

11201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

7

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DIVISION DE EDUCACION MEDICA E INVESTIGACION  
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"  
HOSPITAL GENERAL "GAUDENCIO GONZALEZ GARZA"  
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA "DANIEL MENDEZ HERNANDEZ"  
COMITE LOCAL DE INVESTIGACION  
PROTOCOLO DE INVESTIGACION:

"VALIDACION DEL SISTEMA SEMI-AUTOMATICO  
COLORIMETRICO DE CULTIVO Y LA FAGOTIPIFICACION  
PARA EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS.

PARA OBTENER EL TITULO EN:  
LA ESPECIALIDAD DE  
PATOLOGIA CLINICA  
P R E S E N T A  
DRA. MA. GUADALUPE CARRILLO MONTES

ASESOR: DRA. GUADALUPE DE LOS ANGELES GARCIA ELORRIAGA



NUMERO D EREGISTRO: DE PROYECTO: 2000-693-27

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



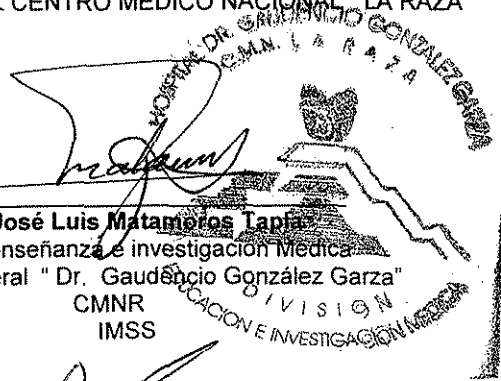
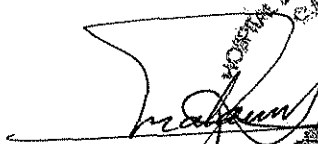
**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

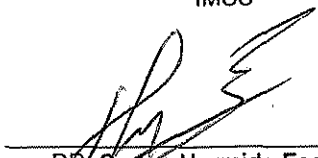
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

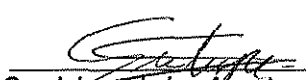
HOJA DE FIRMAS DEL CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"



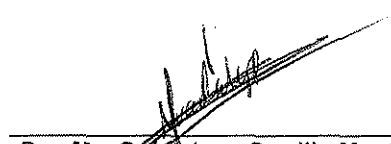
**Dr. José Luis Matamoros Tapia**  
Jefe de enseñanza e investigación Médica  
Hospital General " Dr. Gaudencio González Garza"  
CMNR  
IMSS



**Dr. Carlos Hermida Escobedo**  
Jefe de enseñanza e investigación médica  
Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández"  
CMNR  
IMSS

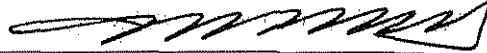


**Dra. Guadalupe de los Angeles García Elorriaga**  
Investigador asociado  
Hospital de Infectología " Dr. Daniel Méndez Hernández"  
CMNR  
IMSS



**Dra. Ma. Guadalupe Carrillo Montes**  
Patología Clínica  
Hospital General " Dr. Gaudencio González Garza "  
CMNR  
IMSS

HOJA DE FIRMAS DEL HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA DEL CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



Dra. Rosa Ma. García Escamilla  
Titular del curso de postgrado en patología Clínica  
Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI



HOSP. DE CARDIOLOGIA  
C.M.N. SIGLO XXI  
DIV. DE ENSEÑANZA E  
INVESTIGACION.



Dr. Juan Carlos Necoechea Alva  
Jefe de División de educación e  
Investigación médica.  
Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI



DRA. MA. DEL ROSALIO C. MARTINEZ SANCHEZ  
PROFA. TITULAR DEL CURSO DE POSTGRADO  
EN PATOLOGIA CLINICA DEL CMN  
"LA RAZA"



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION  
DIVISION DE POSTGRADO  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Agradecimientos:

A Kevin, María y Alejandro, por toda la paciencia y comprensión.

Para Alejandro por todo su apoyo.

A mis profesores, compañeros, amigos, con quienes he compartido los últimos tres años de mi vida.

Para todas aquellas personas únicas, maravillosas y especiales que me han apoyado. a todas y cada una de ellas agradezco su enseñanza, apoyo, confianza, y amistad.

Por último y no por ello menos importante a Dios, por darme más de lo que merezco.

Ma. Guadalupe Carrillo Montes.

## INDICE.

Título.....	1
Investigadores.....	2
Lugar donde se llevará a cabo el estudio.....	4
Domicilio particular del investigador principal.....	5
Resumen.....	6
Antecedentes científicos.....	7
Planteamiento del problema.....	11
Objetivos.....	12
Hipótesis.....	13
Programa de trabajo.....	14
Cuestionario.....	21
Grafica de Gant.....	23
Resultados.....	24
Discusión.....	26
Conclusiones.....	28
Graficas y figuras.....	29
Bibliografía.....	43

1. TITULO.

VALIDACIÓN DEL SISTEMA SEMI-AUTOMÁTICO COLORIMÉTRICO DE CULTIVO Y LA FAGOTIPIFICACIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS.

## 2.-INVESTIGADORES.

### INVESTIGADOR PRINCIPAL.

DRA. EN CIENCIAS GUADALUPE DE LOS ANGELES GARCIA ELORRIAGA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN INMUNOLOGÍA E INFECTOLOGÍA  
MATRICULA: 3711897.  
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA "DR. DANIEL MENDEZ HERNÁNDEZ".  
CENTRO MEDICO NACIONAL " LA RAZA".  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. MÉXICO D.F.

### INVESTIGADORES ASOCIADOS.

DRA. MA. GUADALUPE CARRILLO MONTES  
MEDICO RESIDENTE DE 3er. GRADO.  
ESPECIALIDAD PATOLOGÍA CLÍNICA.  
HOSPITAL GENERAL " DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA".  
CENTRO MÉDICO NACIONAL " LA RAZA".  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

DRA. MARIA DEL ROSARIO MARTÍNEZ SÁNCHEZ.  
JEFE DE LABORATORIO CLÍNICO.  
HOSPITAL GENERAL " DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA".  
CENTRO MÉDICO NACIONAL " LA RAZA".  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.



## 2. INVESTIGADORES ( Continuación )

DR. CESAR GONZÁLEZ BONILLA.

JEFE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

EN INMUNOLOGÍA E INFECTOLOGÍA HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA

“ DR. DANIEL MENDEZ HERNÁNDEZ”

CENTRO MÉDICO NACIONAL “LA RAZA”.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

3.-DEPARTAMENTO Y/O UNIDADES DONDE SE DESARROLLÓ EL PROYECTO:

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN INMUNOLOGÍA E INFECTOLOGIA.

HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA "DR. DANIEL MENDEZ HERNÁNDEZ"

CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA".

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

LABORATORIO DE ANÁLISIS CLINICOS, SECCIÓN DE MICROBIOLOGÍA.

HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA".

CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA".

4.- DOMICILIO Y TELEFONO PARTICULAR DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL.

DRA. GUADALUPE DE LOS ANGELES GARCÍA ELORRIAGA.

INVESTIGADOR PRINCIPAL.

DOMICILIO PARTICULAR :

CALLE HERALDO No. 114, CASA 10, COLONIA CLAVERIA DELEGACIÓN

AZCAPOTZALCO, MÉXICO DF.

CP. 02070.

TELEFONO PARTICULAR . 55 -61- 58-10.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

## RESUMEN:

Actualmente se reportan a 10 millones de nuevos casos de tuberculosis en el mundo y se considera de una tercera parte de la población mundial se encuentra infectada, con riesgo de desarrollar la enfermedad, debido a esto los investigadores se han dedicado a la tarea de encontrar un medio rápido sencillo y eficaz para el diagnóstico de tuberculosis. El *Mycobacterium tuberculosis* es un bacilo ácido alcohol resistente, de crecimiento lento ( 18-24 hrs.) por ello los medios tradicionales tardan aproximadamente de 4 a 8 semanas en presentar desarrollo. el sistema MB/BacT, es un método colorimétrico semi automatizado, que contiene un medio líquido no marcado, y permite el desarrollo de *M tb* en un promedio de dos semanas. El método de PhageTek es una prueba que consiste en la utilización de bacteriófagos específicos para la detección en aproximadamente 3 días del complejo *M tb*. Objetivo compara la rapidez y sensibilidad del método semi automatizado colorimétrico y el fagotipo con Lowenstein Jensen para el diagnóstico de tuberculosis.

Hipótesis: Los métodos por colorimetría y fagotipo deberán tener cuando menos la misma sensibilidad que el cultivo tradicional.

