



Utilidad de la prueba de detección de ácidos nucleicos GeneXpert tuberculosis (MTB/RIF) en muestras respiratorias y no respiratorias en un hospital de referencia

Utility of nucleic acids detection GeneXpert tuberculosis (MTB/RIF) in respiratory and non-respiratory hospital reference samples.

Darío Borraz-Noriega,¹ Julio César Robledo-Pascual,² Jorge Alonso Torres-Pérez,³ Oscar Israel Flores-Barrientos⁴

Resumen

OBJETIVO: Evaluar la sensibilidad y valores predictivos de BAAR-Ziehl-Neelsen y GeneXpert (MTB/RIF) en muestras respiratorias y no respiratorias en población general y con VIH.

MATERIAL Y MÉTODO: Estudio clínico abierto, sin distribución al azar, prospectivo, descriptivo y observacional efectuado de mayo de 2016 a enero de 2017. Los criterios de inclusión fueron: pacientes con datos clínicos epidemiológicos radiológicos que sugirieran tuberculosis en la evaluación diagnóstica o riesgo de padecerla. Se hizo toma simultánea de expectoración o muestra extrapulmonar para determinación de BAAR-Ziehl-Neelsen, GeneXpert MTB y cultivo; se utilizó como patrón de referencia el cultivo.

RESULTADOS: Se incluyeron en el estudio 120 pacientes, 88 (73.3%) hombres. La justificación de la realización de la prueba fue enfermedad aguda grave 76 (63.3%), el factor de riesgo de mayor prevalencia fue el VIH-SIDA 54 (45.5%). El mayor porcentaje correspondió a la forma respiratoria ($n = 75$, 62.5%). El total de las muestras ($n = 89$, 74.2%) fueron negativas respecto a BAAR en contraste con GeneXpert y cultivo, que fueron positivos en 94 casos (78.3%).

CONCLUSIONES: Los indicadores estables evaluados en la prueba GeneXpert mostraron que es una prueba útil, sobre todo en muestras extrapulmonares de pacientes con VIH-SIDA.

PALABRAS CLAVE: Tuberculosis; tuberculosis fármaco-resistente.

Abstract

OBJECTIVE: To assess the sensitivity and predictive values of BAAR Ziehl-Neelsen and GeneXpert (MTB/RIF) for respiratory and non-respiratory samples in the general population and HIV-patients.

MATERIAL AND METHOD: A clinical open, not-random, prospective, descriptive and observational study was done from May 2016 to January 2017. Inclusion criteria were: Patients with radiological, clinical and epidemiological data that suggested tuberculosis within the diagnostic evaluation or risk of having it. Simultaneous sputum or extrapulmonary sample was taken for determination of Ziehl-Neelsen, GeneXpert MTB and culture; the crop was used as a gold standard.

RESULTS: There were included 120 patients, 88 (73.3%) men; the justification for performing the test was severe acute disease ($n = 76$, 63.3%), the risk factor with the highest prevalence was HIV-AIDS ($n = 54$, 45.5%) The highest percentage was respiratory ($n = 75$, 62.5%). The total of samples 89 (74.2%) were negative with respect to BAAR in contrast to GeneXpert and culture, which reported positive in 94 (78.3%).

CONCLUSIONS: The stable indicators evaluated in the GeneXpert test showed that it is a useful test especially in extralung samples of patients with HIV-AIDS.

KEYWORDS: Tuberculosis; Tuberculosis drug resistant.

¹ Médico residente de cuarto grado de Medicina Interna.

² Jefe del Departamento de Neumología.

³ Jefe del Departamento de Medicina Interna.

⁴ Jefe del Departamento de Infectología. Hospital de Alta Especialidad Dr. Juan Graham Casasús, Villahermosa, Tabasco.

