (n=30) de casos positivos y un 79.31% (n=115) de casos negativos. Por otra parte las muestras extra pulmonares procesadas por el sistema GeneXpert arrojaron que las muestras de jugo gástrico representaban un 84% (n=21) de las cuales un 24% (n=6) fueron positivas y un 60% (n=15) negativas, la secreción adenoidal representaba un 4% (n=1) el cual fue positivo, las muestras de ganglio representaban un 8% (n=2) de las cuales 4% (n=1) fueron positivos y 4% (n=1) negativos, finalmente la muestra de LCR representaba un 4% (n=1) el cual fue negativo, respecto a las muestras pulmonares, se tuvo que un 30.34% (n=44) de los casos fueron positivos y 69.66% (n=101) fueron negativos.

En la tabla número 3, se muestra el índice de concordancia Kappa (k) entre en método Xpert® MTB/RIF y Baciloscopia (BK) / (ZN) en base a muestras extra pulmonares. El número de verdaderos positivos ascendió 8, el número de falsos positivos fue de 0, los falsos negativos fueron 0 y los verdaderos negativos fueron 17. Con todos los datos anteriores se aplicó la fórmula  $k = \frac{2(AD + BC)}{N1 * N4 +}$

N2\*N3), correspondiente al índice de concordancia Kappa (k), el cual resultó ser de 0,00 categorizado como “leve” en la escala de interpretación.

En la tabla número 4, se muestra el índice de concordancia Kappa (k) entre en método Xpert® MTB/RIF y Baciloscopia (BK) / (ZN) en base a muestras pulmonares. El número de verdaderos positivos ascendió a 29, el número de falsos positivos fue de 15, los falsos negativos fueron 1 y los verdaderos negativos fueron 100. Con todos los datos anteriores se aplicó la fórmula  $k = \frac{2(AD + BC)}{(N1*N4 + N2*N3)}$ , correspondiente al índice de concordancia Kappa (k), el cual resultó ser de 0,72 categorizado como “considerable” en la escala de interpretación.

En la tabla número 5, se muestran los indicadores de desempeño de la técnica Xpert® MTB/RIF contra técnicas convencionales de tinción como Ziehl-Neelsen en muestras extra pulmonares. Entre los indicadores medidos está la Sensibilidad (96,29%), la Especificidad (72,52%), el Valor predictivo positivo (60,47%), el Valor predictivo negativo (98,50%) y el índice kappa (0,72). Todos los parámetros descritos fueron expresados bajo un intervalo de confianza (IC) de 95%.

En la tabla número 6, se muestran los indicadores de desempeño de la técnica Xpert® MTB/RIF contra técnicas convencionales de tinción como Ziehl-Neelsen en muestras pulmonares. Entre los indicadores medidos está la Sensibilidad (96,67%), la Especificidad (86,96%), el Valor predictivo positivo (65,91%), el Valor predictivo negativo (99,01%) y el índice kappa (0,72). Todos los parámetros descritos fueron expresados bajo un intervalo de confianza (IC) de 95%.

En la tabla número 7, se categorizó la resistencia en pacientes aislados de MTB aplicando el Método Xpert® MTB/RIF. Para esta tabla se tomaron en cuenta los resultados “MTB detectado: resistencia a RIF detectada” 19.23% (n=10) y

“MTB detectado: resistencia a RIF no detectada” 80,77% (n=42), en un total de 52 muestras.

Los resultados evidenciaron que por el método de Baciloscopía (BK) se trabajó 1 muestra en un tiempo de 10 minutos, lo que en una jornada laboral de 8 horas se traduce en 48 muestras trabajadas por jornada. Por otra parte, el método Xpert® MTB/RIF permitió trabajar 13 muestras de forma simultánea en un tiempo de 90 minutos, lo que en una jornada laboral de 8 horas se traduce en 69 muestras trabajadas por jornada.

**Tabla 1****Número de casos positivos y negativos de tuberculosis**

<b>TECNICA</b>	<b>POSITIVOS</b>		<b>NEGATIVOS</b>		<b>TOTAL</b>	
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>GeneXpert</b>	52	30.59	118	69.41	170	100
<b>BK</b>	30	17.65	140	82.35	170	100

Tabla 2

Número de casos positivos y negativos de tuberculosis pulmonar y extra pulmonar

TIPO DE MUESTRAS	POSITIVOS		NEGATIVOS		TOTAL	
<b>BK</b>						
<b>EXTRA</b>						
<b>PULMONARES</b>	N	%	N	%	N	%
JUGO GASTRICO	0	0	21	84	21	84
SEC ADENOIDAL	0	0	1	4	1	4
GANGLIO	0	0	2	8	2	8
LCR	0	0	1	4	1	4
TOTAL					25	100
<b>PULMONARES</b>						
<b>ESPUTO</b>	30	20.69	115	79.31	145	100
<b>GeneXpert</b>						
<b>EXTRA</b>						
<b>PULMONARES</b>	N	%	N	%	N	%
JUGO GASTRICO	6	24	15	60	21	84
SEC ADENOIDAL	1	4	0	0	1	4
GANGLIO	1	4	1	4	2	8
LCR	0	0	1	4	1	4
TOTAL					25	100
<b>PULMONARES</b>						
<b>ESPUTO</b>	44	30.34	101	69.66	145	100

**Tabla 3**

**Índice de concordancia Kappa (k) entre el método Xpert® MTB/RIF y  
Baciloscopia (BK). Muestras extra pulmonares**

		<b>Baciloscopia (BK) / ZN</b>		
		POS	NEG	<b>Total</b>
<b>Xpert® MTB/RIF</b>	POS	0	8	8
	NEG	0	17	7
	<b>Total</b>	0	25	25

$$k = 2 (AD + BC) / (N1 * N4 + N2 * N3)$$

$$k = 0.00$$

**Tabla 4**

**Índice de concordancia Kappa (k) entre el método Xpert® MTB/RIF y  
Baciloscopia (BK). Muestras pulmonares**

		<b>Baciloscopia(BK) / ZN</b>		
		<b>POS</b>	<b>NEG</b>	<b>Total</b>
<b>Xpert® MTB/RIF</b>	<b>POS</b>	29	15	44
	<b>NEG</b>	1	100	101
	<b>Total</b>	30	115	145

$$k = 2 (AD + BC) / (N1 * N4 + N2 * N3)$$

$$k = 0.72$$

**Tabla 5**

**Indicadores de desempeño de la técnica Xpert® MTB/RIF contra Ziehl-Neelsen. Muestras extra pulmonares**

<b>Indicador</b>	<b>Total de muestras % [n] (IC 95%)</b>
Sensibilidad	96,29 [26/27] (89,02-100,00)
Especificidad	79,52 [66/83] (69,52-89,52)
Valor predictivo positivo	60,47 [26/43] (51,47-69,47)
Valor predictivo negativo	98,50 [66/67] (97,50-99,5)
Índice Kappa (k)	0,64 (0,49-0,79)