Resultados se obtuvieron 272 muestras de 208 pacientes, ( 130 hombres 78 mujeres). de muestras respiratorias en un 99%, en un periodo de 6 meses. MB/BacT comparado con L-J mostró un sensibilidad de 98%. una especificidad de 98%.Y una eficacia de la prueba de 98%. Así como una media en los días de crecimiento de 18. comparado con 35 que mostró L-J ( una  $p < 0.0005$  ).

PhageTek reportó 27 pruebas positivas y 180 pruebas negativas. en relación al cultivo una sensibilidad de 44%. una especificidad de 88% y una eficacia total de la prueba de 81%.

Conclusiones. En base a los resultados obtenidos. se concluye que cuando MB/BacT y L-J se emplean juntos la sensibilidad se eleva hasta el 100%. PhageTek mostró una baja sensibilidad y alto número de falsos positivos para el diagnóstico de *M tb*.

## 5.- ANTECEDENTES CIENTIFICOS.

### GENERALIDADES:

El género *Mycobacterium* comprende bacilos aerobios no móviles ni esporulados, de 0.2 a 0.6 por 1 a 10 micras. Su pared celular es rica en lípidos, lo que convierte a la superficie en hidrofóbica y a la micobacteria en resistente a desinfectantes y colorantes como el Gram o el Giemsa. Una vez teñidos se muestran resistentes a la decoloración ( bacilos ácido-alcohol-resistentes –BAAR--), la mayoría de las micobacterias crecen con lentitud y se dividen sólo cada 12 a 24 horas, requiriendo para su crecimiento en cultivo de 3 a 8 semanas. Se han descrito por lo menos 41 especies de micobacterias, 27 de las cuales se aislaron de muestras clínicas humanas, sin embargo el 95% de las infecciones son causadas por sólo 6 especies : *M. tuberculosis (M tb)*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. Bovis*, *M. chelonae* y *M. leprae* ( 1,2 ).

### HISTORIA:

La tuberculosis es una de las enfermedades más antiguas, conocidas por la humanidad. Esto se demostró con la observación de lesiones tuberculosas en la columna vertebral de momias egipcias. Los griegos la denominaron "Tisis" que significa " Consunción" subrayando emaciación en los casos crónicos. Durante la Revolución Industrial y la urbanización que acompañó a la misma en los siglos XVII y XVIII, la tuberculosis se convirtió en un problema de proporciones epidémicas en Europa, siendo la causa de al menos el 20%, de todas las muertes en Inglaterra y Gales en 1650. En EUA, la tasa de mortalidad anual por tuberculosis, durante la primera parte del siglo XIX fue aproximadamente de 400 por 100.000 en la población general (3). Su etiología se debatió al límite, hasta que en 1882 Robert Koch descubre el bacilo que lleva su nombre. Con la mejoría de las condiciones de vida y alimentación, así como el aislamiento de los pacientes potencialmente infecciosos en sanatorios, se produjo un efecto favorable sobre la epidemiología de la tuberculosis, que se mantuvo hasta la primera mitad del siglo XX, en esta época con el descubrimiento de fármacos de actividad antimicobacteriana, se pensó, incluso se evidenció una notable

disminución del número de casos por año. Esto se mantuvo hasta el último cuarto del siglo. (4,5)

## EPIDEMIOLOGÍA.

La tuberculosis se considera una enfermedad infecciosa, oportunista, crónica, insidiosa, cuya disminución en la incidencia que se venía observando a nivel mundial, cambió en la década de los ochenta cuando se observó un notable aumento de casos, y una marcada resistencia a fármacos que mostraban buenos efectos terapéuticos. (4,5,30). El fenómeno que se observó inicialmente en EUA, se notó pronto en Europa. En EUA en 1995 se reportó al CDC un total de 22.813 nuevos casos de tuberculosis, lo que representó un aumento del 2.8% sobre el nivel más bajo reportado. En las mismas fechas la OMS reportó un total de 3.8 millones de nuevos casos a nivel mundial, 95% correspondientes a países en vías de desarrollo. (3,4,5).

Actualmente aparecen 10 millones de nuevos casos en el mundo cada año y se estima que fallecen alrededor de 3 millones de personas por dicha causa. Se considera que el 30% de la población mundial es portadora de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) y por tanto está en riesgo de desarrollar la enfermedad. (6,7,8,35).

En el aumento espectacular de la patología se consideran múltiples factores, los cuales al coincidir, desencadenan las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad. una situación importante es la aparición del HIV y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Entidad que establece la situación ideal para la reactivación de Mtb. Una persona con primo-infección por Mtb, que adquiere el HIV presenta un riesgo anual del 3 al 5% de desarrollar tuberculosis activa, así mismo en países severamente castigados por el SIDA (Zambia, Tanzania, Malawi, Tailandia y EUA - NY.--) se ha observado un aumento considerable de casos nuevos de tuberculosis. (3,6,8,9,28).

Otros factores que también han influido son: alto número de migraciones del campo a la ciudad, ( cinturones de miseria), falta de empleo, lo que condiciona marginación, deterioro físico y social ( desnutrición, hacinamiento, drogadicción etc.), incapacidad de los gobiernos para mejorar programas de control y tratamiento de la enfermedad cuando es necesario. Otras entidades patológicas que condicionan la alta incidencia son: Aumento en

el número de casos de Diabetes Mellitus y sus complicaciones, nuevos casos de neoplasias malignas y enfermedades con componente auto inmune, que ameritan tratamiento con glucocorticoides e inmunosupresores. Por último la aparición de cepas resistentes a los agentes antimicrobianos utilizados hasta la fecha ( 5,6,7,9).

En México la Dirección general de Epidemiología en su boletín No. 2 de enero del 2000, informa de 13,930 casos de tuberculosis acumulados hasta diciembre de 1999, comparados con 16,455 casos durante 1998. De esta casuística, menos del 5% fueron enfermos menores de 15 años de edad y el 90% tenía tuberculosis pulmonar, el 74% de los diagnósticos se realizó por baciloscopia. En orden decreciente los estados más afectados son: Veracruz, Chiapas, Nuevo León Baja California Guerrero El Edo. De México para los cuales corresponde el 50% aproximadamente de todos los casos. En México el riesgo de infección o enfermedad tuberculosa, de acuerdo con la OMS, es relativamente uniforme en la población en orden de un 0.5%. Se estima que un riesgo anual de infección corresponde a una incidencia aproximada de 20,000 por cada 100,000 individuos con baciloscopia positiva (6,7).

#### PRONOSTICO.

La OMS estima que para la década que termina (90's) ocurrirán 90 millones de nuevos casos y 30 millones de muertes por éste padecimiento incluidos 4.5 millones de decesos en la población infantil. (7).

#### DIAGNÓSTICO:

La complejidad de la pared celular en la micobacteria determina algunas de las propiedades de la misma, como su virulencia, su resistencia al tratamiento y la dificultad para la identificación del microorganismo con métodos tradicionales. Para el aislamiento primario se han utilizado diversos medios de cultivo que tienen como base huevos coagulados, el más utilizado por su buen resultado y bajo costo es el de Lowenstein-Jensen ( estándar de

oro). el cual permite el crecimiento en un periodo de 4 a 8 semanas. por el lento crecimiento de la micobacteria ( 1,2,3,7,11).

En 1977, Middlebrook y colaboradores elaboraron un medio líquido (7H12), que contenía ácido palmítico marcado con C14, el cual podía utilizarse para la detección del crecimiento de *M tb*, en un sistema de cámara de iones. Estudios iniciales demostraron que un inoculado de 200 unidades de organismos viables pueden detectarse en 7 a 14 días promedio. El equipo denominado BACTECT™, el cual ha sido utilizado con buenos resultados. presenta algunas inconveniencias, como son; el uso de material radiactivo, que lo hace poco accesible a cualquier laboratorio de análisis clínicos. (10,11,12,13,15,16,17,18,19,20,22.). Middlebrook desarrolló otros medios con algunas diferencias en su composición, (7H10, 7H11, 7H9) de los cuales el 7H9 permite el crecimiento de micobacterias por la producción de CO2 colorimétricamente, en un equipo incubador de botellas conectado a una PC (MB/BacT™). que según estudios iniciales permite una rápida detección del crecimiento de *M tb* de 200 a 300 unidades de organismos vivos ( 2,14,15,16,17,18,20,21,33,34.). El mencionado equipo se valorará contra Lowenstein –Jensen ( L-J ) en el presente estudio.