Recibido: 10 de febrero 2018

Aceptado: marzo 2018

Correspondencia

Darío Borraz Noriega
gal_144@hotmail.com

Este artículo debe citarse como

Borraz-Noriega D, Robledo-Pascual JC, Torres-Pérez JA, Flores-Barrientos OI. Utilidad de la prueba de detección de ácidos nucleicos GeneXpert tuberculosis (MTB/RIF) en muestras respiratorias y no respiratorias en un hospital de referencia. Med Int Méx. 2018 mayo-junio;34(3):381-387.
DOI: <https://doi.org/10.24245/mim.v34i3.1994>

ANTECEDENTES

La tuberculosis sigue siendo un importante problema de salud pública en el país y en el mundo. En 2012 se reportaron cerca de 8.6 millones de casos nuevos de tuberculosis en todo el mundo, que fue causante de 940,000 muertes, en el continente americano se generaron 280,000 casos nuevos y 19,000 muertes por ese padecimiento.

La emergencia y diseminación de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a diferentes fármacos representan un serio problema de salud pública en todo el mundo, que dificulta el control de la enfermedad, por lo que el diagnóstico temprano de tuberculosis activa y la detección temprana de cepas multirresistentes (TB MDR) son fundamentales para interrumpir su trasmisión.

La principal limitación de los programas de control de tuberculosis son las dificultades para hacer el diagnóstico temprano de la enfermedad. Tradicionalmente la baciloscopy ha sido el método inicial para el diagnóstico de la tuberculosis por su simplicidad, rapidez de procesamiento y bajo costo. Sin embargo, su baja sensibilidad limita la utilidad de esta técnica aún más en los casos extrapulmonares, así como en los pacientes con VIH-SIDA en los que esta prueba tiene menor sensibilidad. Asimismo, los cultivos son más sensibles, pero requieren técnicas más complejas, que demoran entre 30 y 60 días para demostrar el desarrollo micobacteriano. Por eso en los últimos decenios se han desarrollado nuevos métodos de diagnóstico de la tuberculosis, que intentan superar las limitaciones de la baciloscopy y del cultivo, GeneXpert integra procesamiento de muestras y PCR en un cartucho de plástico desechable que contiene todos los reactivos necesarios para lisis bacteriana, extracción de ácidos nucleicos, amplificación y detección. El cartucho MTB/RIF se inserta en el

dispositivo GeneXpert que proporciona resultados en un lapso de 1.45 horas.

El objetivo de este estudio es evaluar la sensibilidad y los valores predictivos positivos y negativos (VPP, VPN) de la baciloscopy (BAAR-Ziehl-Neelsen) y GeneXpert (MTB/RIF) de muestras respiratorias y no respiratorias de población general y de pacientes con VIH-SIDA.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio clínico abierto, sin distribución al azar, prospectivo, descriptivo y observacional al que ingresaron todos los pacientes que acudieron al Hospital de Alta Especialidad Dr. Juan Graham Casasús, Villahermosa, Tabasco, México, de mayo de 2016 a enero de 2017. El hospital es lugar de referencia de población de ese estado, así como de la región norte del estado de Chiapas, del noroeste del estado de Campeche y del suroeste de Veracruz.

Se incluyeron pacientes adultos, hombres y mujeres, que tenían síntomas e imágenes radiográficas sugerentes de tuberculosis pulmonar o tuberculosis multirresistente, que proporcionaron tres muestras de espuma con al menos 1.5 mL; las muestras se tomaron de manera consecutiva, lo que requirió hospitalización de al menos tres días para la realización de la tinción de Ziehl-Neelsen; las muestras fueron proporcionadas por la mañana y valoradas por un grupo de químicos en un área específica del laboratorio de esta unidad hospitalaria, quienes cuentan con la capacitación previa para la realización de la misma, así como su valoración por medio de microscopia. Respecto a la evaluación de ésta, se consideró positiva como mínimo la realización de las tres tinciones de manera consecutiva en la que se reporta de la manera siguiente: negativa cuando no se encuentran bacilos en por lo menos 100 campos observados, positiva (+) en la que se encuentran 10 a 99 BAAR en 100



campos, positiva (++) cuando se observan 1 a 10 BAAR por campo, positiva (+++) más de 10 BAAR por campo (**Cuadro 1**).