**Tabla 6**

**Indicadores de desempeño de la técnica Xpert® MTB/RIF contra Ziehl-Neelsen. Muestras pulmonares**

<b>Indicador</b>	<b>Total de muestras % [n] (IC 95%)</b>	
Sensibilidad	96,67 [29/30]	(88,16-100,00)
Especificidad	86,96 [100/115]	(80,96-92,96)
Valor predictivo positivo	65,91 [29/44]	(48,91-82,91)
Valor predictivo negativo	99,01 [100/101]	(98,01-100,00)
Índice Kappa (k)	0,72	(0,65-0,79)

**Tabla 7**

**Categorización de la resistencia en pacientes aislados de *Mycobacterium tuberculosis*. Método Xpert® MTB/RIF**

<b>Diagnóstico</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
MTB detectado: resistencia a RIF detectada.	10	19.23%
MTB detectado: resistencia a RIF no detectada.	42	80.77%
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100%</b>

## DISCUSION

En este estudio se analizaron 170 muestras. En 30 de estas muestras (17.65%), fueron detectados BAR asociados directamente al complejo *M. tuberculosis* mediante la baciloscopia mientras que a través del método Xpert® MTB/RIF se obtuvieron los resultados “No detectados”, o negativo, con un 69,41% por sobre los casos positivos “Detectado/No detectado” y “Detectado/ Detectado” los cuales suman un 30,59% de la incidencia (n= 52).

Debido a que la sensibilidad y la especificidad son medidas de acuerdo no calibradas, en donde, el azar está involucrado, es necesario conocer el verdadero grado de acuerdo y reproducibilidad de la prueba ajustando el efecto del azar<sup>26</sup>; para ello, se calculó el índice de concordancia Kappa. La concordancia adquiere importancia cuando se desea conocer si con un método o instrumento nuevo, se obtienen resultados equivalentes de tal manera que eventualmente uno y otro puedan ser reemplazados o intercambiados, ya sea porque uno sea menos costoso, o porque es más seguro para el paciente<sup>27</sup>.

Para evaluar el desempeño del método Xpert® MTB/RIF se tomaron en cuenta varios indicadores, entre ellos el ya mencionado Índice Kappa. Resultante de una relación matemática (Anexo 11) entre verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos. Para esta investigación el índice Kappa fue de 0,72 (IC<sub>95%</sub> = 0,49 - 0,79) para muestras pulmonares, lo que se interpreta como una fuerza de concordancia considerable y de 0,00 para muestras extra pulmonares, interpretandose como leve (Anexo 12). El resultado se debe a la cantidad de falsos negativos arrojados por la Baciloscopia, al tener una carga bacilar menor a 5.000 bacilos/mL no se refleja un diagnóstico positivo, causando así una discrepancia en los

resultados en referencia al método Xpert® MTB/RIF el cual si puede detectar la secuencia diana de MTB aun en bajas cargas bacilares.

En un estudio de Cepheid en el 2010, se analizaron las características de rendimiento de la prueba Xpert® MTB/RIF que plantea el fabricante, en dos centros hospitalarios con muestras pulmonares; la sensibilidad reportada para la detección del complejo *M. tuberculosis* varía entre 96.5% y 99.1%<sup>28</sup>, valores cercanos a los obtenidos en este estudio 96,29% n = [26/27] (IC<sub>95%</sub> = 89,02 - 100,00) (Tabla 6). Por lo que la capacidad de Xpert® MTB/RIF para identificar correctamente, a los individuos con cultivo positivo para *M. tuberculosis* es considerablemente alta en muestras pulmonares. Así mismo, la alta carga bacilar que contengan las muestras, aumenta la probabilidad de detección del ADN del complejo *M. tuberculosis*, debido a que Xpert® MTB/RIF presenta un límite de detección estimado de 131 UFC/mL (IC<sub>95%</sub> = 106.2 – 176.4 UFC/mL)<sup>28</sup>; esta carga aumenta la probabilidad de crecimiento en el cultivo sólido/líquido en donde se necesitan como mínimo de 10-100 bacilos en la muestra<sup>29</sup>, disminuyendo así los falsos negativos.

Debido a que la técnica Xpert® MTB/RIF contiene cebadores que amplifican una porción del gen *rpoB* (región de 81 pb), así como cinco sondas (A-E) para las mutaciones dentro de la región determinante de resistencia a rifampicina; cuando *M. tuberculosis* es detectada por al menos dos de cinco sondas, esta es identificada como resistente al fármaco<sup>30</sup>, lo cual hace que esta técnica llegue a presentar alta sensibilidad y especificidad para la determinación de resistencia a la rifampicina. Sin embargo, diversos autores han reportado discrepancia en la detección de este gen, presentando falsos negativos cuando el paciente se encuentra infectado con múltiples cepas de tuberculosis, ya que Xpert® MTB/RIF solamente puede detectar el gen *rpoB* y no todas las mutaciones que puedan llegar a causar resistencia a la rifampicina<sup>31</sup>. Así mismo, estudios previos han reportado que luego de analizar cientos de muestras,

se pueden obtener resultados tanto falsos negativos como falsos positivos de resistencia al fármaco.

Estas variaciones pueden deberse a la presencia de secuencias tipo rpo $\beta$  salvaje que puedan llegar a ser detectadas por las sondas de Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF, como secuencias resistentes del gen, dando lugar a que intrínsecamente sea más susceptible a presentar falsos negativos a la sensibilidad del fármaco, en las poblaciones de *M. tuberculosis* con objetivos mixtos (secuencia salvaje y secuencia resistente del gen rpo $\beta$ ), por lo que puede llegar a afectar la sensibilidad y especificidad de la prueba<sup>25</sup>.

En cuanto a la especificidad de la técnica Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF contra Ziehl-Neelsen, en muestras extra pulmonares, arribó hasta un 79,52% n = [66/83] (IC<sub>95%</sub> = 69,52 - 89,52) y en muestras pulmonares un 86,96% n = [100/114] (IC<sub>95%</sub> = 80,96 - 92,96). Un porcentaje menor en comparación a la sensibilidad, resultado de las discrepancias ya mencionadas que provocan los falsos negativos. Múltiples errores pueden provocar falsos negativos en el procesamiento de una muestra para (BK), pueden ser sistemáticos o aleatorios, con mayor frecuencia puede deberse a una mala práctica al momento de preparar la muestra, el extendido, o la tinción; al momento de contar también puede darse un error por negligencia al no visualizar la cantidad de campos obligatorios para dar un diagnóstico negativo.