#### BACTERIOFAGOS:

Los bacteriófagos son virus parásitos de las células bacterianas, que utilizan sus sistemas generadores de energía, sus factores de síntesis de proteínas y sus aminoácidos celulares. Desde el aislamiento del primer bacteriófago en 1947, se han aislado cerca de 250 diferentes, los cuales han aportado grandes avances al conocimiento de las micobacterias. Su aplicación ha sido desde: estudios epidemiológicos hasta droga sensibilidad de la micobacteria. En la detección de otras especies de bacterias se cuenta con el antecedente de la utilización de fagotipo en las cepas estafilocócicas por el patrón de susceptibilidad a la lisis por bacteriófagos específicos. (1,24,25,26,27). En el presente estudio se validará el método de fagotipo contra Lowenstein-Jensen, utilizando fagos tipo D29.

Otros métodos para el diagnóstico de tuberculosis incluyen : Hemocultivos ( *tb* extrapulmonar), pruebas serológicas las cuales no presentan suficiente sensibilidad para ser de utilidad y PCR, cuya sensibilidad y especificidad superan el 90% en adultos, pero que tiene serias limitaciones como recurso de salud pública, por el alto costo del material



(\$125.00 USD por prueba ), el equipo y la necesidad de personal altamente calificado Así como la detección de organismos no viables (2,3,7,31,32).

## 6.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Como Se mencionó anteriormente, la tuberculosis es una enfermedad antigua, que se comporta como oportunista, por ello su incidencia y prevalencia a nivel mundial a aumentado en las últimas dos décadas, contribuyendo a ello la aparición de enfermedades como el SIDA, el aumento de enfermedades auto inmunes, así como las crónico-degenerativas. En la actualidad se estima que aparecen 10 millones de nuevos casos al año en todo el mundo, de los cuales fallecen alrededor de 3 millones. También se ha calculado que el 30% de la población mundial es portadora de *M tb* (1,3,4,5,6,9).

Hasta el momento los medios de diagnóstico, incluyen desde la tinción de Ziehl-Neelsen y el cultivo tradicional, hasta métodos bastante sofisticados y así mismo poco accesibles a la mayoría de la población que es afectada. Desde hace aproximadamente dos décadas el objetivo de los profesionales de la salud ha sido el crear un método, sencillo, rápido y eficaz para aislar al microorganismo, lo cual ha resultado en un trabajo arduo y pesado, pues el *M tb* crece con lentitud, requiriendo para su cultivo de 3 a 8 semanas en el método tradicional. Esto supone retardo en la instalación de tratamiento adecuado, sobre todo en las formas atípicas de la enfermedad, así como la posibilidad de perder a un gran número de pacientes portadores (2,3,4,5,6,7,10,11,16,28).

¿Existirá un método que sea lo suficientemente sensible, rápido y accesible para el diagnóstico de tuberculosis?

## 7.- OBJETIVO GENERAL.

Comparar la rapidez y sensibilidad del método semi-automatizado colorimétrico de cultivo y el método de fago tipificación, en relación con el método de Lowenstein Jensen, para el diagnóstico de tuberculosis.

## 8. HIPÓTESIS:

Nuestro Estudio es una comparación entre dos métodos diagnósticos con un estándar establecido, por ello no se considera necesario la elaboración de una hipótesis sin embargo consideramos que los métodos en estudio deberían tener cuando menos, la misma sensibilidad y especificidad que los métodos tradicionales

## 9.- PROGRAMA DE TRABAJO.

### 9.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Se integraron al estudio todas aquellas muestras respiratorias de pacientes con sospecha o diagnóstico de tuberculosis pulmonar, con o sin otra patología agregada.

### CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN.

Todas aquellas muestras de pacientes que no contaron con sospecha diagnóstica de tuberculosis pulmonar, así como aquellas diferentes a expectoración o lavado bronquial.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- 1.-Las muestras insuficientes.
- 2.- Las muestras contaminadas.

### 9.2 TIPO DE ESTUDIO:

Observacional, Prospectivo, Transversal, Descriptivo.

### 9.3.-TIEMPO APROXIMADO DEL ESTUDIO:

Duración del estudio : 22 meses.

Fecha de inicio: Diciembre de 1999.

Fecha de término: Septiembre del 2001.

### 9.4 -VARIABLES.

VARIABLE INDEPENDIENTE: Los métodos utilizados en el estudio. Método tradicional que utiliza el medio de Lowenstein Jensen, el método colorimétrico que utiliza medio líquido de Middlebrook y fago tipificación que utiliza agar con base de medio de Middlebrook.

#### VARIABLE DEPENDIENTE:

Crecimiento o no de la micobacteria en cada uno de los medios: Método tradicional presencia de crecimiento de colonias en un promedio de 3 a 8 semanas ( positivo), sin crecimiento (negativo), método colorimétrico: producción de CO<sub>2</sub> por la micobacteria, presencia de grumos en el medio líquido en un promedio estimado de 12 a 14 días (positivo), ausencia de CO<sub>2</sub> y grumos (negativo), método de fagotipificación presencia de más de 20 placas líticas en el medio de Agar, en 18 horas (positivo), menos de 10 placas líticas (negativo).

#### 9.5.-TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Tomando una prevalencia de 1.10% en el Hospital General ( Estudio en trámite de publicación ), necesitamos 366 muestras para obtener un nivel de confianza del 95%, o 579 para un nivel de confianza del 99%.

En 6 meses se intentó cubrir el 95% de nivel de confianza, sin embargo sólo obtuvimos 272 muestras, llegando con ello al 90% de nivel de confianza.

Encuesta poblacional o estudio descriptivo, usando muestras aleatorias simples:

Tamaño poblacional:	2.921.
Prevalencia esperada	1.10%.
Peor resultado	0.10%

Nivel de confianza	Tamaño de la muestra
88%	168
90%	267
95%	366
99%	579
99.9%	839
99.99%	1.053

FORMULA: Tamaño de la muestra =  $n / (1/población)$

$$N = Z * Z (P(1-P)) / (D*D). \quad (23).$$

## 9.6 – ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Usando los datos generados de la evaluación, se determinaron las diferencias entre los métodos con correspondencia a la sensibilidad clínica, aplicando la prueba de t de Student para muestras pareadas, con los datos positivos de las muestras. La prueba analiza la diferencia entre las proporciones de los resultados positivos para cada método. Un valor de probabilidad menor de 0.05 indicará una diferencia significativa en la sensibilidad clínica de los sistemas.

También se utilizó una tabla de contingencia de 2 por 2, que es el método más directo para ilustrar la comparación de una prueba diagnóstica con el estándar ideal, con lo que se obtuvo, la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo positivo y negativo.

## 9.7.- RECURSOS:

**HUMANOS:** Personal del laboratorio, investigadores y becarios (IMSS).

**TÉCNICOS:** Área e instalaciones de laboratorio de investigación en Infectología y área de microbiología del HGCMNR.

**FINANCIEROS:** El equipo (MB/BacT™), reactivos ( PHAGETEK MB™ ) y material son proporcionados por la casa comercial Organon/Técnica.

## 9.8 DISEÑO DEL ESTUDIO:

Por semana se tomaron todas las muestras respiratorias ya descontaminadas (sedimento de Petroff) que previa revisión de la libreta correspondiente, cubrieron los criterios de inclusión. A cada una de las muestras obtenidas:

Primero: se les realizó una baciloscopía utilizando la tinción de Ziehl- Neelsen.

Segundo: se sembraron en medio de Lowenstein-Jensen. (Estos pasos se llevaron a cabo en el Hospital General CMNR.).

Tercero: se procedió a inocular 0.5 ml en un frasco especial con medio de Middlebrook enriquecido, se incubaron a 37° C. En el sistema correspondiente.(método colorimétrico).El tiempo necesario.

Cuarto: se procedió posteriormente a centrifugar el sedimento restante con medio enriquecido de Middlebrook y a incubar ( Iniciar. la técnica de fagos.). (Estos pasos se llevaron a cabo en la Unidad de Investigación Biomédica en el Hospital de Infectología CMNR).

Se contó con una bitácora de registro y seguimientos de cada uno de los procedimientos. realizados, con fecha y hora así como de cualquier observación pertinente. En caso de necesitar la notificación del avance del estudio.

Los resultados tanto positivos como negativos, fueron notificados al área de microbiología encargada del seguimiento del cultivo en Lowenstein-Jensen, para la notificación del médico correspondiente, y la instalación pertinente del tratamiento.