Además, se realizó el cultivo de la primera muestra utilizando medio sólido (Lowestein) en el laboratorio regional del estado de Tabasco, en el que se realizó prueba de sensibilidad a fármacos primarios. También ingresamos pacientes con datos clínicos sugerentes de tuberculosis extrapulmonar (líquido cefalorraquídeo, derrame pleural, derrame pericárdico, ganglio, líquido de ascitis), pacientes con diagnóstico reciente de tuberculosis bajo esquema de tratamiento, pacientes en tratamiento previo con conversión bacteriológica negativa, contactos sintomáticos, así como riesgo de multirresistencia, todos los pacientes con infección con VIH, que cursaron con datos clínicos y radiológicos de la enfermedad o riesgo de resistencia. El protocolo de estudio fue aprobado por el comité de bioética de esta área hospitalaria, se otorgó consentimiento informado a todos los pacientes que fueron ingresados en el periodo en el que se llevó a cabo la captura de información.

Cuadro 1. Características basales de los pacientes ingresados con diagnóstico de tuberculosis

Variable	Núm.	%
Género		
Masculino	88	73.3
Femenino	32	26.7
Enfermedad aguda grave	76	63.3
Justificación de la prueba		
Prueba confirmatoria/resistencia	9	7.5
Parte de protocolo de estudio	8	6.5
VIH-SIDA		
Sí	54	44
No	66	55
Diabetes mellitus 2		
Sí	47	39.2
No	73	60.8
Inmunodepresión		
Sí	7	5.8
No	112	93.3
Muestra		
Expectoración	75	62.5
LCR	27	22.5
Ganglio	4	3.3
Derrame pleural	11	9.2
Pericárdico	2	1.7
Ascitis	1	8
Toma de decisión		
Inicio de tratamiento	91	76.5
Suspender tratamiento	1	8
No se tomó decisión	21	17.6

pleural, derrame pericárdico, ganglio, líquido de ascitis), pacientes con diagnóstico reciente de tuberculosis bajo esquema de tratamiento, pacientes en tratamiento previo con conversión bacteriológica negativa, contactos sintomáticos, así como riesgo de multirresistencia, todos los pacientes con infección con VIH, que cursaron con datos clínicos y radiológicos de la enfermedad o riesgo de resistencia. El protocolo de estudio fue aprobado por el comité de bioética de esta área hospitalaria, se otorgó consentimiento informado a todos los pacientes que fueron ingresados en el periodo en el que se llevó a cabo la captura de información.

Diseño y supervisión del estudio

Se recolectaron los datos de todos los pacientes que ingresaron durante el periodo de mayo de 2016 a enero de 2017 de manera prospectiva. Se recolectaron los datos y se revisaron los resultados de cada prueba diagnóstica en la base de datos del sistema y red hospitalaria del Hospital Dr. Juan Graham Casasús respecto a la tinción Ziehl-Neelsen, cultivo y la prueba GeneXpert; el equipo encargado en el procesamiento del mismo cuenta con un programa independiente del usuario en el que se almacenan los resultados de cada prueba.

El análisis de datos lo realizó un grupo estadístico de investigadores, que no intervino en la recolección de datos. Los pacientes con diagnóstico reciente o que cumplieran con resultados positivos, así como fármaco-resistencia se evaluaron en conjunto de acuerdo con las características clínicas y los resultados de estudios realizados por el comité de tuberculosis estatal de Villahermosa, Tabasco, a los que se les otorgó tratamiento médico.