El VPP para muestras extra pulmonares fue de 60,47% n = [26/43] (IC<sub>95%</sub> = 51,47 - 69,47) y el VPN fue de 98,50% n = [66/67] (IC<sub>95%</sub> = 97,50 - 99,5), mientras que para muestras pulmonares el VPP fue de 65,91% n = [29/44] (IC<sub>95%</sub> = 48,91 - 82,91) y el VPN fue de 99,01% n = [100/101] (IC<sub>95%</sub> = 98,01 - 100,00). Por lo cual la probabilidad de que resultados negativos provenientes del Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF, acierten en dar un diagnóstico negativo son muy altas. El VPP se ve afectado de igual manera por los falsos positivos y esto hace que su porcentaje de probabilidad sea mucho

menos, lo que se traduce en incertidumbre al momento de predecir valores positivos para MTB.

La estrecha relación entre la técnica de Ziehl-Neelsen y el método Xpert® MTB/RIF para el diagnóstico de tuberculosis (TB) han motivado esta investigación a la búsqueda de una resolución entre ambos métodos y el impacto que podría tener sobre la demora en la entrega de resultados de los estudios microbiológicos. De forma experimental se recabaron los datos necesarios para relacionar el número de muestras trabajadas de forma correcta, y el tiempo que conllevar procesarlas en una jornada laboral de 8 horas.

Aplicando BK según las normativas de bioseguridad y los protocolos para el procesamiento de muestras microbiológicas, se puede procesar 1 muestra a la vez, procesar dicha muestra en manos de un profesional capacitado en el área de baciloscopía demora aproximadamente 10 minutos (tiempo promedio medido de forma experimental en el proceso de esta investigación bajo la observación de la Lcda. Annalia Rondón y el Lcdo. Ulises Medina), lo que a su vez se traduce en 48 muestras correctamente procesadas en una jornada de 8 horas. Por otra parte al aplicar el método Xpert® MTB/RIF respetando de igual maneras las normas de bioseguridad y el procedimiento de la técnica, se pueden procesar de manera simultánea 13 muestras a la vez, pero los resultados se obtendrán al cabo de 90 minutos, lo que significa que al final de una jornada de 8 horas se procesarán correctamente 69 muestras.

Las diferencias entre ambos métodos son claras, la facilidad de poder procesar 13 muestras a la vez, sin mayor presión o capacitación por parte del recurso humano, es algo que favorece al método Xpert® MTB/RIF y a la mayoría de los métodos moleculares automatizados. Sin embargo, el factor tiempo en relación muestra-

resultado se inclina hacia el BK si ponemos como referencia el procesar una sola muestra.

El impacto que tendría en la entrega de resultados el incluir métodos moleculares va a depender del enfoque que se les dé. Si bien los estudios microbiológicos llevan un tiempo mayor a otro tipo de estudios más rutinarios, el objetivo de comparar es hacer estimaciones de tiempo, costo y confiabilidad que influyan de manera positiva en el proceso analítico y diagnóstico de enfermedades como la tuberculosis.

Como sucede con otras bacterias, *M. tuberculosis* tiene la capacidad de desarrollar resistencia a los efectos de los fármacos. La TB resistente fue reconocida tras la introducción del primer fármaco antituberculoso, la estreptomina, al final de los años 40. El rápido desarrollo de resistencias a la monoterapia condujo, con la finalidad de combatirlas, a la aparición de múltiples fármacos cuya combinación constituye en la actualidad la piedra angular del tratamiento frente a la tuberculosis<sup>33</sup>.

Las cepas de *M. tuberculosis* que son resistentes a isoniazida y rifampicina, con o sin resistencia a otras drogas, han sido denominadas cepas multirresistentes a drogas o TB-MDR. La OMS estima que 50 millones de personas a nivel mundial podrían estar infectadas con TB-MDR y que aproximadamente 3,1% de los 8,8 millones de nuevos casos en el año 2002 fueron causados por TB-MDR<sup>32</sup>. Para este estudio se categorizó la resistencia en pacientes aislados de MTB atendidos en el Ambulatorio tipo II “La Sabanita” de Ciudad Bolívar – Estado Bolívar aplicando el Método Xpert® MTB/RIF. Los resultados arrojaron que 19,23% (n=10) de los casos detectados (n=52), presentan resistencia Rifampicina, cifras similares a las obtenidas en 2002 por la OMS.

## CONCLUSIONES

El número de casos positivos para tuberculosis pulmonar en los pacientes que acuden al Ambulatorio tipo II “La Sabanita” entre los meses de Agosto a Abril del año 2022 fue de 52 (30,59%), mientras que el número de casos negativos fue de 118 (69,41%).

Para las muestras procesadas con la tecnología Xpert contra la Baciloscopía aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen los indicadores de desempeños muestran una sensibilidad de 96,67% para muestras pulmonares y 96.29% para muestras extra pulmonares, una especificidad de 86,96% para muestras pulmonares y 79.52% para muestras extra pulmonares, valores de predicción positivos de 65,91% para muestras pulmonares y 60.47% para muestras extra pulmonares, y de predicción negativos 99,01% para muestras pulmonares y 98.50% para muestras extra pulmonares, además el índice de Kappa se ubicó en 0,72 que en la escala de interpretación se traduce como una concordancia considerable.

Introducir métodos moleculares para el diagnóstico de *M. tuberculosis*, acortará los tiempos en la entrega de resultados por lotes. Sin embargo, la Baciloscopía (BK) aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen es el método más rápido para la detección de BAR en la relación muestra/resultado.

La resistencia a Rifampicina del grupo *M. tuberculosis* es un factor que está en constante seguimiento por su importancia a nivel epidemiológico. De las 52 muestras procesadas en las que se detectó la secuencia diana de MTB, 10 presentaron resistencia a Rifampicina (19,23%).

## RECOMENDACIONES

Realizar más investigaciones sobre la metodología Xpert MTB/RIF, sus aplicaciones, su rendimiento y eficacia en relación a otros métodos de detección para *M. tuberculosis* aplicados en Venezuela.

Realizar una comparación de la metodología Xpert MTB/RIF versus el cultivo, junto a otra prueba molecular para (ensayo de base sólida de hibridación, amplificación isotérmica mediada por lazo, entre otros), para comprar el desempeño de la prueba.

Realizar un estudio similar con mayor número de muestras resistentes a Rifampicina, para evaluar si existe discrepancia en la eficacia del método Xpert MTB/RIF.

Realizar un estudio con mayor número de muestras tanto pulmonares como extrapulmonares, para evaluar la eficacia de la metodología Xpert MTB/RIF.

Realizar un estudio de la estimación de costos que conllevaría la introducción de métodos moleculares al sistema de salud para el diagnóstico de *M. tuberculosis*.

Fomentar a través de las instituciones y casas de estudio la actualización constante de los conocimientos y métodos aplicados para el diagnóstico de *M. tuberculosis*.

Concientizar a través de campañas informativas, sobre los riesgos de la automedicación y su relación con el aumento de resistencia a Rifampicina y otros antibióticos de amplio espectro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Ministerio de Salud de Argentina. 2019. Guía práctica para el diagnóstico y tratamiento de las personas con TB en el primer nivel de atención. [PDF]; pp. 1-68. Disponible: [https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-01/0000001434cnt-2019-04-04\\_guia-tb.pdf](https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-01/0000001434cnt-2019-04-04_guia-tb.pdf). [Abril 2022]
- 2) Trabado, C., Cordero, E., Garita, R., Brenes M. 2016. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. INCIENSA. Gaceta No. 237. Páginas1-84. [Abril 2022]
- 3) Bocanegra, A., Núñez, Z. 2020. Tuberculosis pulmonar y pleural en un hospital tipo IV, Carabobo, Venezuela. Salus [PDF]. 24(1):18-25. Disponible: <http://servicio.bc.uv.edu.ve/fcs/vol24n1/art04.pdf>. [Abril 2022]
- 4) Colomer, E. 2018. Tuberculosis en el Departamento de Salud Valencia- Doctor Peset. Aportación de los Métodos de Microbiología Molecular. Tesis Doctoral. Departamento de Microbiología y Ecología. Universidad de Valencia, España. pp 1-243 [PDF]. Disponible: <https://mobiroderic.uv.es/handle/10550/67924>. [Mayo 2022]
- 5) World Health Organization (WHO). 2016. Global Tuberculosis Report 2016. 20th edition. [PDF]; pp. 1-214. Disponible: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/191102/9789241565059\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/191102/9789241565059_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y). [Abril 2022]

- 6) Villalobos, C., Soberanis S., Guzmán, B. 2018. Evaluación de una técnica de PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su resistencia a la rifampicina. Trabajo de Grado. Facultad de ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos, Guatemala. pp 1-100 [PDF]. Disponible: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1219.pdf>. [Mayo 2022]
- 7) Flores, A., Ochoa, M., Sánchez, G. 2016. Estrategias diagnósticas aplicadas en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc [PDF]. 2016;54(1):122-7. Disponible: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745148024>. [Mayo 2022]
- 8) Procesamiento de muestras respiratorias para diagnóstico de tuberculosis (baciloscopia). EHAS. Proyecto AECID 2012 [PDF]. pp 1-12. Disponible: <https://telemicroscopia.org/assets/diagnostico-tuberculosis.pdf>. [Mayo 2022]
- 9) Vallejo, P., Rodríguez J., Searle, A., Farga, V. 2015. Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. Rev. Chil. Enferm. Respir [PDF]. 2015; 31: 127-131. Disponible: <https://scielo.conicy.cl/pdf/rcher/v31n2/art10.pdf>. [Mayo 2022]
- 10) Ortiz, J., Franco, G., Ramos, M. 2019. Validación e implementación de GeneXpert MTB/RIF para diagnóstico de tuberculosis en Ecuador. Kasmera [PDF]. 2019;47(1):29-37. Disponible:

<https://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/download/24674/pdf/>. [Mayo 2022]

- 11) Mederos, L., Martínez, M., Sardiñas, M., García, G., Chilemo, S., Díaz, R. 2018. Importancia Diagnóstica del "GeneXpert Mtb – Rif" en pacientes infectados por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica [PDF]. 2018;37(4):355-363. Disponible: <https://www.redalyc.org/journal/559/55963209008/55963209008.pdf>. [Mayo 2022]
- 12) Elizalde E, Vásquez J, Del Cisne A. 2018. Conocimiento y actitudes sobre la tuberculosis pulmonar en pacientes y familiares que reciben tratamiento en el Centro de Salud Venezuela de la ciudad de Machala [En línea]. Disponible: <http://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/20660>. [Abril 2022]
- 13) World Health Organization (WHO). 2017. Global Tuberculosis Report 2017. 21th edition. [PDF]; pp. 1-220. [Abril 2022]
- 14) Fernández, C., Fandiño, C., López, D., Del Nogal, B., Rodríguez, N., Convit, J., Araujo, Z., De Waard, J. 2002. Tuberculosis en menores de 15 años en la población Warao de Venezuela. Investigación Clínica. [En línea]. 43(1):35-48. Disponible: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0535-51332002000100005](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332002000100005). [Abril 2022]
- 15) Sánchez Lerma L, Carrillo Franco J, Ochoa Bernal Y, Pérez-Gutiérrez N. 2018. Aproximación a la situación de la Tuberculosis pulmonar en

comunidades indígenas del municipio Puerto Gaitán, Meta, Colombia. Rev Haban Cienc Méd [En línea]. 17(3):462-480. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1804/180459045012/>. [Abril 2022]

- 16) MedlinePlus en español [2019]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.). [En línea]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/heartattack.html> [Junio 2022]
- 17) Sequeira M, Malbrán C, Barrera L. 2018. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis parte 1: Manual de actualización de la Baciloscopia [En línea]. Lima: ORAS – CONUH. p. 15-63. Disponible en: [https://www.paho.org/es/file/52181/download?token=ad6\\_aVx4](https://www.paho.org/es/file/52181/download?token=ad6_aVx4) [Junio 2022]
- 18) Jaramillo M, Robinson A, Pabón E, Marín P, Robledo J, Barrientos K, Montagut J. 2015. Diagnóstico de tuberculosis: desde lo tradicional hasta el desarrollo actual [En línea]. Colombia: Médica Colombiana S.A. Volumen 21, Números 7-8, 2015. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&ved=2ahUKewihsZDc0Lv8AhX5SDABHTbnAlkQFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Ffi-admin.bvsalud.org%2Fdocument%2Fview%2F9n557&usg=AOvVaw32-0URltIRBMf4uOpWdu8C> [Junio 2022]
- 19) España M, Guilarte A, Maldonado A, Ramírez C. 2016. Norma Oficial del Programa Nacional Integrado de Control de la Tuberculosis:

Manual para la red de atención comunal 1er Nivel [En línea]. Caracas: OPS/OMS. Capitulo 10, Pautas y procedimiento; p. 14-34. Disponible en: [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiLn7ub07v8AhXOSzABHQE7DeIQFnoECAgQAQ&url=https%3A%2F%2Fsovetorax.org.ve%2Fwp-content%2Fuploads%2F2017%2F03%2FMANUAL-NORMAS-RAC-1ER-NIVEL-TUBERCULOSIS-NOVIEMBRE-2016-VF.pdf&usg=AOvVaw2MT\\_mt62LlqgnFliKDE59V](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiLn7ub07v8AhXOSzABHQE7DeIQFnoECAgQAQ&url=https%3A%2F%2Fsovetorax.org.ve%2Fwp-content%2Fuploads%2F2017%2F03%2FMANUAL-NORMAS-RAC-1ER-NIVEL-TUBERCULOSIS-NOVIEMBRE-2016-VF.pdf&usg=AOvVaw2MT_mt62LlqgnFliKDE59V) [Junio 2022]

- 20) Sánchez L Karen Y. 2013. Escenario de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa como prueba diagnóstica en tuberculosis. Gac Méd Caracas. [En línea]. 117(3): 220-225. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0367-47622009000300005&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0367-47622009000300005&lng=es). [Junio 2022]
- 21) Graterol, O., Barreto, M., Ramos, N., Fernández, S., Da Mata, O., Angulo, J. 2016. Diseño del Kit de Tinción Ziehl Neelsen del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. INHRR [En línea]. 47( 1-2 ): 18-26. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04772016000100003&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772016000100003&lng=es). [Junio 2022]
- 22) Coni E, Malbrán C. 2012. Manual para el diagnóstico bacteriológico de tuberculosis parte 1: Baciloscopía [En línea]. 13-24. Disponible en: [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi82p\\_3sL38AhWlQjABHXMJCt8QFnoECEYQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fen%2Ffile%2F31814%2Fdown](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi82p_3sL38AhWlQjABHXMJCt8QFnoECEYQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fen%2Ffile%2F31814%2Fdown)

nload%3Ftoken%3Dv60d1pJg&usg=AOvVaw0N86UCjKOzJ0bl  
OQT2Blgf [Junio 2022]

- 23) Arias, F., Gutiérrez, R., Gallardo, M., Moreno, M., Muñoz, I., Kohan, K., Scappaticcio, A., Figueroa, J., Díaz, A. 2019. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis [En línea] p. 55-62. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&ved=2ahUKewjL7KGTn-H8AhX9j4kEHXZqDbcQFnoECAkQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.ispch.cl%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2FManual%2520de%2520procedimientos%2520t%25C3%25A9nicos%2520para%2520el%2520diagn%25C3%25B3stico%2520bacteriol%25C3%25B3gico%2520de%2520la%2520TBC.pdf&usg=AOvVaw2epLG8DKCbiT2R-cO6DuRC> [Octubre 2022]
- 24) Rufai, S., Kumar, P., Singh, A., Prajapati, S., Balooni, V. & Singh, S. 2014. Comparison of Xpert MTB/RIF with Line Probe Assay for Detection of Rifampin-Monoresistant Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(6),1846-1852. [Octubre 2022]
- 25) Ochoa, C., Orejas, G. 2012. Epidemiología y metodología científica aplicada a la pediatría (IV): Pruebas diagnósticas. *Anales Españoles de Pediatría*, 50(3). 301-314. [Octubre 2022]
- 26) Cortés, E., Rubio, J., Gaitán, H. 2014. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas.

Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología, 61(3). 247-255.  
[Octubre 2022]

- 27) Cepheid. (2010). Xpert® MTB/RIF. Estados Unidos: Diagnostic Medical Device. [Octubre 2022]
- 28) Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2014. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte II. Cultivo. Recuperado de: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/tb-labs-cultivo\[2\].pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/tb-labs-cultivo[2].pdf) [Octubre 2022]
- 29) Jahan, H., Jhora, S., Habib, Z., Yusuf, Md., Ahmed, I., Farzana, A. & Parveen, R. 2016. Diagnostic evaluation of GeneXpert MTB/RIF assay for the detection of rifampicin resistant Mycobacterium tuberculosis among pulmonary tuberculosis patients in Bangladesh. *Journal of Tuberculosis Research*, 4. 55-60. doi: 10.4236/jtr.2016.41007 [Octubre 2022]
- 30) Cayci, Y., Bilgin, K., Coban, A., Birinci, A., & Durupinar, B. 2017. An evaluation of falsepositive rifampicin resistance on the Xpert MTB/RIF. [En línea] *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 112(11). 756-759. doi: 10.1590/0074-02760170051. [Octubre 2022]
- 31) Arráiz N, Bermúdez V, Urdaneta B. 2015. Resistencia a drogas en M. Tuberculosis: Bases moleculares. *AVFT* [En línea]. 24(1):23-31. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-02642005000100004&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642005000100004&lng=es). [Octubre 2022]

- 32) Bermejo M. C., Clavera I., Michel de la Rosa F. J., Marín B. 2017. Epidemiología de la tuberculosis. Anales Sis San Navarra [En línea]. 30(Suppl 2):07-19. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272007000400002&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272007000400002&lng=es). [Octubre 2022]

## **APÉNDICES**

## Apéndice 1

### Interpretación de resultados método Xpert MTB/RIF

Resultado	Interpretación
MTB detectado: resistencia a RIF detectada (MTB DETECTED; Rif Resistance DETECTED)	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>Se ha detectado una mutación en el gen rpoβ</p> <p>Controles internos: No aplica la detección de la sonda SPC. No se requiere de una señal del SPC porque la amplificación de MTB podría competir con ese control.</p> <p>Resultados de comprobación de la sonda aceptables.</p>
MTB detectado: resistencia a RIF NO detectada (MTB DETECTED; Rif Resistance NOT DETECTED)	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>No se ha detectado una mutación en el gen rpoβ</p> <p>Controles internos: No aplica la detección de la sonda SPC. No se requiere de una señal del SPC porque la amplificación de MTB podría competir con ese control.</p> <p>Resultados de comprobación de la sonda aceptables.</p>
MTB detectado: resistencia a RIF NO indeterminada (MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE)	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>No se puede determinar la resistencia a RIF debido a una detección insuficiente de la señal.</p> <p>Controles internos: No aplica la detección de la sonda SPC. No se requiere de una señal del SPC porque la amplificación de MTB podría competir con ese control.</p> <p>Resultados de comprobación de las sondas aceptables.</p>
MTB no detectado: (MTB Not detected)	<p>No se ha detectado la secuencia diana de MTB.</p> <p>Controles internos: No aplica la detección de la sonda SPC. No se requiere de una señal del SPC porque la amplificación de MTB podría competir con ese control.</p> <p>Resultados de comprobación de la sonda aceptables.</p>

No válido (INVALID)	<p>No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Se debe repetir la prueba</p> <p>Controles internos:          SPC incorrecto. No se cumplen los criterios de aceptación, la muestra no se ha procesado correctamente o se ha inhibido la PCR.</p> <p>Resultados de comprobación de las sondas aceptables.</p>
Error (ERROR)	<p>No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Se debe repetir la prueba</p> <p>Controles internos:          SPC sin resultado.</p> <p>Comprobación de la sonda incorrecta. Uno o todos los resultados de este control han fallado.</p> <p>Nota: si la comprobación de la sonda es correcta, el error se debe al fallo de un componente del sistema.</p>
Sin resultado (NO RESULT)	<p>No se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. Se debe repetir la prueba</p> <p>Controles internos:          SPC sin resultado.</p> <p>Comprobación de la sonda no aplica.</p>

## Apéndice 2

### Solicitud al Instituto de Salud Pública del Estado Bolívar



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO BOLÍVAR  
ESCUELA CIENCIAS DE LA SALUD  
"DR. FRANCISCO VIRGILIO BATTISTINI CASALTA"  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

**Dirigida a:** Dr. Manuel Maurera  
Autoridad Única en Salud  
Instituto de Salud Pública del Estado Bolívar

Reciba primeramente un cordial saludo por parte de nuestra casa de estudio, y el agradecimiento por su colaboración al sistema de salud nacional en la formación e instrucción de nuestros futuros profesionales.

A través de la presente, en concordancia con la mutua colaboración y compromiso para la edificación de las generaciones de relevo. Hacemos solicitud de su autorización como institución, para dar uso a una data determinada de pacientes solicitantes del análisis de Baciloscopia (BK) en el centro asistencial *laboratorio de Baciloscopia del Ambulatorio Tipo II "La Sabanita"*. Así como también, la data de las muestras remitidas por el centro antes mencionado, al sistema GeneXpert ubicado en Ciudad Guayana. Todo esto en un período de tiempo comprendido desde abril hasta agosto del año en curso con el fin de realizar un estudio comparativo que garantice el impacto que tiene el uso de técnicas de biología molecular en el diagnóstico y tratamiento contra la tuberculosis, con fines educativos para la realización de un trabajo de grado para optar por el título de licenciatura en Bioanálisis.

Los datos solicitados incluyen el número de casos positivos y negativos de pacientes comunes y con factores de riesgo, garantizamos que la información manejada será tratada en conciencia y respeto a la confidencialidad a la que estamos obligados para con los usuarios. Sin revelar nombres, apellidos, poblaciones de origen o ningún otro factor por el que puedan ser identificados.

\_\_\_\_\_  
Doctor Manuel Maurera

  
\_\_\_\_\_  
Licenciada Antonella Antonucci

### Anexo 1

Extendido de las muestras para tinción (ZN) (Br. Claudia Rojas)



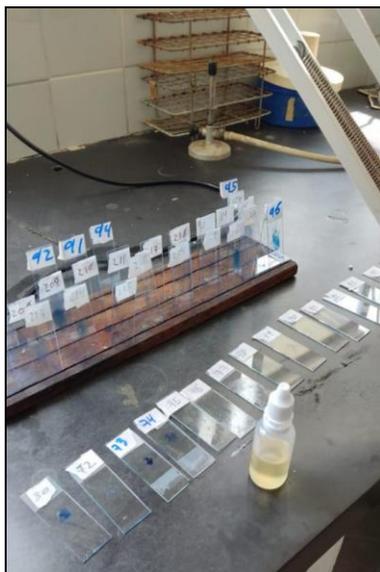
### Anexo 2

Serie de muestras procesadas (Área desinfectada)



### Anexo 3

#### Serie de muestras previa observación (Aceite de inmersión)



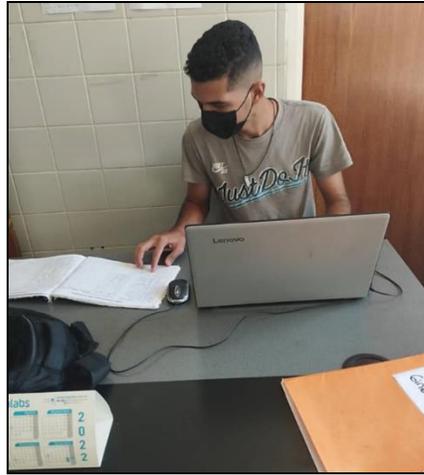
### Anexo 4

#### Observación de las muestras procesadas (Br. Claudia Rojas)



### Anexo 5

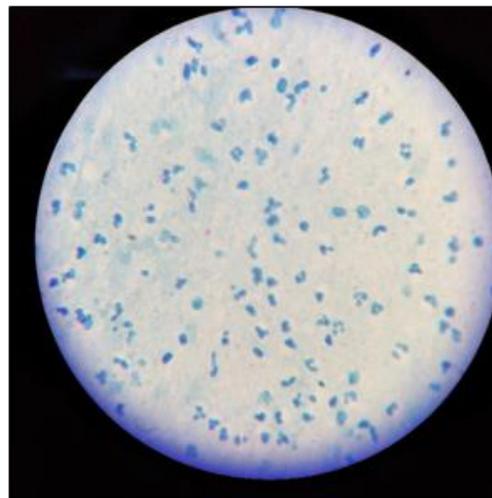
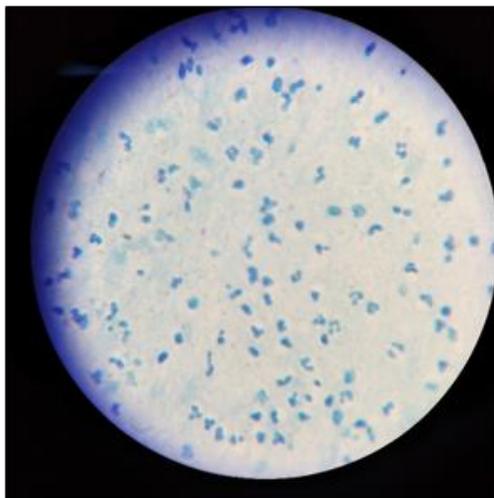
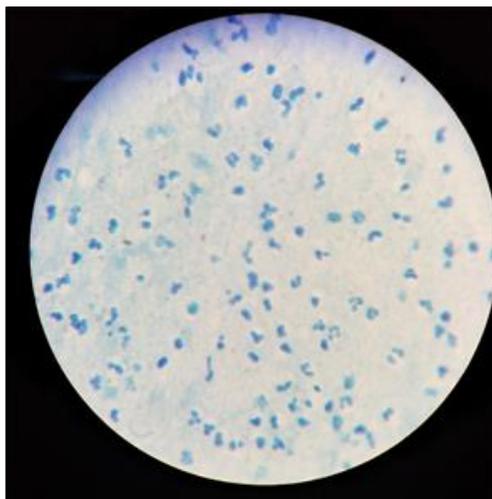
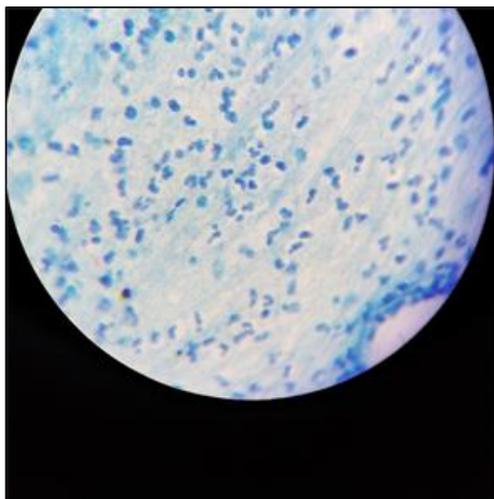
**Registro y análisis de la data GeneXpert y BK (Br. Viomar López)**



### Anexo 6

**Observación de las muestras procesadas (Lda. Annalia Rondón)**



**Anexo 7****Campos 100x. Tinción Ziehl-Neelsen. Baciloscopía (BK).**

### Anexo 8

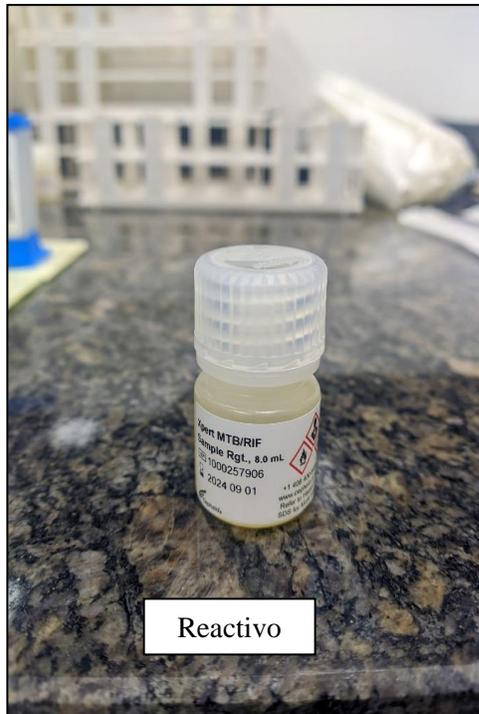
### Equipo y elementos necesarios para el Xpert® MTB/RIF



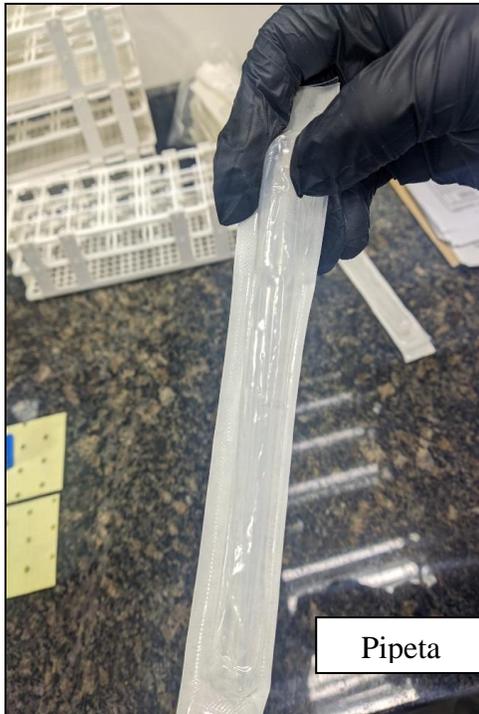
GeneXpert modelo GX-XVI-L



Cartucho

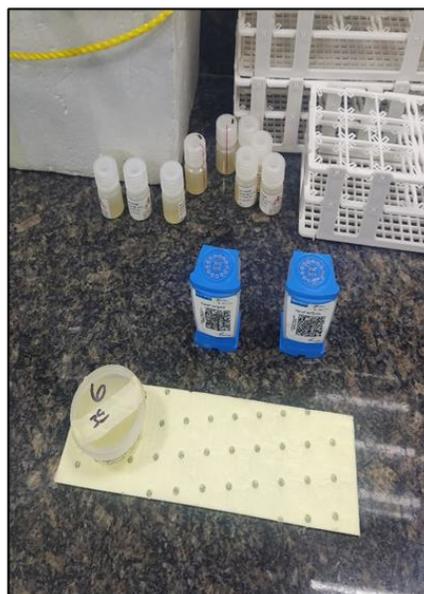
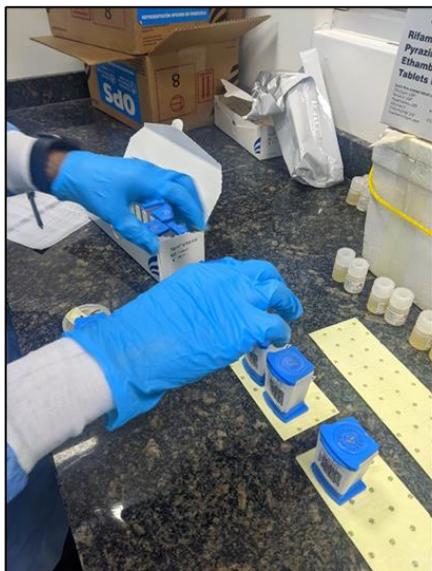


Reactivo



Pipeta

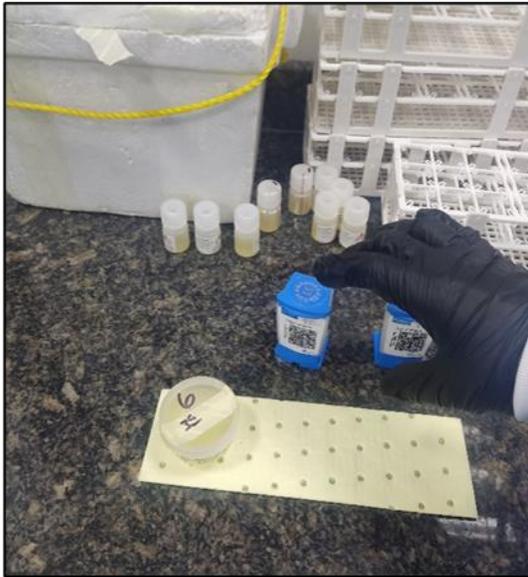
**Anexo 9**  
**Selección y llenado de cartuchos Xpert® MTB/RIF**



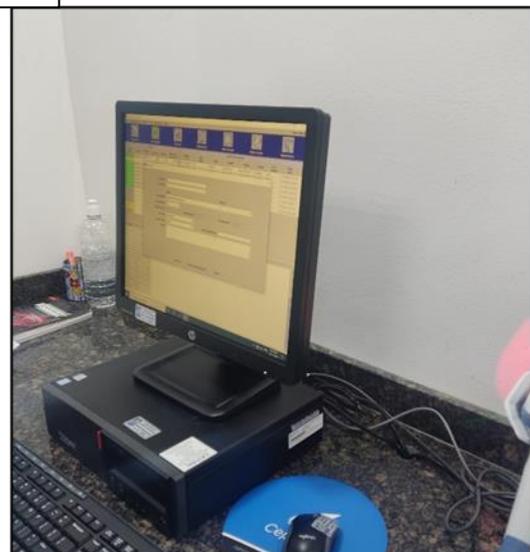
### Anexo 10

## Selección, Inserción, Lectura y Seguimiento. Método Xpert® MTB/RIF

Inserción



Seguimiento



## Anexo 11

### Indicadores de desempeño para una prueba diagnóstica.

#### Modelo de referencia

	Positivo	Negativo
Positivo	<b>Verdadero positivo (a):</b> Tienen la enfermedad y la prueba positiva.	<b>Falso positivo (b):</b> No tienen la enfermedad, pero la prueba es positiva
Negativo	<b>Falso negativo (c):</b> Tienen la enfermedad, pero la prueba es negativa	<b>Verdadero negativo (d):</b> No tienen la enfermedad y la prueba es negativa

**Fuente:** Gordis, L. (2015). Epidemiología. (5ª ed.). Evaluación de la validez y fiabilidad de las pruebas diagnósticas y de cribado. (pp. 88-115). España: Elsevier Saunders.

Indicador	Formula
Sensibilidad	$a / (a + c)$
Especificidad	$d / (b + d)$
Valor predictivo positivo	$a / (a + b)$
Valor predictivo negativo	$d / (c + d)$

**Fuente:** Gordis, L. (2015). Epidemiología. (5ª ed.). Evaluación de la validez y fiabilidad de las pruebas diagnósticas y de cribado. (pp. 88-115). España: Elsevier Saunders.

**Anexo 12**  
**Índice de concordancia Kappa (k).**

Modelo de referencia					
Método 1					
		I	O		
Método 2	I		B		N1
	O		D		N2
		3	N4		Total

**Formula:**  $k = 2 (AD + BC) / (N1 * N4 + N2 * N3)$

**Interpretación del índice de concordancia Kappa (k)**

Kappa	Concordancia
<0.00	Pobre
0.00 – 0.20	Leve
0.21 – 0.40	Razonable
0.40-0.60	Moderada
0.61-0.80	Considerable
0.80-1.00	Perfecta

**Fuente:** Landis, J. & Koch, G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33, 159-174.

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y**  
**ASCENSO**

<b>TÍTULO</b>	<b>RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL SISTEMA GENEXPERTEN COMPARACIÓN CON LA COLORACIÓN DE ZIEHL-NEELSEN</b>
---------------	---

<b>APELLIDOS Y NOMBRES</b>	<b>CÓDIGO CVLAC / E MAIL</b>
Br. López Medina, Viomar José	<b>CVLAC:</b> 27.334.284 <b>EMAIL:</b> <a href="mailto:viomarjosel@gmail.com">viomarjosel@gmail.com</a>
Br. Rojas Martínez, Claudia Mischelle	<b>CVLAC:</b> 26.374.478 <b>EMAIL:</b> <a href="mailto:claudiamrojasm@gmail.com">claudiamrojasm@gmail.com</a>

**PALABRAS O FRASES CLAVES:** Tuberculosis (TB), Espudo, Baciloscopía (BK), Ziehl-Neelsen (ZN), GeneXpert MTB/ RIF, Bacilo de Koch, Índice Kappa.

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y**  
**ASCENSO**

<b>ÁREA y/o DEPARTAMENTO</b>	<b>SUBÁREA y/o SERVICIO</b>
Departamento de Parasitología y Microbiología	

**RESUMEN (ABSTRACT):**

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa y una de las principales causas de mortalidad mundial. El diagnóstico microbiológico de (TB) se ha basado tradicionalmente en la realización inicial de una baciloscopia, aislamiento en cultivo de la cepa y en la identificación fenotípica del crecimiento. El auge de casos positivos para Tuberculosis en el país no cesa. La falta de actualización en los métodos de detección, así como la necesidad de áreas especializadas y adecuadas para el análisis y procesamiento de estas muestras infecto contagiosas, dan lugar a incertidumbres sobre la confiabilidad y la sensibilidad de los procesos actualmente aplicados. Objetivo: Señalar el rendimiento del sistema GeneXpert en comparación con la tinción de Ziehl-Neelsen en pacientes atendidos en el laboratorio de baciloscopia del Ambulatorio tipo II “La Sabanita”. Abril – Agosto, 2022. Metodología: estudio descriptivo, comparativo, experimental y de corte transversal, utilizando muestras pulmonares y extra pulmonares. Resultados: Para las muestras procesadas con la tecnología Xpert contra la Baciloscopia aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen los indicadores de desempeños mostraron una sensibilidad de 96,67% para muestras pulmonares y 96.29% para muestras extra pulmonares, una especificidad de 86,96% para muestras pulmonares y 79.52% para muestras extra pulmonares, valores de predicción positivos de 65,91% para muestras pulmonares y 60.47% para muestras extra pulmonares, y de predicción negativos 99,01% para muestras pulmonares y 98.50% para muestras extra pulmonares, además el índice de Kappa se ubicó en 0,72 que en la escala de interpretación se traduce como una concordancia considerable. Conclusiones: introducir métodos moleculares para el diagnóstico de M. tuberculosis, acortará los tiempos en la entrega de resultados por lotes. Sin embargo, la Baciloscopia, aplicando la tinción de Ziehl-Neelsen es el método más rápido para la detección de BAR en la relación muestra/resultado

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y**  
**ASCENSO**

**CONTRIBUIDORES:**

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU x	JU
Lcda. Antonella Antonucci	CVLAC:	12.194.145			
	E_MAIL	<a href="mailto:nenella1976@gmail.com">nenella1976@gmail.com</a>			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU x
Lcdo. Iván Amaya	CVLAC:	12.420.678			
	E_MAIL	<a href="mailto:rapomchigo@gmail.com">rapomchigo@gmail.com</a>			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU x
Lcdo. Fernando Linares	CVLAC:	24.850.713			
	E_MAIL	<a href="mailto:fernando.lch17@gmail.com">fernando.lch17@gmail.com</a>			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU x

**FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:**

2023	03	15
<b>AÑO</b>	<b>MES</b>	<b>DÍA</b>

**LENGUAJE. SPA**

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y**  
**ASCENSO**

**ARCHIVO (S):**

<b>NOMBRE DE ARCHIVO</b>	<b>TIPO MIME</b>
TESIS: RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DEL SISTEMA GENEXPERT EN COMPARACIÓN CON LA COLORACIÓN DE ZIEHL-NEELSEN	. MS.word

**ALCANCE**

**ESPACIAL:** laboratorio de Baciloscopía (BK) en el Ambulatorio tipo II “La Sabanita”

**TEMPORAL:** 5 años

**TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:**

Licenciatura en Bioanálisis

**NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:**

Pregrado

**ÁREA DE ESTUDIO:** Departamento de Parasitología y Microbiología

**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  
RECIDIDO POR Martínez  
FECHA 05/08/09 HORA 5:30

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUMBELE  
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 Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

# 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 participara al Consejo Universitario “

#### AUTOR(ES)

Br.ROJAS MARTÍNEZ CLAUDIA MISHELLE  
C.I.26374478  
AUTOR

Br.LÓPEZ MEDINA VIOMAR JOSÉ  
C.I.27334284  
AUTOR

#### JURADOS

TUTOR: Prof. ANTONELLA ANTONUCCI  
C.I.N. 12.192.145

EMAIL: [Nenella1976@gmail.com](mailto:Nenella1976@gmail.com)

JURADO Prof. IVAN MAYA  
C.I.N. 12470698

EMAIL: [kaponehig@gmail.com](mailto:kaponehig@gmail.com)

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

EMAIL: [fernando.LCh17@gmail.com](mailto:fernando.LCh17@gmail.com)

P. COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO

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