#### METODO COLORIMÉTRICO:

Esta técnica utiliza un medio líquido enriquecido de Middlebrook 7H9. en un frasco especial estéril. el cual cuenta con un sensor en la base del mismo permeable al CO<sub>2</sub>. El cual al instalarse en una celda especial del equipo incubador ( MB/BacT™). cambia de color al detectar CO<sub>2</sub> bacteriano interpretándose como positivo. Por el contrario, al no haber producción de CO<sub>2</sub> el sensor no lo detecta, y no cambia de color, interpretándose como negativo.

Se consideró una prueba indirecta de medición del crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*, en muestras respiratorias. ( en nuestro estudio ).

#### PROCEDIMIENTO :

PASO 1. Tomar 0.5 ml de sedimento de Petroff. con una jeringa estéril, e inocular un frasco de medio de Middlebrook 7H9 líquido. al cual se le agregó previamente 0.5 ml de un cóctel de antibiótico. limpiar la tapa con un agente micobactericida ( fenol).

PASO 2. Rotular cuidadosamente el frasco en el área correspondiente. agregar clave del Hospital.

PASO 3. Ingresar a la cámara incubadora, a la celda asignada por el sistema del MB/BacT.

PASO 4. Anotar en la bitácora todos los datos de identificación y agregar el código de barras correspondiente.

#### INTERPRETACIÓN:

Cuando el MB/BacT, nos indicó positividad para alguna de las botellas, se procedió a retirarla del incubador, revisando la gráfica de crecimiento. Posteriormente se realizó un extendido con material de la botella extraída, el cual se tiñó con Ziehl- Neelsen para bacilos ácido-alcohol-resistentes (BAAR), al visualizarse dichos bacilos se indicó como positiva, por el contrario al no observarse se indicó como negativa para BAAR. La identificación bioquímica del microorganismo se realizó en el área de microbiología del HGCMNR.

#### METODO DE FAGOTIPIFICACIÓN:

Esta técnica (PHAGE/TEK MB™) utiliza bacteriófagos específicos para el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (*M tb*), en la detección de dichos bacilos presentes en muestras respiratorias descontaminadas con Na OH al 4% (Sedimento de Petroff). EL cual puede leerse visualmente. en 72 horas. El principio del ensayo muestra la siguiente secuencia: Los bacteriófagos específicos ( D 29) infectan a los bacilos *M tb*, presentes en la muestra. se agrega entonces un virucida que destruye a todos los bacteriófagos que no han infectado célula alguna, mientras los bacteriófagos que sí infectaron, siguen replicándose en las células diana (*M tb*). viables. luego se agregan células colaboradoras (Helper), que corresponden a la especie *Mycobacterium smegmatis* de rápido crecimiento. Para entonces los bacteriófagos han producido lisis celular y reinfectan a las células Helper. no patogénicas. Se siembran en medio de Agar, la aparición de zonas claras (placas líticas) en la siembra de células colaboradoras es indicio de positividad.



## PROCEDIMIENTO:

PASO 1. Lavar la muestra, con medio enriquecido 15 ml, incubar hasta el día siguiente a 37° C. En un tubo de reacción especial.

PASO 2. Agregar al tubo de reacción con la muestra, 100 microlitos de la solución con bacteriófagos, incubar una hora a 37° C.

PASO 3. Agregar a la muestra 100 microlitos del virucida, agitar cuidadosamente. incubar 5 minutos sobre la mesa de trabajo, agregar 5 ml de medio enriquecido.

PASO 4. Agregar a la muestra 1 ml de solución conteniendo células colaboradoras. agitar.

PASO 5. Tomar la caja de Petri, abrirla en medio estéril, agregar la muestra, y agregar 5 ml de medio de Agar tibio, homogeneizar evitando salpicar o crear burbujas.

PASO 6. Dejar asentar el cultivo.

PASO 7. incubar a 37°C hasta el día siguiente.

## INTERPRETACIÓN:

Se observan las cajas de Petri, al día siguiente. buscando la presencia de placas líticas. De cero a 19 placas se considera negativo. más de 20 placas se considera positivo para bacilos vivos.

### 9.9.- CORRELACION CLINICA:

Se realizó la revisión del expediente clínico del paciente mediante la aplicación de un cuestionario ( ANEXO 1). en el siguiente caso:

1.Fagos + de 20 placas líticas. con resto de pruebas negativas.

### 9.10.- ASPECTOS ÉTICOS.

Éste estudio se apegó a la norma ética del reglamento de la Ley General de Salud y la declaración de Helsinki. enmendada en 1993. Así como al Código Sanitario de los Estados Unidos mexicanos.

#### 9.11 CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Para la obtención de muestras de éste protocolo, no se requirió la carta de consentimiento informado, puesto que la técnica de obtención de la muestra es parte de los estudios de rutina del paciente. Para éste estudio, sólo necesitamos las muestras que el médico tratante consideró necesarias para el diagnóstico y se utilizaron después de realizada la baciloscopia y siembra en medio de "Lowenstein -Jensen" para no causar interferencia con el proceso de diagnóstico de rutina.

**CUESTIONARIO  
IDENTIFICACIÓN DE PACIENTES CON TB**

NOMBRE DEL PACIENTE			
FILIACIÓN	EDAD		SEXO
OCUPACIÓN	ESCOLARIDAD		
ESTADO DE ORIGEN	FECHA		
BACILOSCOPIAS	FAGOS	MB	L-J

1. Antecedentes familiares de enfermedades crónicas:

- a.) Sí I.1 Parentesco-----
- b.) No
- c.) Lo ignora

2. Padecimiento actual.(Signos y síntomas del paciente):-----

-----

2.1 Tiempo de evolución.-----

3 Diagnóstico:

- a.) Se realiza por signos y síntomas SyS.
- b.) Se realiza por SyS + placa de tórax.
- c.) Se realiza por SyS + placa de tórax + baciloscopia y/o L-J +.
- d.) No se realiza diagnóstico.
- e.) Sólo por placa de tórax.
- f.) Sólo baciloscopia y/o L-J.
- g.) Cuenta con Dx previo de tb (7).

4.-a solicitud de laboratorio para baciloscopia o cultivo.

- a.) se realizó por cuadro clínico compatible a tb.
- b.) Por Dx diferencial.
- c.) Por protocolo.
- d.) Por datos radiológicos de tb.
- e.) Se ignora.

4.1 El resultado del laboratorio apoyó el diagnóstico clínico?

- a) Sí
- b) No

4.2 Causó confusión para el dx?

- a) Sí
- b) No

4.3 Se solicitó un estudio confirmatorio?

- a) Sí
- b) No

4.4 Se localizó el resultado del laboratorio en el expediente?

- a) Si
- b) No

5. Tratamiento.

- a) Se indicó esquema de tratamiento para tb de 6 meses ,
- b) Se indicó esquema anti-microbiano.
- c) No se indicó tratamiento
- d) Otro ( especificar )-----  
-----

6. El paciente:

- a) Continúa en TX para tb.
- b) Terminó su TX (alta por mejoría)
- c) Abandonó el TX ( inconcluso).
- d) No recibió TX para tb
- e) Alta por defunción.
- f) Otra causa ( especificar)-----  
-----

7.Si hubo dx previo de tb.

7.1 tiempo de realizado

7.2 El Dx se realizó por :-----  
-----

Observaciones:-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----

## GRAFICA DE GANT

PROCEDIMIENTOS	DIC 1999	ENE 2000	FEB 2000	MAR 2000	ABR 2000	MAY 2000	JUN 2000	JUL 2000	AGO 2000	SEP 2000	OCT MAY 2001	JUN JUL 2001	AGO 2001	SEP 2001
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA														
ENTREVISTA CON CASA ORGANON/TÉCNICA PARRA DISPOSICIÓN DE EQUIPO Y REACTIVO														
VISITA AL AREA DE MICROBIOLOGIA E INFECTOLOGIA														
CONFIRMACION DE EQUIPO Y MATERIAL POR O/T														
APOYO DE MICROB. HGCMNR E INFECTOLOGIA														
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 2														
EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL EQUIPO														
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3														
INTEGRACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN														
REGISTRO DE PROTOCOLO														
RECOLECCION DE MUESTRAS Y PARTE EXPERIMENTAL														
REVISIÓN DE EXPEDIENTES CLINICOS														
INTERPRETACION DE RESULTADOS														
IMPRESION DE TESIS Y PUBLICACIÓN														

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## 10. RESULTADOS.

Se obtuvieron 272 muestras (de 208 pacientes ) en el transcurso de seis meses. El 62% (130) correspondió al sexo masculino, y 38% (78) al sexo femenino (figura 1).