Categoría de análisis

Los pacientes ingresados se dividieron en dos grupos de manera general, los pulmonares y

los extrapulmonares; además, evaluamos la asociación con factores de riesgo importante, como infección por VIH y diabetes mellitus. La prueba GeneXpert (MTB/RIF) la realizó el personal de químicos del laboratorio del Hospital Dr. Juan Graham Casasús, que cuenta con la capacitación necesaria para la manipulación de esta prueba, así como la muestra de esputo. El material de muestra obtenido se colocó en un recipiente cerrado que contenía las muestras, por ejemplo esputo, se agitó de manera manual dos veces durante un periodo de 15 minutos a temperatura ambiente antes de realizar la transferencia de 2 mL al cartucho que contiene un ensayo en cadena de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para amplificar una secuencia específica de MTB del Gen rpoB. Se sondea con balizas moleculares para mutaciones dentro de la región que determina la resistencia a la rifampicina.

Criterios de inclusión

Pacientes de uno y otro género (masculino/femenino). Datos clínicos, epidemiológicos y radiológicos que sugirieran tuberculosis en la evaluación diagnóstica. Con toma simultánea de expectoración o muestra extrapulmonar para la determinación de BAAR-Ziehl-Neelsen, GeneXpert tuberculosis (MTB/RIF) y cultivo para Lowestein-Jensen. Todas las baciloskopias se completaron con tres muestras de expectoración, que se recolectaron por la mañana, en días distintos y consecutivos. En pacientes con riesgo de resistencia se realizaron pruebas de sensibilidad a fármacos de primera y segunda líneas. Firma de consentimiento informado para la transfusión de hemoderivados.

Criterios de exclusión

Pacientes atendidos fuera de la unidad y con complicaciones asociadas. Pacientes a los que no se realizaron las pruebas evaluadas por parte

del personal médico capacitado de esta área hospitalaria.

Criterios de eliminación

Alta voluntaria. Retirar el consentimiento informado.

Recolección de la información

Se basó en la recolección de variables fundamentadas en realizar la investigación como comorbilidades asociadas y las de interés mencionadas. Un residente de medicina interna recolectó los datos de todos los pacientes ingresados al servicio de Urgencias, Unidad de Cuidados Intensivos y al piso de Medicina Interna con diagnóstico o sospecha de tuberculosis pulmonar o extrapulmonar. El registro de la información se hizo en una base de datos creada con el programa estadístico SPSS para Mac V21 con múltiples variables de estudio.

Análisis estadístico

Estimamos la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de cada muestra que se clasificó como respiratoria y no respiratoria (líquido cefalorraquídeo, derrame pleural, pericárdico, ganglio, ascitis) en pacientes con VIH-SIDA y diabetes mellitus tipo 2. Los datos se recogieron en una hoja de Excel y se analizaron utilizando el paquete estadístico para ciencias sociales versión 21 (SPSS Inc.).

RESULTADOS

Se incluyeron 120 pacientes, de los que 88 eran hombres (73.3%); la justificación de la realización de la prueba desde el inicio fue enfermedad aguda grave en 76 pacientes (63.3%), 26 pacientes tenían diagnóstico previo de tuberculosis (21.7%), se encontraron factores de riesgo concomitantes, como infección por VIH-SIDA,



en 54 pacientes (45.5%), diabetes mellitus tipo 2 en 47 (39.2%) e inmunodepresión en 7 (5.8%).

La mayor parte de las muestras fueron respiratorias; 75 de ellas (62.5%) se obtuvieron por esputo; las muestras extrapulmonares se obtuvieron en el siguiente orden de frecuencia: 27 de líquido cefalorraquídeo (22.5%), 11 de líquido pleural (9.2%), 4 de ganglios (3.3%), 2 pericárdicos (1.7%) y uno de líquido de ascitis (0.8%). Los resultados obtenidos en el total de las muestras ($n = 89$, 74.2%) fueron negativos respecto al BAAR en contraste con GeneXpert y cultivo, que fueron positivos en 94 (78.3%), con mutación en 13 (10.8%) y 26 (21.7%) negativos del total de la población estudiada. El mayor porcentaje de BAAR negativo comparando los resultados de GeneXpert y cultivo de los que fueron positivos (falsos negativos) se generó en los pacientes con infección por VIH-SIDA, que fueron 54 (45%), 7 (8.4%) con inmunodepresión y 16 (19.2%) padecían diabetes mellitus tipo 2.