Cuarenta y un pacientes contaron con más de una muestra ( de 2 a 9 ). El tipo de muestra correspondió en su mayoría a Expectoración con 183 (68%), seguido por lavado bronquial 61 (23%), líquido pleural 23 (8%) y otros como orina, líquido de empiema y jugo gástrico correspondieron sólo a 5 (1%) (figura 2).

Los servicios de procedencia de las muestras se distribuyeron como sigue: neumología con 192 (70%), medicina interna 23 (8%), neumopediatría 22 (8%), nefrología 15 (6%), unidad de transplantes 7 (3%), y otros, como hematopediatría, gastropediatría, UCI y solicitudes sin datos de procedencia correspondiendo a un total de 13 (5%) ( Tabla 1 ).

Se identificaron como adultos a 231 (85%) y como pacientes pediátricos a 41 (15%). Los diagnósticos presuntivos de envío, fueron: tuberculosis pulmonar 121 (45%), probable tuberculosis 73 (27%), neumonía 19 (7%), hemoptisis 12 ( 5% ), tos crónica en estudio 6 ( 2%), derrame pleural 16 (6%), fibrosis quística 6 (2%), y 15 correspondientes a otros (5%) ( Gráfica 1 ).

La baciloscopia en relación al estándar reportó 223 muestras verdaderas negativas, 27 verdaderas positivas, 11 falsas positivas y 11 falsas negativas, con una sensibilidad del 71%, y especificidad del 95%, un VPP del 71%, VPN del 95% y eficacia total en la prueba del 92% (Tabla 2).

El sistema Mb/BacT ( método semi-automatizado colorimétrico ) fue evaluado con 272 muestras, de 208 pacientes, el 99.3% fueron de origen respiratorio. Se obtuvieron 42 cultivos positivos (15%), 230 se reportaron negativos ( 85%). El medio de Lowenstein-Jensen sólo identificó 39 cultivos positivos (14%) y 233 negativos(86%). Siendo BAAR positivos, 38 muestras, ( Tabla 3 ).

Sólo una muestra no se desarrolló en Mb/BacT, perteneciente a un paciente que previamente recibió tratamiento antituberculoso. Los 42 cultivos fueron detectados por el

sistema entre 8 y 46 días posteriores a la siembra, con una media de 18 días, una mediana de 16 y una moda de 17 días. En comparación a L-J mostró crecimiento entre 21 y 63 días con una media, mediana y moda de 35 días, obteniéndose un ahorro de tiempo de 17 días. Se aplicó la t de Student para muestras pareadas con una  $p < 0.0005$  (Gráfica 2).

Al comparar los resultados con el estándar de oro (L-J) y aplicar las tablas de contingencia 2 x 2, el sistema Mb/BacT presentó sensibilidad del 97.4%, especificidad de 98%, un valor predictivo positivo ( VPP )del 90%, valor predictivo negativo ( VPN ) de 98% y una eficacia de la prueba del 98%. (Tabla 2)

La prueba de fago tipificación ( PhageTek MB ), se aplicó en 207 muestras procedentes de 154 pacientes, todas de origen respiratorio ( limitación de la prueba ), y se compararon los resultados contra baciloscopia, Mb/BacT y cultivo ( L-J y/o MB/BacT ). Arrojando resultados de 170 muestras negativas y 37 positivas, de las cuales 157 fueron verdaderas negativas y 10 verdaderas positivas en relación a Cultivo, con 27 falsas positivas y 13 falsas negativas. Obtuvimos una sensibilidad con esta prueba del 46%, especificidad del 88%, el VPP de 30%, VPN de 92% y eficacia en la prueba del 82% (Tabla 2).

Se tomaron 28 muestras para realizarles PCR ( Polymerase Chain Reaction ). 27 de ellas positivas en cultivo y 1 negativa. evaluándose BAAR, MB/BacT, PhageTek y cultivo. (Tabla 4)

## 11. DISCUSIÓN

El desarrollo de técnicas para la detección de micobacterias, siempre ha llamado la atención de los investigadores. Sin embargo desde 1977, cuando Middlebrook desarrolló el medio líquido 7H12 para el sistema BACTEC que se utiliza en los países industrializados, se evidencia la necesidad de crear métodos alternos, más accesibles para la población de países en desarrollo, regiones azotadas con la re-emergencia de la tuberculosis como problema de salud pública.

El medio 7H9 creado también por Middlebrook utilizado en sistema MB/BacT, no utiliza elementos marcados radiactivamente, eliminando así, los permisos especiales y su alto costo. Siendo el método de elección en nuestro estudio.

La fago tipificación, surge también de la necesidad de contar con técnicas de rápida identificación del *M tb* ( 48 hrs. ), así como de fácil acceso y sin necesidad de equipos sofisticados. En éste estudio comparamos ambas pruebas con la baciloscopía y el cultivo en Lowenstein Jensen ( estándar de oro para el diagnóstico de tuberculosis ), además, una parte de la muestra se comparó contra PCR.

Los resultados obtenidos con el sistema MB/BacT son alentadores, comparado con L-J presenta un 98 % de sensibilidad y especificidad, además en nuestra experiencia detectamos 3 muestras que no mostraron desarrollo en L-J, lo que nos indica que su sensibilidad parece ser más alta. Al comparar los resultados con PCR encontramos un 96% de sensibilidad; los cultivos positivos se detectaron de 8 a 25 días (el 85%), y el resto (15%) varió de 27 a 46 días ( esta última cifra corresponde a un paciente conocido que reiniciaba tratamiento antituberculoso).

Los cultivos obtenidos en MB/BacT, nos permiten presumiblemente identificar al microorganismo como *M tb*, mediante una tinción de Ziehl- Neelsen, al observar la agrupación de las colonias con el denominado Factor Cordón ( 12 ) (Figura 3)

La figura 4 muestra la distribución de los bacilos ( *M smegmatis* ) en un frotis, para comparar con el de *M tb* y apreciar la diferencia.



La prueba de PhageTek, muestra una sensibilidad en relación al estándar de oro del 46% y una especificidad del 88%, VPP de 36% (Tabla 2).

Además de algunas desventajas como : Una vez iniciado el proceso no puede suspenderse hasta terminar a las 48 hrs. siguientes, así como un alto número de falsos positivos.

Uno de los puntos a analizar fue el de la correlación clínica de los resultados, se revisó la alta frecuencia de falsos positivos en relación al estándar de oro. De 25 pacientes que presentaron falso positivos, 10 (40%), tienen tuberculosis pulmonar clínica (Figura 5).

Quince (60%), padecen otras patologías pulmonares. Lo anterior podría deberse quizá a que según el proveedor (Organon/Técnica) PhageTek detecta un número muy pequeño de bacilos por mililitro (aproximadamente 50). Así mismo de los 25 resultados positivos obtenidos por el cultivo y comparados con PhageTek, se encontraron 13 negativos (falsos negativos) (Tabla 5)

Las figuras 6 y 7 muestran un ejemplo de resultados positivos y negativos para PhageTek.

Las muestras analizadas con PCR, en relación a cultivos positivos (MB/BacT, L.J) presentaron resultados similares a los reportados en la literatura. Encontrando sólo un aparente falso negativo, el cual probablemente correspondió a *M bovis*.

## 12. CONCLUSIONES:

Los resultados demostraron que MB/BacT tiene ciertas ventajas sobre L-J:

1. Mayor rapidez en la detección de los cultivos positivos ( una media de 18 días, contra una media de 35 días de L-J ).
2. Probablemente tenga más sensibilidad y especificidad, ya que detectó 3 muestras más que L-J.
3. Llevar a cabo el diagnóstico presuntivo de *Mtb* por la formación del factor cordón.
4. Realizar PCR de material obtenido directamente de la botella.
5. Se utiliza la muestra exactamente igual que para cultivo tradicional.

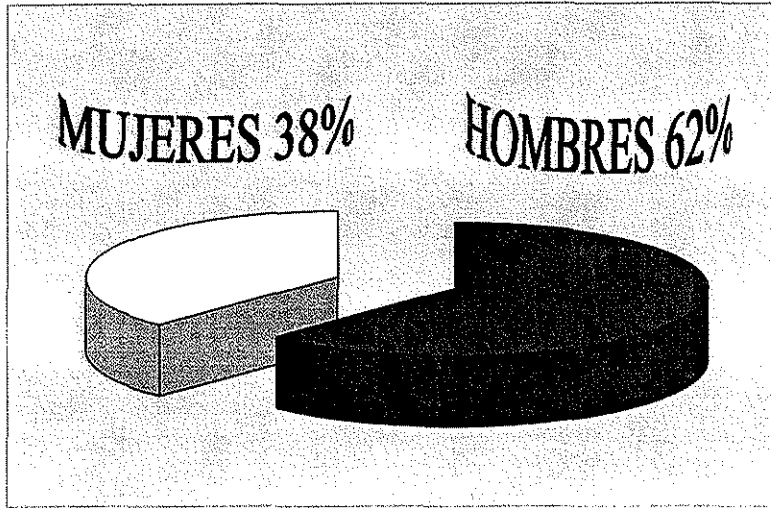
Entre sus desventajas encontramos:

1. El uso de jeringas hipodérmicas.
2. EL MB/BacT detecta cualquier microorganismo que produzca CO<sub>2</sub> ( bacterias levaduras y hongos ).
3. No se aprecia morfología colonial.
4. Un mayor costo del medio.