Se identificaron 13 pacientes (10%) con mutación a *rpoB*, todos fueron muestra de esputo pulmonar de las que 11 no cursaron con VIH-SIDA y dos pacientes eran VIH-SIDA positivos. Este grupo de pacientes conformaron 17.6% del total, en los que no se tomó decisión debido a que estaban en espera de resultados de sensibilidad específica para fármacos de primera y segunda líneas para posteriormente dictaminar tratamiento de acuerdo con el grupo líder de tuberculosis estatal y nacional.

En la evaluación de las pruebas diagnósticas se encontró que la baciloscopy tuvo sensibilidad de 35%, valor predictivo negativo de 30% de manera general, que disminuyó aún más los valores mencionados en pacientes con VIH-SIDA. Con muestras pulmonares la sensibilidad fue de 5%, valor predictivo negativo 22%; con muestras extrapulmonares la sensibilidad fue de 10%, valor predictivo negativo 25%, en comparación con

GeneXpert y cultivo, que mostraron mayor estabilidad manteniendo sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de 100% en esta población evaluada (**Cuadros 2 a 4**).

En esta área hospitalaria la toma de decisión con el resultado de GeneXpert fue la siguiente: se inició tratamiento en 91 casos (76.5%), se suspendió el tratamiento a 1.4%. El tiempo medio de solicitud de la prueba diagnóstica fue de 2.05 días (26%), resultado 1.24 (16%), días de hospitalización: 11.53 ± 8.3 , tiempo medio de la toma de decisión: un día (**Cuadro 5**).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, un ensayo diseñado y enfocado a la región del sureste de México, con alta prevalencia de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, además de alta asociación y prevalencia en los pacientes con comorbilidades como VIH-SIDA, diabetes mellitus tipo 2 e inmunodepresión, se demuestra que la prueba GeneXpert es rentable debido a que permite establecer el diagnóstico de ambas maneras y en los escenarios clínicos descritos, además, demostramos la baja sensibilidad, especificidad y los falsos negativos generados por las baciloscopy en el grupo de pacientes con VIH-SIDA, así como en las muestras extrapulmonares y el retraso en el diagnóstico, lo que afecta el estado general de salud de los pacientes e incrementa la morbilidad y mortalidad.

En el grupo de casos extrapulmonares el mayor porcentaje se localizó como sospecha diagnóstica de tuberculosis meníngea, en la que la prueba de ensayo GeneXpert resultó positiva en 27 (22.5%), de los que 20 cursaron con VIH-SIDA y 7 pacientes no tenían factores de riesgo determinado. Esta enfermedad implica mal pronóstico que se incrementa con el transcurso de las horas en las que no se asigna tratamiento médico debido al retraso en el diagnóstico,

Cuadro 2. Muestras pulmonares

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
VIH-SIDA positivo				
BAAR	5	100	100	22
GeneXpert	100	100	100	100
VIH- SIDA negativo				
BAAR	35	100	100	30
GeneXpert	100	100	100	100
Diabetes mellitus 2				
BAAR	29	100	100	18
GeneXpert	100	100	100	100

Todas las cifras representan porcentaje.

Cuadro 3. Muestras extrapulmonares

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
VIH-SIDA positivo				
BAAR	10	100	100	25
GeneXpert	100	100	100	100

Todas las cifras representan porcentaje.

Cuadro 4. Porcentaje de positividad y negatividad de acuerdo con el método utilizado

Método	Positivo	Negativo	Total
Baciloskopias	31 (25.9%)	89 (74.2%)	120 (100%)
GeneXpert	94 (78.3%)	26 (21.7%)	120 (100%)
Cultivos	94 (78.3%)	26 (21.7%)	120 (100%)

con lo que se incrementa la mortalidad en este grupo de población, que representa 15 a 40% de mortalidad a pesar de régimen de tratamiento eficaz, por lo que la Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de GeneXpert MTB/RIF como prueba inicial para el diagnóstico de meningitis tuberculosa.