Consideramos que el uso simultáneo de MB/BacT y L-J eleva la sensibilidad al 100% por lo tanto recomendamos la utilización de ambos para el diagnóstico de rutina de tuberculosis.

PhageTek presenta una gran variación en su sensibilidad y especificidad, ya que pacientes con tuberculosis identificada, dieron resultados negativos; por otra parte, pacientes con cultivo negativo, se encontraron con resultados positivos en ésta prueba. Debido a éstas variaciones y al número de muestras analizadas en el estudio ( que son 207, con un intervalo de confianza del 90%) concluimos que la prueba no es confiable.

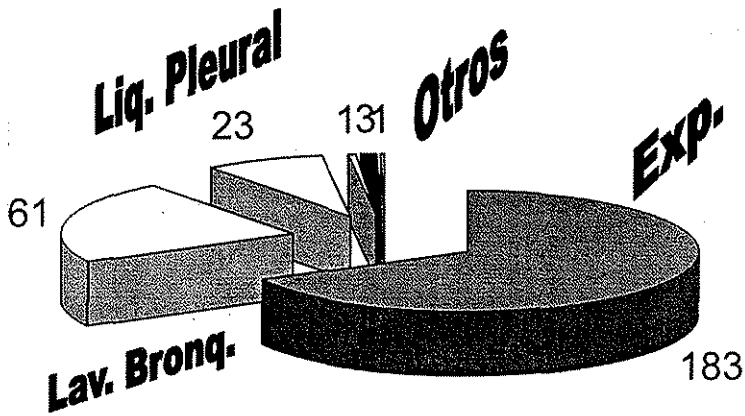
Figura 1. Distribución por sexo de la muestra.



En el estudio comparativo del sistema colorimétrico, fagotipo y cultivo tradicional se obtuvieron 272 muestras de 208 pacientes de los cuales el 38% correspondió al sexo femenino y 62% al sexo masculino.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 2. Tipo de muestras



El tipo de muestra incluido en el estudio correspondió en su mayoría a expectoración y lavado bronquial.

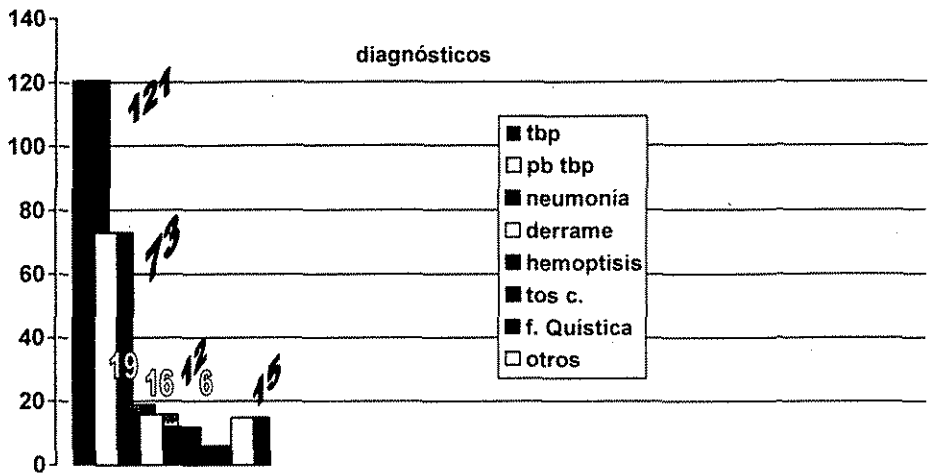
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla No. 1. Servicios del Hospital General del CMNR incluidos en la muestra

SERVICIOS	No. DE MUESTRAS	%
Neumología	192	70
Neumopediatria	22	8
Nefrología	15	6
Medicina interna	23	8
Unidad de trasplantes	7	3
Otros	13	5
Total	272	100

La mayor parte de las muestras analizadas correspondieron a los servicios de neumología (adultos), medicina interna (adultos) y neumopediatria.

Gráfica 1. Diagnósticos de envío, obtenidos de las solicitudes de laboratorio



Todos los pacientes de la muestra, se consideraban sospechosos de tuberculosis, sin embargo como se aprecia en la gráfica se encontraron otros diagnósticos agregados.

Tabla 2. Resultados obtenidos al aplicar tablas de contingencia de 2 x 2 , a las diferentes pruebas.

	L-J	L-J	CULT	CULT	BAAR	B+	B-
Prueba	BAAR	MB	PCR	Fagos	Fagos	Fagos	Fagos
Sensib	71	97.4	96	46	46	48	33
Especif	95	98	100	88	86	50	88
VPP	71	90	100	36	30	82	83
VPN	95	98	100	92	86	50	98
EP	92	98	96	83	82	48	86

Al aplicar las tablas de contingencia de 2 x 2. a cada prueba en relación a su estándar se obtuvieron los resultados de sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y EP de cada una.

Sensib= Sensibilidad  
 Especif= Especificidad  
 VPP= valor predictivo positivo  
 VPN= Valor predictivo negativo  
 EP= Eficacia de la prueba

L\_J= Lowenstein Jensen  
 Cult = Cultivo  
 B = Baciloscopia

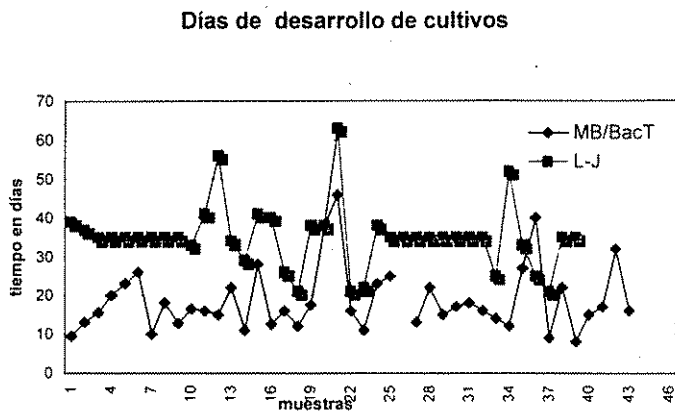
TABLA 3. Análisis general de resultados de BAAR, Mb/BacT y L-J.

	BAAR	MB/BacT	L-J
Positivos	38	42	39
Negativos	234	230	233
Total	272	272	272

Comparación de los resultados obtenidos de las muestras analizadas por el sistema MB/BacT, en relación a BAAR Y L-J.



Gráfica 2. Desarrollo en días de los cultivos



Diferencia en días en el desarrollo de los cultivos. L-J se ejemplifica por los cuadros en la parte superior de la figura con un mínimo de 21 días de desarrollo y un máximo de 63. MB/BacT por su parte muestra una mínima de 8 días y una máxima en 46 días.

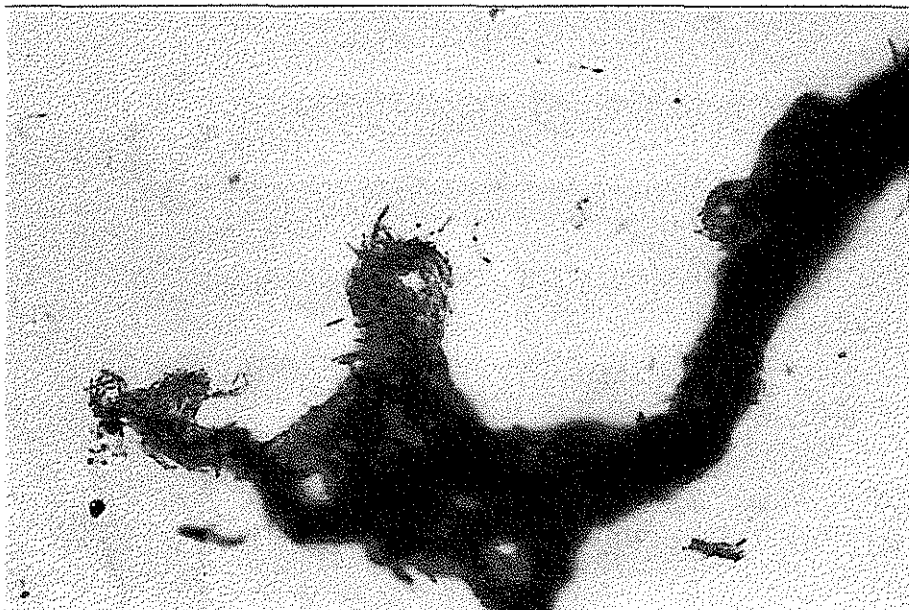
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 4. Resultados de las muestras comparadas contra PCR.

	RESULTADOS	PCR	
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
BAAR	21	7	28
Mb/BacT	27	1	28
FAGOS	19	9	28
PCR	26	2	28

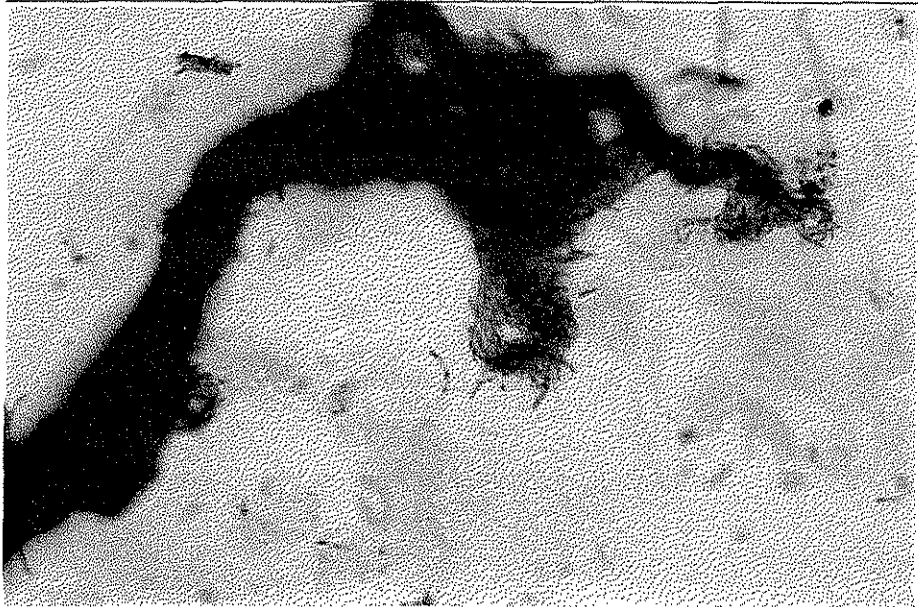
Resultado del análisis comparativo de resultados entre BAAR, MB/BacT. fagos y PCR.

Figura 3. Microfotografía de *M tb* donde se aprecia la formación del factor cordón.



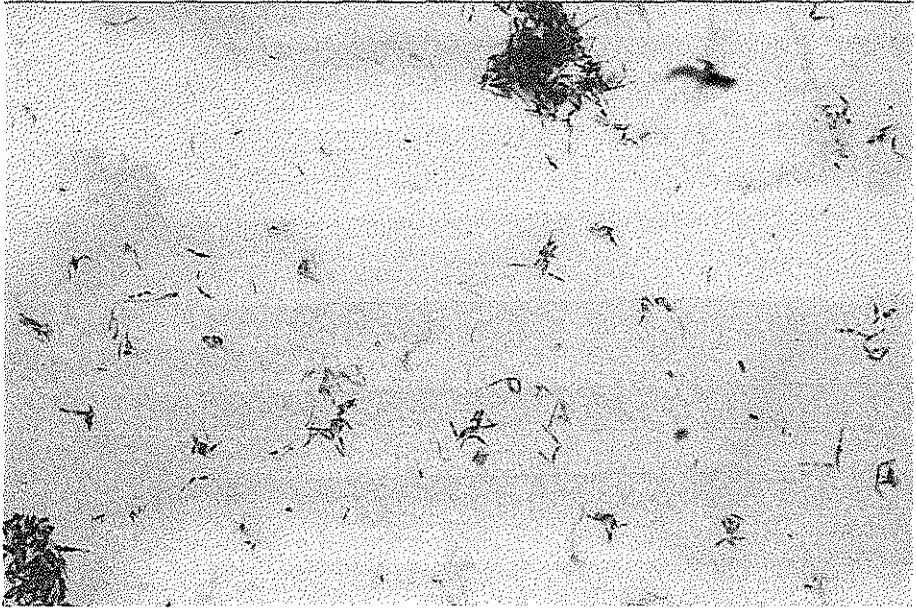
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 3. Microfotografía de *M tb* donde se aprecia la formación del factor cordón.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

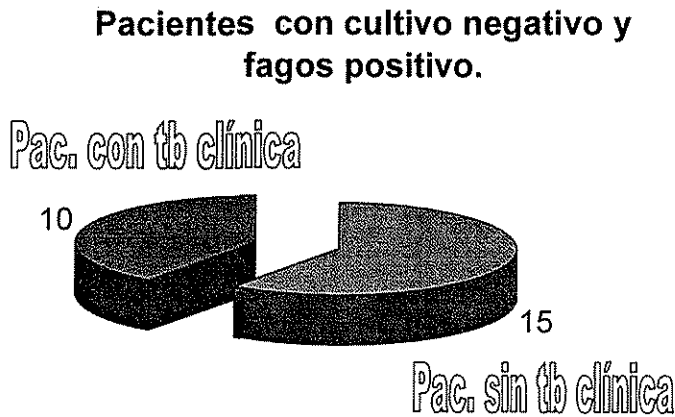
Figura 4. Macrofotografía de *M smegmatis*, donde se aprecia su agrupación, para comparar con la figura anterior.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

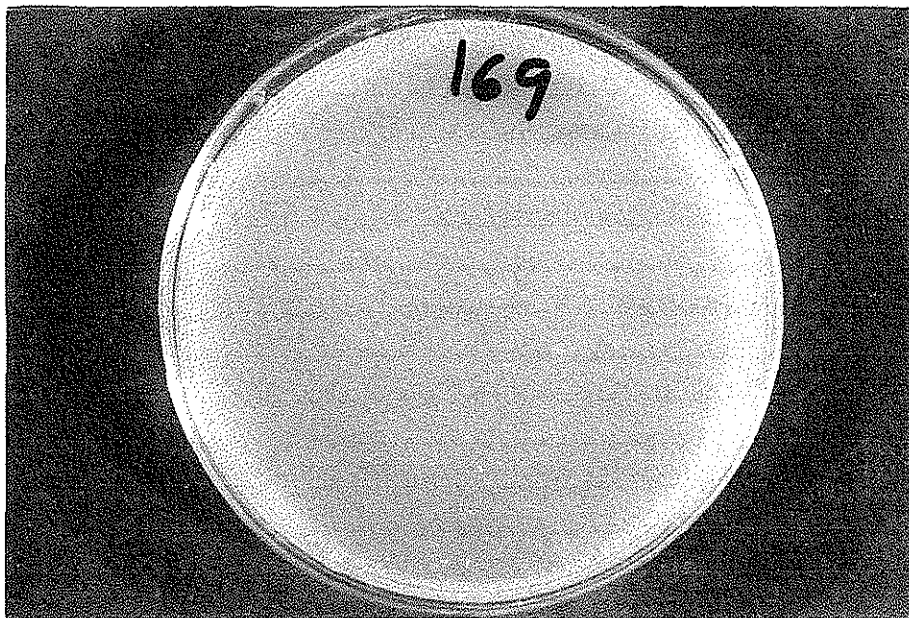
Figura 5. Pacientes que presentaron PhageTek positivo y resto de pruebas negativas.



Se revisaron 25 expedientes de pacientes que presentaban PhageTek positivo, pero con el resto de las pruebas negativas (BAAR, cultivo, etc.) De los cuales 10 (40%) presenta tuberculosis clínica, los otros 15 (60%) con diagnósticos diferentes a tb.