En nuestra población encontramos sensibilidad y especificidad del 100% respecto a la evaluación de GeneXpert. Este patrón se comparó mediante

el resultado de cultivo que mostró la misma sensibilidad y especificidad manteniéndose de manera estable; sin embargo, con GeneXpert obtenemos el resultado en 1.45 horas, lo que permite el inicio temprano del tratamiento médico.

Observamos la prevalencia de falsos negativos que genera la baciloscopía seriada en muestras pulmonares y extrapulmonares, que, a pesar de ser una prueba sencilla y de costo bajo, retrasa el diagnóstico, incrementa los contactos de transmisión en la población, no detecta los pacientes con riesgo de fármaco-resistencia, incrementa los días de estancia intrahospitalaria aumentando los costos día/cama y tiene baja sensibilidad y especificidad en la población con VIH-SIDA, además de generar falsos negativos en este grupo de pacientes en muestras específicamente extrapulmonares.

**Cuadro 5.** Evaluación de tiempos y movimientos en el proceso diagnóstico

	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Días de hospitalización	8.58	7.64	2	15
Solicitud de la prueba	2.05	1.09	1	15
Entrega de resultados	1.24	0.49	1	3

CONCLUSIONES

Este estudio demostró que el mayor porcentaje de pacientes que ingresan son graves, los indicadores estables evaluados en la prueba de detección de GeneXpert MBT/RIF mostraron que es una prueba útil, sobre todo en muestras extrapulmonares de pacientes con VIH-SIDA; la prueba es de utilidad para la toma oportuna de decisiones, y permite la reducción de costos hospitalarios directos, por lo que es una prueba rentable para nuestra institución hospitalaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editores. Harrison. Principios de Medicina Interna Vol. 2. 18^a ed. México: McGraw-Hill; 2012.
2. Boehme C, Nabeta P, Hillemann D, Nicol M, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid Molecular Detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med 2010;363:1005-15 DOI: 10.1056/NEJMoa0907847.
3. Hernández-León C, Badial-Hernández F, Ponce-de-León A, Sierra-Madero JG, Martínez-Gamboa A, Crabtree-Ramírez B, et al. Tuberculosis activa en una cohorte de reclusos infectados por VIH en una cárcel de la Ciudad de México: características clínicas y epidemiológicas. Salud Pública Méx 2012;54(6):571-578.
4. Castellanos M, Salazar M, García M, Romero R, Avena A, Ricaño M. Guía para la atención de personas con Tuberculosis Resistente a Fármacos. México 2015. Disponible en: http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/micobacteriosis/descargas/pdf/guia_tb_mfr_ok.pdf
5. Kim YW, Kwak N, Seong M-W, Kim EC, Yoo CG, Kim YW, et al. Accuracy of the Xpert® MTB/RIF assay for the diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis in South Korea. Int J Tuberc Lung Dis 19(1) 2015:81-86 <http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.14.0500>
6. Shah S, Auld S, Brust J, Mathema B, Ismail N, Moodley P, et al. Transmission of extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa. N Engl J Med 2017;376:243-253 DOI: 10.1056/NEJMoa1604544.
7. Omrani AS, Al-Otaibi MF, Al-Ateah SM, Al-Onazi FM, Baig K, El-Khizzi NA, et al. GeneXpert MTB/RIF testing in the management of patients with active tuberculosis; a real life experience from Saudi Arabia. Infect Chemother 2014;46:30-4. doi:10.3947/ic.2014.46.1.30
8. Caminero JA. Tratamiento de la tuberculosis según el diferente patrón de resistencias. Med Clin 2010;134:173-81. DOI: 10.1016/j.medcli.2008.12.024
9. OMS. Guía para el monitoreo y la evaluación de las actividades de colaboración TB/VIH. 2015;2:44.
10. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editores. Harrison. Principios de Medicina Interna. Vol. 2. 18^a ed. México: McGraw-Hill; 2016.