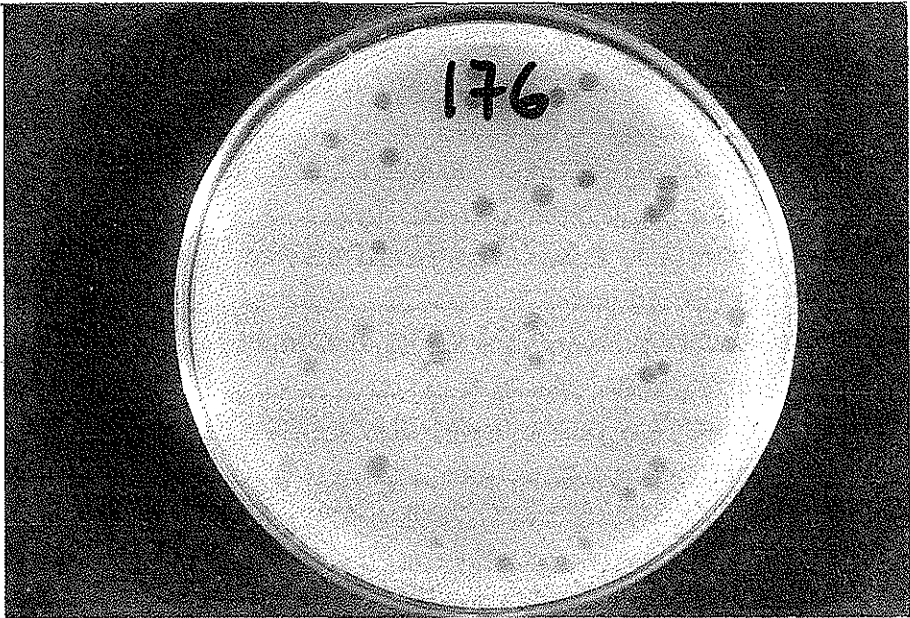
TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

Figura 6. Fotografía de una placa de agar con cero placas líticas ( resultado negativo ).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Figura 7. Fotografía que muestra una placa de agar con más de 20 placas líticas ( resultado positivo).



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Tabla 5. Comportamiento de PhageTek en relación a los cultivos positivos

No. de muestras	Rango de placas líticas	Interpretación clínica
9	0 - 5	Negativo
2	6 - 10	Negativo
1	11 - 15	Negativo
1	16 - 20	Negativo
12	> 20	<b>Positivo</b>

En los cultivos con resultado positivo la prueba de PhageTek, sólo detectó como tales a 12 muestras de un total de 27.

## 10.- BIBLIOGRAFÍA:

1. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiología médica, segunda edición, México, Harcourt Brace, 1999: 320-333.
2. Hebert M, Sommers MD. Enfermedades micobacterianas. Henry JB. Masson Salvat. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio 9ª edición 1997.
3. Harrison FB, Principios de Medicina interna. 14ª edición. México, Mc Graw Hill 1998:1149-1161.
4. American Thoracic Society and Centers for Disease Control. Control of tuberculosis in the USA. Am Rev Resp Dis 1992; 146:1623.
5. Cantwell MF, et al. Epidemiology of tuberculosis in the USA 1985 Through 1992. JAMA 1994; 272:535.
6. Segura DJ. Temas Selectos de Infectología en pacientes adultos. Revista del sistema de educación continua para el médico familiar y general. AC.1999 (8):7-11.
7. Anónimo. Tuberculosis pulmonar: Vieja enfermedad nuevos problemas Infectología Clínica. 2000; 2 (3): 25-35.
8. Hatfull GF. The Molecular Genetics of *Mycobacterium tuberculosis*. Current Topics of Microbiol And Imm 1996; 215:2947.
9. Antonucci G, et al. Risk factors for tuberculosis in HIV infected persons A prospective cohort study. JAMA 1995; 274:143.
10. Middlebrook G, Riggardo Z, Tiggert W. Automatable Radiometric detection of growth of *Mycobacterium tuberculosis* in selective media. Am Rev Resp Dis 1977; 115: 1066.
11. Anargyros P, David S, Astill SL, et al. Comparison of improved BACTEC and L-J media for culture of Micobacteria from clinical specimens. J Clin Microbiol 1990; (6): 1288-91.
12. Pablo V, Yagupsky, Doroth A, et al. Cord Formation in BACTEC 7H12 medium for rapid, presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex. J Clin Microbiol 1990 (6): 1451-53.
13. Telenti M, de Quiroz JF, Álvarez M, et al. The Diagnostic usefulness of a DNA probe for *Mycobacterium tuberculosis* complex ( Gen probe) in BACTEC Cultures versus other diagnostics methods. Infection 1994; 22: 18-23.

14. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BAC/ALERT an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Microbiol* 1990; 28 (7): 1608-1612.
15. Brunello F, Favari F, Fontana R. Comparison of the MB/BACT and BACTEC 460 TB system for recovery of *Mycobacteria* from various clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (4):1206-9.
16. Rohner P, Ninet B, Metral C, et al. Evaluation of the MB/BACT system and comparison to the BACTEC 460 system and solid media for isolation of *Mycobacteria* from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 35 (12): 3127-31.
17. Alcaide F., Benítez MA, Escriba JM, et al. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 and the MB/BACT systems for recovery of *Mycobacteria* from clinical specimens and for species identification by DNA accu probe. *J Clin Microbiol* 2000; 38 (1): 398-401.
18. Roggeenkamp A, Hornef MW, Masch A. Comparison MB/BACT and BACTEC 460 TB system for recovery of *Mycobacteria* in a routine diagnostic laboratory. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (11): 3711-2.
19. Tortoli E, Cichero P, Piersimoni C, et al. Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of *Mycobacteria* from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (11): 3578-82.
20. Nogales C, Bernal S; Chavez M. Comparison of the MB/BACT and BACTEC 460 TB systems. *J Clin Microbiol* 1999;37 (10):3432-3.
21. Badak FZ, Goksel S, Sertoz R, et al. Use of nucleic acid probes for identification of *Mycobacterium tuberculosis* directly from MB/BACT bottles. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (5): 1602-5.
22. Somoskovi A, Magyar P. Comparison of the *Mycobacteria* growth indicator tube with MB Redox, Lowenstein Jensen, and Middlebrook 7H11 media for recovery of *Mycobacteria* in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (5): 1366-9.
23. Kish & Leslie, Survey sampling, John Wiley Sons, NY 1965.
24. McEnerney R. TB: Return of the phage. A review of fifty years of micobacteriophage research. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999;3 (3): 179-84.
25. Riska PF, Jacobs WR, Bloom BR, et al. Specific identification of *Mycobacterium tuberculosis* with luciferase reporter micobacteriophage use: P-Nitro-Alpha-Beta- Acetyl amino-Beta Hidroxy-Propiophenone. *J Clin Microbiol* 1997; 35 (12): 3225-31.

26. Jones WD, Good RC, Thompson NJ. Bacteriophages types of *Mycobacterium tuberculosis* in the United States. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125 (6): 640-3.
27. Grange JM, Collins CH, McSwiggan D. Bacteriophage typing of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in South east England. *Tubercle* 1976; 57 (3): 59-66.
28. Aily DC, Camargo SS, Paro HS. Systemic Micobacterioses in IADS patients as determined by blood cultures on biphasic medium. *Revista Argentina de Microbiología* 1999, 31(2): 53-7.
29. Vasanthakumari R, Jagannath K. Brief Communication: rapid culture of tubercle bacilli source. *Bulletin of the World Health Organization* 1998; 76(3): 309-11.
30. Wisnivesky JP, Kaplan J, Henschke C., et al. Evaluation of clinical parameters to predict *Mycobacterium tuberculosis* in patients. *Arch Intern Med* 2000; 160 (11): 2471-76.
31. Louie, Marie, Louie, Lisa, Simor, Andrew E. The role of DNA amplification technology in the diagnosis of infectious diseases. *CMAJ/JAMC* 2000, 163(3): 301-309.
32. Thwaites G, Chau, T TH; Mai, N TH; Drobniewski, F; McAdam, K; Farrar. Tuberculous meningitis. *J Neurol, Neurosurg. & psychiatry* 2000, 68(3) 289-299.
33. Laverdier M, Poirier L, Weiss K, Beliveau C, Bedard L, Desnoyers D. Comparative evaluation of the MB/BacT and bactec 460 TB system for the detection of *Mycobacteria* from clinical specimens. *Diag Microbiol Infect Dis* 2000, 36 (1) 1-15.
34. Yan JJ, Huang AH; Tsai SH, Ko WC, Jin YT, Wu JJ. Comparison of the MB/BacT and BACTEC MGIT 960 system for recovery of *Mycobacteria* from clinical specimens. *Diag Microbiol Infect dis* 2000, 37 ( 1 ): 25-30.
35. Phete K, Alonso S, Bletm F, Delogu G, Brennan M, Loch C. The heparin-binding haemagglutining of *M tuberculosis* is required for extrapulmonary dissemination. *Nature* 2001, 42 (7):190-194.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN