



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN NORTE DE LA CIUDAD DE MÉXICO
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR. DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ

**Título: Rendimiento diagnóstico de GeneXpert MTB/RIF para
tuberculosis ganglionar en pacientes del Hospital de Infectología
del Centro Médico Nacional La Raza.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

PRESENTA
DR. MIGUEL ÁNGEL OLAYO VÁZQUEZ

ASESORA
DRA. ELENA URDEZ HERNÁNDEZ

NÚMERO DE REGISTRO INSTITUCIONAL
R-2020-3502-056

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO DE 2021





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dr. Bulmaro Manjarrez Téllez

Coordinador Clínico de Educación e Investigación en
Salud, Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez
Hernández. Centro Médico Nacional La Raza, IMSS.

Dra. Elena Urdez Hernández

Profesora titular del curso de Infectología, Hospital de
Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. Centro
Médico Nacional La Raza, IMSS.

Dra. Elena Urdez Hernández

Especialidad en Medicina Interna e Infectología médica
adscrita al servicio de Infectología adultos
Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández
CMN La Raza

Dr. Miguel Ángel Olayo Vázquez

Residente de segundo año de la especialidad de Infectología,
Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández
Centro Médico Nacional La Raza, IMSS.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3502**.
HOSPITAL GENERAL Dr. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

Registro COFEPRIS **18 CI 09 002 001**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 027 2017101**

FECHA **Miércoles, 29 de abril de 2020**

M.C. ELENA URDEZ HERNANDEZ

PRESENTE

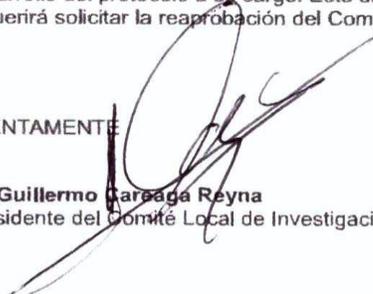
Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **RENDIMIENTO DIAGNOSTICO DE GENE XPERT MTB/RIF PARA TUBERCULOSIS GANGLIONAR EN PACIENTES DEL HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **APROBADO**:

Número de Registro Institucional

R-2020-3502-056

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE


Dr. Guillermo Carreaga Reyna
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3502

Imprimir

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

IDENTIFICACIÓN DE INVESTIGADORES

M.C. Elena Urdez Hernández

Adscripción: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. C.M.N.R

Área de Trabajo: Médica Infectóloga adscrita al Servicio Infectología Adultos

Correo: elena_urdez_hdz@yahoo.com.mx

Matricula: 3264173

Teléfono: 57821088-23973

Médico Residente: Miguel Ángel Olayo Vázquez

Adscripción: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. C.M.N.R

Área de Trabajo: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández C.M.N.R

Correo: pein.amaterasu83@gmail.com

Matricula: 98294579

Teléfono: 57821088-23973

QBP: Omar Rasiel Escobar Pérez

Adscripción: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. C.M.N.R

Área de Trabajo: Químico adscrito al área de Micobacteriología del Hospital Infectología

Correo: rasielom@gmail.com

Matricula: 98361666

Teléfono: 57821088-23942

Dr. Rogelio Navarrete Castro

Adscripción: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. C.M.N.R

Área de Trabajo: Médico Infectólogo adscrito al Servicio Infectología Adultos

Correo: mi.inf.navarrete@gmail.com

Matricula: 10981845

Teléfono: 57821088-23973

Dr. Gustavo Barriga Angulo

Adscripción: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. C.M.N.R

Área de Trabajo: Jefe de Laboratorio Clínico del Hospital Infectología

Correo: Gustavo.barriga@imss.gob.mx

Matricula: 1047051

Teléfono: 57821088-23942

QFB: Ma. Laura López Álvarez

Adscripción: Hospital Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández. C.M.N.R

Área de Trabajo: Jefa de Bacteriología Médica del Hospital Infectología

Correo: diana_laura_sol@yahoo.com.mx

Matricula: 10927883

Teléfono: 5782 1088-23942

ABREVIATURAS

- AFB:** bacterias acidorresistentes
- BAAR:** bacilos resistentes al alcohol ácido o acidorresistentes
- BBL™:** Laboratorio Biológico de Baltimore
- CMN:** Centro Médico Nacional
- Col:** colaboradores
- DNA:** ácido desoxirribonucleico
- DR:** drogorresistente
- E:** especificidad
- EPTB:** Tuberculosis extrapulmonar
- EEUU:** Estados Unidos
- FN:** resultado falso negativo
- FP:** resultado falso positivo
- H₀:** hipótesis nula
- H_a:** hipótesis alternativa
- HICMNR:** Hospital Infectología Centro Médico Nacional La Raza
- IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social
- LCR:** líquido cefalorraquídeo
- LED:** diodo emisor de luz
- M. tuberculosis:** *Mycobacterium tuberculosis*
- M.bovis:** *Mycobacterium bovis*
- MDR:** multidrogo-resistente
- MGIT:** tubo indicador de crecimiento de micobacterias
- MTB:** micobacterias del complejo tuberculosis
- NAP:** p-nitro-alfa-acetilamino-beta-hidroxiopropiofenona
- OMS:** Organización Mundial de la Salud
- OPS:** Organización Panamericana de la Salud
- RVN:** razón de verosimilitud negativa

RVP: razón de verosimilitud positiva

Rx: radiografía

S. sensibilidad

SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SPSS: Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales

TB: tuberculosis

TBG: tuberculosis ganglionar

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

VN: resultado verdadero negativo

VP: resultado verdadero positivo

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

ZN: Ziehl Neelsen

Índice

1. MARCO TEÓRICO.....	8
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS GANGLIONAR(TBG).....	8
1.2.PATOGENIA.....	9
1.3. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	10
1.4. MICROBIOLOGÍA DE LAS MICOBACTERIAS.....	12
1.5. DIAGNÓSTICO.....	14
1.5.1. MICROSCOPIA.....	14
1.5.2.CULTIVO.....	15
1.5.3. IDENTIFICACIÓN DE LA MICOBACTERIA.....	18
1.5.3.1. MÉTODOS BIOQUÍMICOS.....	18
1.5.3.2. MÉTODOS MOLECULARES.....	18
1.5.3.2.1. PRUEBA GENEXPERT MTB/RIF.....	19
1.5.3.2.1.1.PRUEBA GENEXPERT MTB/RIF EN TBG.....	20
2. JUSTIFICACIÓN.....	22
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	23
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	23
4. OBJETIVO GENERAL.....	24
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
5. HIPÓTESIS.....	24
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	25
6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	25
6.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	25
6.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	25
6.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	25
6.2.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.....	25
6.3.MUESTRA.....	25
6.3.1.CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	26
6.4. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	27
6.5. MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	29
6.6. MÉTODOS BACTERIOLÓGICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS GANGLIONAR.....	29
6.6.1 TINCIÓN DE ZIEHL-NEELSEN (ZN) Y CULTIVO.....	29
6.6.2. PRUEBA GENEXPERT MTB/RIF CON TEJIDO GANGLIONAR.....	29
6.7. ENTRADA Y GESTIÓN DE DATOS.....	30
6.8. ESTRATEGIA DE ANÁLISIS.....	30
7. ASPECTOS ÉTICOS.....	32
8. RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.....	33
10. RESULTADOS.....	34
12. DISCUSIÓN.....	35
12. BIBLIOGRAFÍA.....	39
12. ANEXOS.....	42

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE GENEXPERT MTB/RIF PARATUBERCULOSIS GANGLIONAR EN PACIENTES DEL HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA.

Resumen

Antecedentes: En México, *Mycobacterium tuberculosis* es causa de linfadenitis hasta en un 48%, particularmente entre los enfermos que viven con VIH, quienes en este centro hospitalario representan el 50% de la población atendida. Los cultivos de caldos líquidos requieren un período de incubación de 1-3 semanas, mientras que en los medios sólidos se necesitan 3-8 semanas. Los métodos moleculares o de amplificación de ácidos nucleicos son más sensibles que el frotis, pero menos que el cultivo. La prueba Gene Xpert MTB/RIF permite identificar simultáneamente el DNA de *M. tuberculosis* y la resistencia a rifampicina, el resultado se obtiene en 90 minutos, con mínimo bio-riesgo y adiestramiento técnico.

Objetivo: Evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba GeneXpert MTB/RIF a través de la comparación con los resultados del cultivo de biopsia ganglionar

Material y métodos: Se trata de un estudio observacional, comparativo, retrolectivo y retrospectivo de casos con linfadenitis atendidos en el Hospital de Infectología, del Centro Médico Nacional La Raza, durante los años 2016 – 2019. Se incluyeron pacientes que contaron con biopsia ganglionar en la que simultáneamente se efectuaron el cultivo para micobacterias y la prueba GeneXpert MTB/RIF. El cultivo se tomó como estándar de oro, en base al cual se calcularon los resultados verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos, falsos negativos, sensibilidad, especificidad y razones de verosimilitud de la prueba.

Recursos, financiamiento y factibilidad. Estudio factible que no requirió de recursos ni de financiamiento adicionales, ya que el HICMNR cuenta con personal médico y quirúrgico que participó en el protocolo de estudio de los casos de linfadenitis, así como con un área de micobacteriología, con personal capacitado y suficientes recursos para el estudio de las micobacterias en todo tipo de muestras.

Resultados: La prueba GeneXpert MTB/RIF, comparada con el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* en tejido ganglionar demostró una sensibilidad del 83(IC 95%, 0.71 - 0.95), especificidad 92(IC 95%, 0.86 – 0.97), valor predictivo positivo 79(0.66 – 0.92), valor predictivo negativo 93(0.88 – 0.92), razón de verosimilitud positiva 10.5 y razón de verosimilitud negativa 0.17.

Conclusión: Los resultados obtenidos permiten catalogar a GeneXpert MTB/RIF como una prueba útil para detectar el complejo *Mycobacterium tuberculosis* y la resistencia a rifampicina. Sin embargo, en nuestro contexto se requiere de evaluar otros factores que influyen en la confiabilidad de la prueba.

1. Marco Teórico

La linfadenopatía es una entidad clínica definida por la alteración en la consistencia, tamaño o número de los ganglios linfáticos. La etiología es amplia, ya que la causa puede ser infecciosa, neoplásica, por medicamentos o autoinmune. Entre las causas infecciosas, particular relevancia tiene la tuberculosis ganglionar, causada por una de las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, no sólo por ser la forma más común de tuberculosis extrapulmonar, sino también porque en sujetos con inmunosupresión subyacente puede ser la única expresión clínica de la infección sistémica¹.

1.1. Epidemiología de la tuberculosis ganglionar(TBG).

En países donde la tuberculosis (TB) no es endémica (< 40 casos/100,000 habitantes), como los EEUU, se ha observado lo siguiente: la proporción de TBG entre todos los casos registrados de TB se incrementó, del 3-5% reportado en 1979, al 8.5% referido en el 2013; predomina en mujeres (1.4:1); el grupo de 20-40 años de edad es el más afectado; la mayoría son inmigrantes, principalmente asiáticos². En comunidades donde la TB es endémica, generalmente, la información es poca. En la India, la TBG se observó en 38.7% de los paciente con linfadenitis (74/191); el grupo de edad más afectado, de 34-43 años; el 63.5%, mujeres, y antecedente de contacto con sujeto tuberculoso, en el 17.5% ($p < 0.001$)³. En adultos mexicanos con linfadenopatía cervical, se sospechó infección tuberculosa en 42/87 (48%), con desarrollo del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en 23(55%) y detección mediante reacción en cadena de la polimerasa casera en 34(81%)⁴

1.2. Patogenia.

La TBG es una expresión local de la enfermedad que puede ocurrir en 3 circunstancias: durante la primoinfección tuberculosa, posprimaria, o por extensión directa de un foco contiguo⁵.

Tuberculosis primaria. La infección primaria, ocurre durante la exposición inicial a la micobacteria, principalmente por dos vías: aerógena y digestiva. Por la vía aerógena, un hospedero susceptible inhala las micobacterias, transportadas por corrientes aéreas, procedentes de paciente con tuberculosis pulmonar bacilíferos. Una vez inhalado, *M. tuberculosis* llega a los alveolos pulmonares donde induce respuestas tisulares conocidas como primoinfección tuberculosa que tiene dos fases. En la primera existe una alveolitis exudativa en la que los macrófagos eliminan las micobacterias y la infección se puede limitar si el inóculo micobacteriano es bajo. En la segunda, la infección se propaga por las vías linfática intrapulmonares hasta los ganglios linfáticos regionales paratraqueales o mediastinales con posterior diseminación hematógena y siembras no sólo pulmonares sino en el resto de órganos de la economía, controladas localmente por la respuesta inmune celular que se genera de la siguiente manera: los macrófagos reconocen antígenos de la membrana y del citoplasma de la micobacteria, los procesan y presentan a los linfocitos T para que estimulen mediante linfocinas la transformación de gran número de macrófagos en células epitelioides y gigantes de Langhans, que con los linfocitos activadores formarán el granuloma tuberculoso, suficiente para contener la infección, en la mayoría de los casos y mantener el microorganismo en estado de latencia.

Tuberculosis pos-primaria. También conocida como secundaria o de tipo adulto. Comúnmente se debe a reactivación de los focos de micobacterias latentes que asentaron en los órganos durante la diseminación hematológica de la primoinfección que se desarrolla cuando se rompe el equilibrio continuo establecido entre las micobacterias latentes y la respuesta inmune del hospedero, ya sea por alteraciones locales o persistentes de la inmunidad.

Extensión directa de un foco contiguo. El foco primario puede existir en las amígdalas, adenoides o en el etmoides y de allí extenderse a los ganglios cervicales.

1.3. Manifestaciones clínicas.

Por lo general, los síntomas datan de pocas semanas a varios meses, antes de establecer el diagnóstico. En más del 90% de los casos de linfadenitis tuberculosa, se involucran los ganglios linfáticos de cabeza y cuello en el siguiente orden por frecuencia: cervicales anteriores y posteriores (63-77%), supraclaviculares, submandibulares y ocasionalmente los preauriculares o submentonianos. La linfadenopatía generalizada y hepatoesplenomegalia se observan en menos de 5% de los casos⁵.

Las adenopatías pueden ser únicas o múltiples, predominantemente son unilaterales en los adultos (74%). Los síntomas asociados con la linfadenitis tuberculosa dependen de la localización de los ganglios involucrados⁶.

La mayoría de casos con linfadenitis cervical se presentan con tumoración cervical, de lento crecimiento, indolora. En menos del 20% hay síntomas asociados como pérdida de peso, elevación de la temperatura, anorexia, fatiga, malestar o dolor⁷.

Los pacientes con linfadenitis parabrónquiales o paratraqueales, se presentan con pérdida de peso, fiebre, sudoraciones nocturnas, dolor torácico crónico, malestar, anorexia o Rx de tórax anormal⁸.

Síntomas infrecuentes de adenitis tuberculosa, son la quiluria, por obstrucción del conducto torácico, el dolor abdominal crónico y fiebre, por linfadenitis retroperitroperitoneal, ictericia progresiva por obstrucción biliar, dolor crónico en tórax por afección de ganglios linfáticos intercostales y agrandamiento ganglionar generalizado sugestivo de tumores retículo-histiocíticos⁸⁻⁹.

A la exploración física, los nódulos tuberculosos periféricos inicialmente son firmes e indoloros. La cualidad de indoloros se mantiene a pesar de que se observe caseificación y erosión hacia la piel. Por su apariencia física, las linfadenitis tuberculosas superficiales se clasifican en 5 estadios (Jones y Campbell): 1. Nódulos agrandados, firmes, móviles que muestran hiperplasia inespecífica; 2, nódulos más grandes, gomosos, fijos a los tejidos vecinos, debido a la periadenitis; 3, reblandecimiento central, por formación de abscesos; 4. Absceso de cuello y 5, formación de fístula. La mayoría de casos se diagnostican en los estadios 2 y 3⁹.

Complicaciones locales de la linfadenitis tuberculosa dependen de las estructuras anatómicas locales: La linfadenitis cervical tuberculosa se puede complicar con ulceración, fístula o formación de abscesos; la mediastínica, puede provocar la compresión esofágica, traqueal o bronquial y manifestarse con disfagia, fístula esofagomediastinal o traquesofágica.

La linfadenopatía peritoneal tuberculosa afecta más comúnmente a los ganglios linfáticos en la región periportal, seguida de los ganglios linfáticos peripancreáticos y mesentéricos. La afectación de los ganglios linfáticos hepáticos puede provocar ictericia, trombosis de la vena porta e hipertensión portal. La compresión extrínseca de las arterias renales debido a una linfadenopatía abdominal tuberculosa puede provocar hipertensión renovascular. El agrandamiento de los ganglios linfáticos intra-abdominales tuberculosos ha resultado en la compresión externa de segmentos del tracto gastrointestinal, como el duodeno. La obstrucción del conducto torácico se ha observado en la TBG de los ganglios mediastinales y abdominales, condicionando quilotórax, ascitis quilosa o quiluria¹⁰⁻¹¹.

Entre los pacientes coinfectados con VIH: los síntomas sistémicos suelen ser más frecuentes e intensos que entre los no coinfectados (60-80% vs 20-50%) y los ganglios suelen fusionarse en masas voluminosas que con medio de contraste se observan hipodensas en el centro y con realce periférico¹².

1.4. Microbiología de las micobacterias.

Género *Mycobacterium*. Las bacterias pertenecientes al género *Mycobacterium*, son un grupo de microorganismos ubicuos en el suelo y en el agua; bacilos aerobios obligados; miden de 0.2 a 0.6 x1 a 10µm; inmóviles, no esporulados; son ácido-alcohol resistentes. In vitro, su crecimiento es lento, ya que se dividen cada 24-48h. *M. leprae*, no es cultivable¹³.

Estructura. Estructuralmente, la micobacteria consta de pared celular, membrana citoplásmica y el genoma. La pared, se integra por un esqueleto compuesto por lipoarabinomanano-ácido micólico- arabinogalactano, complejo que determinará la

hidrofobicidad, ácido-alcohol resistencia que le confiere afinidad por las tinciones de Ziehl-Neelsen y Kinyoun, crecimiento lento, resistencia a los detergentes y antimicrobianos comunes, así como su antigenicidad. La membrana citoplásmica, aunque se compone de lípidos y proteínas como la de cualquier bacteria, es asimétrica ya que la parte externa es más ancha. El genoma está formado por ADN organizado en un cromosoma de doble hélice, circular.

Clasificación de las micobacterias patógenas para el humano.

Las micobacterias pertenecen al género *Mycobacterium*, familia *Mycobacteriaceae* y orden *Actinomycetales*. Por su patogenicidad en el humano se les clasifica de la siguiente forma: *Complejo Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* y micobacterias atípicas o ambientales.

Complejo *M. tuberculosis* . Representa a un grupo de micobacterias que aunque comparten más del 99% de similitud en el ADN difieren en el rango de hospederos. Los miembros del grupo son: *M. tuberculosis (MTB)*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M.canetti*, *M.caprae*, *M. pinnipedii* y *M. orygis* , entre los cuales los 3 primeros se han identificado como causa de enfermedad en el humano, particularmente el primero.

Genoma de *Mycobacterium tuberculosis*¹⁴.

La secuencia completa de *M.tuberculosis*, cepa H37Rv, se informó en 1998: contiene casi 4000 genes. Entre estos, el gen *rpoB* que codifica la subunidad β de la RNA polimerasa dependiente de DNA, puede presentar mutaciones en los

codones 526 y 521, asociadas con resistencia a rifampicina de alto nivel, o en las posiciones 514 o 533, relacionadas con resistencia de bajo nivel a rifampicina.

1.5. Diagnóstico.

El diagnóstico de tuberculosis ganglionar se establece a partir del análisis microbiológico de la biopsia del ganglio o del aspirado del pus contenido. Dicho estudio incluye, microscopia, cultivo, que es el método estándar, y las pruebas moleculares.

1.5.1. Microscopia¹⁵

La microscopía para detectar bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR), mediante Ziehl-Neelsen o la tinción de Kinyoun, es el procedimiento más utilizado para diagnosticar la TB en el mundo, especialmente en países en desarrollo con capacidad de laboratorio limitada. En la tinción de Ziehl- Neelsen, un frotis fijado recubierto con carbolfucsina se calienta, se aclara y se decolora con ácido-alcohol y posteriormente se contrasta la tinción con azul de metileno.

La tinción de Kinyoun es una modificación en la que no es necesario el calentamiento. Los microorganismos adoptan la forma de bacilos arrosariados ligeramente doblados de 2-4 μm de largo por 0,2-5 μm de ancho. Se necesitan aproximadamente 10.000 microorganismos/ml de esputo para que el frotis sea positivo y la detección de al menos 10 microorganismos en el portaobjetos es óptima. La sensibilidad del frotis de esputo de bacilos ácido-alcohol resistentes, cuando se compara con el cultivo, es del 60%. La sensibilidad es notablemente menor en la enfermedad no cavitada y en la infección por VIH. La sensibilidad aumenta aproximadamente 10% mediante la recogida de una segunda muestra de esputo, y 2% con una tercera. El procesamiento del esputo con hipoclorito sódico

y la concentración antes de la tinción aumenta también la sensibilidad. La microscopía de muestras teñidas con un tinte fluorocromo (como la auramina O) proporciona una alternativa más fácil, más eficiente y aproximadamente 10 veces más sensible, como las micobacterias se observan fácilmente con objetivos de bajo aumento de 20X y 40X, requiere menos tiempo por parte del técnico y puede aumentar la sensibilidad sobre los frotis de bacilos ácido-alcohol resistentes convencionales. Sin embargo, la detección microscópica de micobacterias no distingue a *M. tuberculosis* de las micobacterias no tuberculosas. En 2011 la OMS recomendó que la microscopía de fluorescencia tradicional fuera reemplazada por la microscopía LED (light emitting diode, diodo emisor de luz) como alternativa a la microscopía Ziehl-Neelsen clásica ¹⁷.

1.5.2. Cultivo ^{16,18}

Es el método estándar para el diagnóstico específico de las infecciones por micobacterias. Ha demostrado ser más sensible (10^1 - 10^2 , bacterias viables/ml) que el estudio microscópico. Las muestras de esputo o de tejido deben someterse a una descontaminación inicial para eliminar los microorganismos no micobacterianos de crecimiento rápido y a una licuefacción para que los descontaminantes puedan acceder a los microorganismos no micobacterianos y a los nutrientes del medio y puedan sobrevivir las micobacterias.

La descontaminación y la licuefacción se suelen llevar a cabo con N-acetil-L-cisteína como mucolítico en una solución de hidróxido sódico al 1%. Las micobacterias están relativamente bien protegidas durante este procedimiento gracias a su pared celular rica en ácidos grasos. Sin embargo, los tejidos y líquidos normalmente estériles

como el líquido cefalorraquídeo (LCR) o el líquido pleural no deben descontaminarse, ya que se perdería la viabilidad micobacteriana. A continuación se neutraliza y se centrifuga la muestra y el sedimento se inocula en el medio de cultivo. Se pueden utilizar tres tipos de medio para el cultivo de las micobacterias: medio con base de huevo (p. ej., Lowenstein-Jensen), medio con base de agar sólido (p. ej., Middlebrook 7H11) y caldo líquido (p. ej., Middlebrook 7H12). Los medios de cultivo se convierten en selectivos para las micobacterias añadiendo antibióticos. También existen medios no selectivos, en los que el crecimiento es más rápido. El crecimiento es más rápido en presencia de dióxido de carbono al 5-10%. Los cultivos de caldos líquidos requieren un período de incubación de 1-3 semanas para poder detectar microorganismos, mientras que en los medios sólidos se necesitan 3-8 semanas. Sin embargo, los cultivos sólidos permiten examinar la morfología de las colonias, detectar cultivos mixtos y cuantificar el crecimiento. Además, algunas cepas de micobacterias pueden crecer sólo en medios sólidos, por lo que se recomienda utilizar conjuntamente medios líquidos y sólidos, inoculando al menos un cultivo de medio sólido.

Existen sistemas de cultivo basados en caldo para mejorar la velocidad y la sensibilidad de detección. El sistema BACTEC 460 se basa en el medio Middlebrook 7H12 que contiene ácido palmítico 14C con una mezcla de antibióticos (PANTA) para suprimir el crecimiento de otras bacterias. La adición de NAP (p-nitro-alfa-acetilamino-beta-hidroxipropiofenona) en el medio suprime el crecimiento de otros organismos complejos de *M. tuberculosis*, como *M. bovis*, pero no diferencia a *M. tuberculosis* de otras micobacterias no tuberculosas. El crecimiento bacteriano está

indicado por la detección de ^{14}C liberada por *M. tuberculosis*, ya que metaboliza el ácido palmítico. En muestras de frotis positivos de bacterias acidorresistente (AFB), el sistema BACTEC puede detectar *M. tuberculosis* en 8 días (en comparación con aproximadamente 14 días para muestras con frotis negativo). Sin embargo, el alto costo del equipo y la necesidad de material radiactivo que requiere su eliminación excluyen su uso en la mayoría de los entornos endémicos.

Otros sistemas basados en caldo incluyen Septi-Chek AFB (BBL) y el tubo indicador de crecimiento micobacteriano (MGIT). Septi-Chek AFB es un sistema bifásico compuesto por una botella tapada que contiene caldo Middlebrook 7H9 modificado bajo CO_2 y una paleta recubierta con agar sólido, como Middlebrook 7H11 y medio Löwenstein-Jensen. La tasa de recuperación del complejo *M. tuberculosis* a partir de muestras de frotis BAAR negativo mediante este procedimiento es 15 a 30 % más alta que en los medios convencionales, y el promedio recuperación es dos a cinco días más corto.

El sistema MGIT 960 utilizado en los Estados Unidos se basa en el caldo Middlebrook 7H9 que contiene caucho de silicona impregnado con pentahidrato de rutenio que sirve como sensor de oxígeno que apaga la fluorescencia. A medida que el oxígeno es consumido por las bacterias metabolizadoras, la fluorescencia del medio de crecimiento líquido se detecta visualmente. La tasa de recuperación del complejo *M. tuberculosis* es 15 % menor por el sistema MGIT (68 %) comparado con la obtenida por el sistema radiométrico BACTEC, pero el tiempo promedio para la detección es similar (9.9 versus 9.7 días). El no requerir de instrumentos costosos y materiales radiactivos hace que MGIT sea ampliamente aceptable y adecuado en

muchos laboratorios. Un sistema de detección colorimétrico y basado en caldo similar es el sistema MB / BacT. En este sistema, un sensor colorimétrico está incrustado en el fondo de una botella y, cuando un microorganismo en crecimiento produce dióxido de carbono, el sensor cambia de verde oscuro a amarillo. Este cambio de color es monitoreado continuamente por un dispositivo de detección. Tiene una sensibilidad de 96 a 100 % y una especificidad de 78 a 100 % .

1.5.3. Identificación de la micobacteria.

Una vez desarrollado el microorganismo, la identificación se basa en características bioquímicas, aunque los métodos de detección basados en ácidos nucleicos han obviado muchas de las pruebas convencionales.

1.5.3.1. Métodos bioquímicos.

Las pruebas de niacina, nitrato reductasa y catalasa, son las pruebas bioquímicas más utilizadas para distinguir *M. tuberculosis* de otras especies micobacterianas. Por lo general, el microorganismo es positivo en la prueba de niacina, tiene una actividad de catalasa débil, que se inactiva a 68°C, y reduce el nitrato.

1.5.3.2. Métodos moleculares ¹⁹

Los métodos moleculares o de amplificación de ácidos nucleicos están disponibles para la detección del DNA del complejo *M. tuberculosis* y de las mutaciones comúnmente asociadas con resistencia a los medicamentos. Hay dos tipos principales de ensayos moleculares: pruebas que emplean un fragmento (sonda) de DNA y ensayos basados en secuencias. La distinción principal entre estos tipos de ensayos es que, en general, las pruebas basadas en sondas pueden detectar si una mutación genética está presente pero no puede proporcionar la información de

secuencia para la (s) mutación (es) específica (s). Esta información puede ser importante porque no todas las mutaciones genéticas dentro de una región dada confieren resistencia a los medicamentos; Las mutaciones silenciosas o sin sentido se pueden detectar mediante ensayos basados en sondas y señales de resistencia al fármaco, aunque no confieran resistencia al fármaco en el cultivo. En contraste, los ensayos basados en secuencias pueden proporcionar información sobre la naturaleza de una mutación específica y, por lo tanto, pueden predecir la resistencia al fármaco con mayor precisión. Por lo tanto, los resultados obtenidos de un ensayo basado en sondas sugestivas de resistencia deben confirmarse con otra prueba basada en secuencias o mediante cultivo.

Las pruebas moleculares se caracterizan por lo siguiente: son más sensibles que el frotis, ya que sólo se requiere de 1-10 bacilos/ml para ser positiva, pero menos que el cultivo; tienen un valor predictivo positivo mayor al 95%, para distinguir micobacterias tuberculosas y no tuberculosas en los especímenes con BAAR positivos en el frotis; pueden detectar la presencia de *M. tuberculosis* hasta en el 80% de los especímenes con frote negativo para BAAR con cultivo positivo; se pueden observar resultados falsos positivos por contaminación en el laboratorio y no tienen utilidad para monitorear la respuesta al tratamiento ya que detectan microorganismos vivos y muertos.

1.5.3.2.1. Prueba GeneXpert MTB/RIF.

En la práctica médica, actualmente se tiene acceso a la prueba molecular GeneXpert MTB/RIF, método recomendado por la OMS para el estudio inicial de los enfermos con infección por micobacterias, tanto pulmonar como extrapulmonar

²⁰. Es una prueba automatizada, para la detección de *M. tuberculosis* que integra el proceso completo de la muestra en un cartucho, para identificar simultáneamente el DNA de *M. tuberculosis* y la resistencia a rifampicina mediante 3 sub-procesos: disrupción de la muestra mediante sonicación; amplificación del DNA mediante reacción en cadena de la polimerasa y, detección de mutaciones de resistencia a rifampicina en el gen beta de la RNA polimerasa (*rpoB*) en formato de tiempo real por medio de sondas fluorescentes. El resultado se obtiene en 90 minutos, con mínimos bio-riesgo y adiestramiento técnico. Tiene sensibilidad media del 98% comparada con la prueba de referencia, el cultivo. La sensibilidad fue del 99,8% cuando los cultivos y los frotis eran positivos y del 90,2% cuando el cultivo era negativo y el frotis positivo. El ensayo requiere una fuente de alimentación confiable y temperaturas de operación por debajo de 30 °C

1.5.3.2.1.1. Prueba GeneXpert MTB/RIF en TBG.

La detección de MTB en ganglio es desafiante, no sólo por la baja carga bacteriana sino también por requerir, en la mayoría de los casos, de un procedimiento invasivo para obtener la muestra. Varios reportes catalogan la prueba GeneXpert MTB/RIF no sólo como un método eficiente para diagnosticar tuberculosis y resistencia a rifampicina en ganglio ²²⁻²⁵, sino también como una estrategia complementaria para el estudio de pacientes que viven con enfermedad VIH y linfadenitis²⁶. La sensibilidad y especificidad de la prueba es de 76 y 92%, respectivamente, cuando se compara con el cultivo de tejido ²⁷.

Hay diversos estudios que han demostrado la importancia de rendimiento diagnóstico Gene Xpert MTB/RIF en muestras no pulmonares. El estudio realizado en conjunto con la Cepheid® Estados Unidos y HAIN Life Science Alemania en el 2019 un estudio retrospectivo de 21 meses en el cual evalúa el desempeño del sistema Gene Xpert MTB / RIF en el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar analizaron setecientos catorce muestras de pacientes; la edad promedio fue de 47.21 ± 19.98 años con predominio masculino (66.4%). De 714 muestras: 285 eran de origen pulmonar y 429 eran de origen extrapulmonar. La sensibilidad y especificidad de Gene Xpert MTB/RIF fueron casi las mismas en muestras pulmonares y extrapulmonares (78,2 y 90,4%) y (79,3 y 90,3%) respectivamente²⁸. Se realizó un meta-análisis publicado en 2018 con el objetivo de evaluar el rendimiento de Gene Xpert MTB/RIF para la tuberculosis ganglionar, en el cual se incluyeron 21 estudios originales que evaluaron la precisión diagnóstica del ensayo Gene Xpert MTB/RIF para tuberculosis ganglionar utilizando muestras de tejido de biopsia o aspirado de aguja fina comparado con el cultivo. Utilizando un modelo bivariado de efectos aleatorios para realizar metaanálisis y la meta regresión para analizar las fuentes de heterogeneidad, se demostraron sensibilidad y especificidad del 90% y 89%, respectivamente²⁷.

2. Justificación

La evaluación de pruebas moleculares para investigar el complejo *Mycobacterium tuberculosis* entre los pacientes con linfadenitis atendidos en esta unidad es una necesidad, ya que se requiere de establecer un diagnóstico oportuno y un tratamiento específico.

La comparación de los resultados obtenidos con la prueba *GeneXpert MTB/RIF* con los resultados del cultivo del microorganismo, puede permitir conocer el rendimiento diagnóstico de la prueba *GeneXpert/MTB/RIF* para tuberculosis ganglionar. Secundario a esto, apoyar políticas sobre optimización de recursos. Por lo tanto, se considera conveniente llevar a cabo el presente proyecto.

3. Planteamiento del problema

M. tuberculosis es causa de linfadenitis hasta en un 55%, particularmente en países con prevalencia de TB elevada y entre hospederos vulnerables como los enfermos que viven con VIH, entre quienes la linfadenitis puede ser la única expresión clínica de la enfermedad sistémica. En México, *M. tuberculosis* se ha detectado en el 48 % de los casos de adenitis y en este centro hospitalario los enfermos que viven con VIH, representan el 50% de la población atendida. La Linfadenitis por *M. tuberculosis* en un paciente VIH implica un peor pronóstico en cuanto a supervivencia, sobre todo en casos de inmunodepresión grave, conduce a una rápida progresión a SIDA con una asociación de 8.3% de muertes en las personas con SIDA. La principal limitación de los Programas de Control de la Tuberculosis a nivel internacional y nacional son las dificultades para hacer el diagnóstico temprano de la enfermedad. La detección de *M. tuberculosis* en la linfadenitis es desafiante si se considera que típicamente la carga micobacteriana es baja y el desarrollo del microorganismo en cultivo puede requerir hasta 8 semanas. La capacidad de la prueba GeneXpert MTB/RIF para detectar el complejo de *Mycobacterium tuberculosis* y la resistencia a rifampicina en dos horas, con sensibilidad y especificidad de 76 y 92%, respectivamente, indujeron a evaluar la utilidad de dicho recurso en el diagnóstico de tuberculosis ganglionar.

Pregunta de investigación

¿Cuál es el rendimiento diagnóstico de la prueba GeneXpert MTB/RIF en comparación con el resultado del cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* efectuados de tejido ganglionar?

4. Objetivo general

Evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba GeneXpert MTB/RIF a través de la comparación con los resultados del cultivo de biopsia ganglionar

4.1 Objetivos específicos

1. Conocer la utilidad de la prueba GeneXpert/MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis ganglionar.
2. Evaluar la frecuencia de adenitis tuberculosa en la población atendida
3. Conocer la frecuencia de resistencia a rifampicina
4. Apoyar políticas sobre optimización de recursos.

5. Hipótesis

H0: La prueba *GeneXpert MBT/RIF* tuvo una sensibilidad y especificidad mayores a 80% comparada con el resultado del cultivo de *M. tuberculosis* de tejido ganglionar.

6. Material y métodos

6.1. Diseño del estudio

Por evaluar el resultado de dos pruebas: comparativo

Por la ausencia de intervención en la expresión de la infección: observacional

Por la forma de recabar la información: retrolectivo

Por la temporalidad de la prueba: retrospectivo

Se trata de un estudio observacional, comparativo, retrolectivo y retrospectivo.

6.2. Población de estudio

La población de estudio consiste en pacientes con sospecha de tuberculosis, con linfadenitis y biopsia ganglionar atendidos en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional La Raza, durante los años 2016 - 2019.

6.2.1. Criterios de inclusión

Paciente con sospecha de tuberculosis ganglionar

Contaron con biopsia ganglionar:

- Con cultivo para micobacterias
- Con prueba GeneXpert MTB/RIF

6.2.2. Criterios de exclusión

No se excluyeron pacientes en este estudio.

6.2.3. Criterios de eliminación

- Casos con resultado no concluyente en alguno de los dos métodos diagnósticos

6.3. Muestra

Se utilizó una técnica muestral no probabilística por conveniencia.

6.3.1. Cálculo del tamaño de la muestra

La muestra se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Tamaño de la muestra} = \frac{\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2 N}\right)}$$

N = tamaño de la población

e = margen de error (porcentaje expresado con decimales)

z = puntuación z (1.96 para un nivel de confianza de 95%)

Con lo que se obtuvo un tamaño muestral de 138 pacientes.

Debido al tipo de estudio no se previó pérdida de participantes

6.4. Operacionalización de las variables

Variables

Nombre de la variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Indicador
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Tiempo que ha vivido una persona contando desde su nacimiento	Cuantitativa, discreta	Numero natural discreto
Sexo	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres	Cualitativa, dicotómica	Masculino, femenino
Diagnóstico de infección por VIH	Paciente con muestra reactiva (idealmente, una combinación de antígeno / inmunoensayo de anticuerpos) además de una prueba virológica de VIH (carga viral).	Paciente con muestra reactiva (idealmente, una combinación de antígeno / inmunoensayo de anticuerpos) además de una prueba virológica de VIH (carga viral).	Cualitativa, dicotómica	Positivo, negativo
Diabetes	Enfermedad del metabolismo anormal de carbohidratos que se caracteriza por hiperglucemia	Paciente diagnosticado con diabetes mellitus previo a realizar este estudio	Cualitativa, dicotómica	Si, No
Hipertension	Tensión arterial alta o elevada, trastorno en que los vasos sanguíneos tienen una tensión persistentemente alta, lo que puede dañarlos, ocasionando daño al corazón, vasos sanguíneos, cerebro y riñon	Paciente quien se conoce con diagnóstico de hipertensión previo a realizar este estudio	Cualitativa, dicotómica	Si, no
Inmunosupresion	Inhibición de uno o mas componentes del sistema inmunitario adaptativo o innato que pueden producirse como resultado de una enfermedad subyacente o de forma intencional mediante el uso de medicamentos	Paciente quien se conoce con una condición de inmunosupresion previo a realizar este estudio	Cualitativa, dicotómica	Si, no
Prueba de GeneXpert MTB/RIF	Ensayo diagnóstico automatizado que permite tanto la identificación del complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> como la detección de resistencia a rifampicina	En un dispositivo comercial intercambiable (cartucho) se lleva a cabo lo siguiente: obtención del DNA de la micobacteria por sonicación de la muestra; amplificación del DNA e identificación del complejo <i>M. tuberculosis</i> mediante PCR, y la detección de mutaciones de resistencia a rifampicina en el	Cualitativa, dicotómica	Si, No

		<i>gen rpoB</i> de la RNA polimerasa mediante sondas fluorescentes		
Cultivo para <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Procedimiento mediante el que se fomenta el desarrollo/mantenimiento de <i>M. tuberculosis</i> .	Evidencia de crecimiento en medio sólido (Lowenstein Jensen) o en medio líquido (MGIT)	Cualitativa, dicotómica	Si, No
Complejo MTB	Grupo de micobacterias que presentan >95% de homología en su DNA. Está compuesto por <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. caprae</i> , <i>M. africanum</i> , <i>M. microti</i> y <i>M. canetti</i> . <i>M. mungi</i> , <i>M. pinnipedii</i> , <i>M. orygis</i>	Habitualmente se utiliza el término <i>M. tuberculosis</i> como sinónimo para referirse a: por <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. caprae</i> , <i>M. africanum</i> , <i>M. microti</i> y <i>M. canetti</i> . <i>M. mungi</i> , <i>M. pinnipedii</i> , <i>M. orygis</i> . Ya que se identifican, en la mayoría de los laboratorios mediante la hibridación con una sonda de DNA común para todo el complejo.	Cualitativa, dicotómica	Si, no

6.5. Método de recolección de datos

Se identificaron los casos que cumplieron con los criterios de inclusión mediante revisión de los registros microbiológicos y de los expedientes clínicos de donde se recabaron edad, sexo, comorbilidades y sitio de la biopsia ganglionar. La información se registró en la base de datos para su posterior análisis. (Anexo 1)

6.6. Métodos bacteriológicos para el diagnóstico de tuberculosis ganglionar.

6.6.1 Tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) y cultivo

El diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis ganglionar se realizó según los lineamientos de la OPS (Organización Panamericana Salud)^{15,18}.

En una cabina de bioseguridad, las biopsias ganglionares transportadas en solución salina 0.9% fueron trasvasadas a un mortero estéril donde se disgregaron y homogenizaron. Previa descontaminación mediante el método de Petroff modificado, se procedió a inocular el material homogenizado en medio sólido (Lowenstein-Jensen) y líquido (MGIT, Mycobacteria-Growth-Indicator-Tube) y a efectuar un extendido para teñir con ZN. Posteriormente se efectuó la lectura. Los medios inoculados se incubaron a 37°C y se sometieron a control visual periódico para detectar el desarrollo de micobacterias. En este momento, se realizó la identificación y las pruebas de sensibilidad. Para control de calidad, se estableció la comparación de los periodos el desarrollo observados entre las cepas de micobacterias ya identificadas y el de los casos problema.

6.6.2. Prueba GeneXpert MTB/RIF con tejido ganglionar.

Se realizó al momento de efectuar el cultivo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante: Primero, a 0.7ml de homogenizado de la biopsia ganglionar se le agregó 1.4 ml de solución de lisis (hidróxido de sodio e isopropanolol) incluido en el Xpert

MTB/RIF. Después, 2 ml de dicho preparado se transfirieron al cartucho Xpert MTB/RIF. Posteriormente, el cartucho se introdujo al equipo GeneXpert MTB/RIF. En cada prueba se incluyó un control para el procesamiento de la muestra y otro para la sonda. Por último, en dos horas se generó el reporte: *M. tuberculosis* como detectado (detección muy baja, baja, media y alta) o no detectado. La resistencia a rifampicina, detectada, no detectada e indeterminada.

6.7. Entrada y gestión de datos

La información obtenida se registró en una base de datos elaborada en una hoja de cálculo de Microsoft Excel.

6.8. Estrategia de análisis

La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos se calcularon al considerar el cultivo bacteriológico como el estándar de oro; se elaboró la tabla cruzada 2x2 en el software SPSS de la siguiente manera:

Sensibilidad (proporción de sujetos con la enfermedad con la prueba positiva)=
 $VP/(VP+ FN)$

Especificidad (proporción de individuos sin la enfermedad con la prueba negativa)= $VN/(VN+FP)$

Donde:

VP= resultado verdadero positivo (la pruebas es positiva y el paciente tiene la enfermedad)

FP= resultado falso positivo (la prueba es positiva, pero el paciente no tiene la enfermedad)

FN= resultado falso negativo (la prueba es negativa, pero el enfermo tiene la enfermedad)

VN= resultado verdadero negativo (la prueba es negativa y el paciente no tiene la enfermedad)

Seguridad de la prueba diagnóstica

En la práctica clínica, es fundamental determinar la certeza del resultado de una prueba: el paciente se encuentre sano, al contar con un resultado negativo o enfermo, cuando el resultado es positivo. Por lo tanto, se calcularon los valores predictivos positivos y negativos de la siguiente forma:

Valor Predictivo Positivo (VPP) = $VP/VP+FP$

Valor predictivo Negativo (VPN)= $VN/FN+VN$.

Para tener una evaluación completa de la prueba estudiada, consideramos necesario calcular las razones de verosimilitud, positiva (RVP) y negativa (RVN), de la siguiente manera:

RVP= sensibilidad/1-especificidad

RVN= 1-sensibilidad/ especificidad

7. Aspectos éticos

El estudio se realizó de acuerdo a la declaración de Helsinki y al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud: en título segundo, capítulo I, artículo 17. Se consideró categoría I: investigación sin riesgo, debido a que empleó técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos en los que no se realizó ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos participantes..

El presente proyecto se ajustó a las normas institucionales en materia de investigación científica, por lo tanto, se realizó hasta que fue aprobado por los Comités de Ética e Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social, y aceptado para su aplicación.

El presente estudio no puso en riesgo al paciente y tuvo el beneficio de demostrar la rentabilidad de un método diagnóstico molecular en pacientes con linfadenitis y sospecha de tuberculosis ganglionar otorgando un diagnóstico temprano a fin de efectuar tratamiento oportuno.

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), es el responsable del tratamiento de los datos personales que nos proporcione, los cuales fueron protegidos conforme a lo dispuesto por la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26 de enero de 2017, y demás normatividad que resultó aplicable.

Método utilizado para obtener el consentimiento informado

No aplicó.

Riesgos físicos, sociales o legales a los que pudieron verse sometidos los pacientes

Debido a que no se realizó ninguna intervención en los enfermos, este estudio no implicó ningún riesgo físico, social o legal para ellos.

Métodos utilizados para minimizar los riesgos principales

No aplicó.

8. Recursos, financiamiento y factibilidad.

Fue un estudio muy factible ya que no requirió de recursos ni de financiamiento adicionales, puesto que el HICMNR cuenta con personal médico y quirúrgico que participa en la atención cotidiana de los enfermos con linfadenitis, así como con un área de micobacteriología, con personal capacitado y suficientes recursos para el estudio de las micobacterias en todo tipo de muestras.

10. Resultados

Población

Se estudiaron 138 casos de linfadenitis con biopsia ganglionar, atendidos en el HICMNR del 2016 al 2019, quienes presentaron las siguientes características relevantes, como puede observarse en la tabla 1: La mayoría fueron adultos (134/138, 97%), en la cuarta década de la vida, varones (82%) y con enfermedad VIH subyacente (79.7%). Aunque los ganglios biopsiados fueron de varias topografías, predominaron los cervicales (71%).

Relación entre la topografía del ganglio biopsiado y el diagnóstico de infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

No obstante que el diagnóstico de infección por *M. tuberculosis* se estableció en biopsias ganglionares de topografías diferentes, la mayor proporción se logró de los ganglios cervicales (29% y la menor de los inguinales (14.2%), tabla 2.

Rendimiento diagnóstico de la prueba GeneXpert MTB/RIF comparada con cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* en tejido ganglionar.

El diagnóstico de infección por *M. tuberculosis* se estableció en el 26.8% (37/138) de los casos. Como se desglosa en la tabla 3, la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, razón de verosimilitud positiva (RVP) y razón de verosimilitud negativa (RVN), de la prueba GeneXpert MTB/RIF, fueron de 83, 92, 79 y 93% ,10.5 y 0.17, consecutivamente.

12. Discusión

En el presente estudio, la prueba GeneXpert MTB/RIF, comparada con el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* en tejido ganglionar, demostró una sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), razón de verosimilitud positiva (RVP) y razón de verosimilitud negativa (RVN), del 83% (IC 95%, 0.71-0.95), 92% (IC 95%, 0.86-0.97), 79% (IC 95%, 0.66-0.92), 93% (IC 95%, 0.88-0.92), 10.5 y 0.17, respectivamente. Dichos indicadores, permiten catalogar a GeneXpert MTB/RIF como una prueba útil para diagnosticar TB ganglionar y detectar resistencia a rifampicina. Sin embargo, en otros estudios se ha observado variabilidad en el desempeño diagnóstico, tanto para detectar el complejo de MTB como la resistencia a rifampicina.

Con respecto al desempeño diagnóstico en la detección del complejo MTB, se han considerado tres factores de variación: el tipo de espécimen ganglionar analizado, la proporción de enfermos que viven con VIH incluidos en la población estudiada y la carga regional de tuberculosis. Para el primero, el desempeño de GeneXpert MTB/RIF, con respecto al cultivo y a un estándar combinado integrado por varios parámetros-datos clínicos, bioquímicos, histopatológico, frotis, otras pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, cultivo y respuesta al tratamiento antituberculosos- evidenció una S de 76% (IC 95%, 66-83) y 90% (IC 95%, 83-95%) con E del 92% (IC 95%, 78-98%) y 89% (IC 95, 65-97%), para el tejido y aspirado ganglionares, respectivamente²⁷.

Recientemente, un estudio similar de GeneXpert MTB/RIF, pero con estándares separados (cultivo y estándar compuesto), determinó una S de 0.79% (IC 95%, 0.77, 0.81) y E de 0.88% (IC 95%, 0.87, 0.90)²⁹. En ambos estudios, la diferencia de la eficiencia diagnóstica entre los tipos de espécimen, no fue significativa. Para la segunda, un estudio del Joseph Hospital, Johannesburgo que evaluó el rendimiento de GeneXpert MTB/RIF para la tuberculosis de los ganglios linfáticos asociada al VIH en 373 pacientes: determinó una S del 87%, cuando la cuenta de linfocitos TCD4+ era mayor de 250/cels/mm³, y de 98.6%, con cuentas menores de 100 cels/mm³³⁰. Datos discordantes observaron Ablanedo-Terrazas y colaboradores al evaluar la precisión diagnóstica de GeneXpert MTB/RIF en pacientes con enfermedad VIH y linfadenopatía cervical entre enero de 2011 y marzo de 2013: determinaron S y E de 100% (IC 95%, 74.65-100) y 100% (IC 95%, 91.58-100), consecutivamente, y no hubo relación con la cuenta de linfocitos TCD4+³¹. Para la tercera, los investigadores han considerado la categorización de los países de acuerdo a la carga de tuberculosis, concepto cuyo principal indicador es el medir la pérdida de salud poblacional con base no sólo en las consecuencias mortales, sino también en las inmortales y los factores de riesgo asociados³². Un metaanálisis realizado en el año 2017 que incluyó 106 estudios para evaluar el desempeño de GeneXpert MTB/RIF, comparado con el cultivo de muestras extrapulmonares (25/96), determinó S y E de 0.82(IC 95%, 0.67-0.91) y 0.92(IC95%, 0.84-0.96), respectivamente, en las comunidades con alta carga de tuberculosis, y de 0.81 (IC 95%, 0.63-0.91) y 0.98 (IC 95%, 0.96-0.99), en los países con carga mediana-baja³³.

En cuanto a detección de resistencia a rifampicina, la variabilidad en el desempeño de los resultados falsos negativos se ha asociado con dos hechos: la presencia de una mezcla de bacilos sensibles y resistentes en la misma muestra y la resistencia a rifampicina causada por mutaciones fuera del gene *rpoB*. La primera se ha detectado en Europa, Asia, África y Norteamérica, con frecuencia oscilante de 0.4 a 57%³⁴. La segunda situación, se ha observado en el 6% de las muestras tanto pulmonares como extrapulmonares³⁵.

Tanto para la detección de MTB como de la resistencia a rifampicina, otros posibles factores condicionantes de la variación en los resultados del GeneXpert MTB/RIF, comparado con cultivo en linfadenitis tuberculosa, son la pérdida de micobacterias vivas y su desigual distribución en la muestra durante el proceso de digestión-purificación³⁶.

En México, Ablanedo y colaboradores, en un estudio prospectivo realizado en el Centro de Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), entre enero de 2011 y Marzo de 2013, al evaluar la prueba GeneXpert MTB/RIF en tejido ganglionar, comparada con el cultivo, en pacientes de linfadenitis infectados por el VIH, reportaron S de 100% (IC 95%, 74,65% -100%), E 100% (IC 95%, 91,58% -100%), VPP del 100%. (IC 95%, 74,65% -100%) y VPN del 100% (IC 95%, 91,58% -100%), lo cual discrepa con lo observado en el presente trabajo. Tal discrepancia, pudiera ser condicionada por las diferentes características de los pacientes incluidos en el estudio presentado: muestra mayor (138 vs 68); menor proporción de enfermos con VIH (79% vs 100%) y de ganglios cervicales (71% vs 100%), así como la inclusión sólo de biopsias (100%

vs 82%).Sin embargo, en ninguno de los estudios se reportaron resultados indeterminados³¹.

Conclusión. En el presente trabajo, los resultados obtenidos en la evaluación de la prueba GeneXpert MTB/RIF permiten catalogarla como útil en la detección del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* y de resistencia a rifampicina en linfadenitis. Sin embargo, se requiere evaluar otros factores que influyen en la confiabilidad de la prueba.

12. Bibliografía

1. Ferrer R. Lymphadenopathy: differential diagnosis and evaluation. *Am Fam Physician* 1998;58:1313-1320.
2. Polesky A, Grove W, Bhatia G. Peripheral tuberculous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, treatment, and outcome. *Medicine*. 2005; 84 (6): 350-362.
3. Khajanchi M, Bambarkar S, Gadgil A, Roy N. Cervical node tuberculosis in adults of an urban middle class community: incidence and management. *Indian J Otolaryngol and Head Neck Surg*. 2015;68(3):345-351.
4. Hernández-Solís A, Cicero-Sabido R, Olivera H, Rivero V, Ramírez E, Escobar-Gutiérrez A. Tuberculosis is still a major cause of cervical lymphadenopathies in adults from developing countries. *Epidemiol Infection*. 2003;131(3):1071-1076.
5. Fitzgerald DW, Sterling TR, Haas DW. *Mycobacterium tuberculosis*. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Philadelphia: Elsevier, 2015:2796-2818.
6. Mahashur A, Gandhare A. Tuberculosis of the lymph nodes: many facets, many hues. *Astrocyte*. 2017;4(2):80-86.
7. Fontanilla J, Barnes A, von Reyn C. Current diagnosis and management of peripheral tuberculous lymphadenitis. *Clin Infect Dis*. 2011;53(6):555-562.
8. Raghab P, Kumar A. Tuberculous lymphadenitis. *JAPI*. 201;57:585-590.
9. Jha B, Dass A, Nagarkar N, Gupta R, Singhal S. Cervical tuberculous lymphadenopathy: changing clinical pattern and concepts in management. *Postgrad Med J*. 2001;77(905):185-187.
10. Rafay M. Tuberculous lymphadenopathy of superior mediastinum causing vocal cord paralysis. *Ann Thorac Surg*. 2000;70(6):2142-2143.
11. Aaron L, Saadoun D, Calatroni I, Launay O, Mémain N, Vincent V et al. Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(5):388-398.
12. Shriner K, Mathisen G, Goetz M. Comparison of mycobacterial lymphadenitis among persons infected with human immunodeficiency virus and seronegative controls. *Clin Infect Dis*. 1992;15(4):601-605.
13. Pfyffer GE. *Mycobacterium*: general characteristics, laboratory detection, and staining procedures. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Landry ML, Funke G, Richter SS, ed. *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press, 2015:536-569.
14. Cole S, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*. 1998;393(6685):537-544.

15. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte I. OPS, 2008.
16. Alcaide F, Esteban J, González J, Palacios J. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Micobacterias. Procedimientos en microbiología clínica. 2005;9a.
17. World Health Organization. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis. Geneva, Switzerland; 2011.
18. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte II. OPS, 2008.
19. Nurwidya F, Handayani D, Burhan E, Yunus F. Molecular diagnosis of tuberculosis. Chonnam Med J. 2018;54(1):1-9.
20. Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, Dheda K, Denkinger CM, Schumacher SG, et al. Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. Cochrane Database Syst Rev. 2018;(8):CDO12768.
21. World Health Organization. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational “how-to”; practical considerations. Geneva, Switzerland: WHO, 2014.
22. Ghariani A, Jaouadi T, Smaoui S, Mehiri E, Marouane C, Kammoun S et al. Diagnosis of lymph node tuberculosis using the GeneXpert MTB/RIF in Tunisia. Int J Mycobacteriol. 2015;4(4):270-275.
23. Soomro NH, Baig S, Rao N, Zafar AA, Hashmat F, Bakhsh S, et al. Genexpert of cervical lymph node specimens in the diagnosis of extrapulmonary TB and rifampicin resistance. Gomal J Med Sci. 2017;15(1):12-15.
24. Sarfaraz S, Iftikhar S, Memon Y, Zahir N, Hereker F, Salahuddin N. Histopathological and microbiological findings and diagnostic performance of GeneXpert in clinically suspected tuberculous lymphadenitis. Int J Infect Dis. 2018;76:73-81
25. Nur T, Hosna A, Rayhan N, Nazneen N. Diagnosis of lymph node tuberculosis using the GeneXpert MTB/RIF in Bangladesh. Mediscope. 2018;6(1):19-23.
26. Van Rie A, Page-Shipp L, Mellet K, Scott L, Mkhwnazi M, Jong E et al. Diagnostic accuracy and effectiveness of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of HIV-associated lymph node tuberculosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013;32(11):1409-1415.
27. Yu G, Zhong F, Ye B, Xu X, Chen D, Shen Y. Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for lymph node tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. Biomed Res Int. 2019;2019:1-12.
28. Mechal, Y., Benaissa, E., El mrimar, N., Benlahlou, Y., Bssaibis, F., Zegmout, A., Chadli, M., Malik, Y., Touil, N., Abid, A., Maleb, A. and Elouennass, M., 2019. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF system

- performances in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *BMC Infectious Diseases*, 19(1).
29. Li H, He Z, Liang J, Li G, Xie T, Liu Y et al. Evaluation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of lymphatic tuberculosis. *Biomed Res Int*. 2020;2020:1-11.
 30. Van Rie A, Page-Shipp L, Mellet K, Scott L, Mkhwnazi M, Jong E et al. Diagnostic accuracy and effectiveness of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of HIV-associated lymph node tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32(11):1409-1415.
 31. Ablanedo-Terrazas Y, Alvarado-de la Barrera C, Hernández-Juan R, Ruiz-Cruz M, Reyes-Terán G. Xpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous cervical lymphadenitis in HIV-infected patients. *The Laryngoscope*. 2013;124(6):1382-1385.
 32. Garzón M. Carga de la enfermedad. *Revista CES Salud Pública*. 2012;3(2):289-295.
 33. Li S, Liu B, Peng M, Chen M, Yin W, Tang H et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF for tuberculosis detection in different regions with different endemic burden: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*. 2017;12(7):e0180725.
 34. Cohen T, van Helden P, Wilson D, Colijn C, McLaughlin M, Abubakar I et al. Mixed-strain *Mycobacterium tuberculosis* infections and the implications for tuberculosis treatment and control. *Clin Microb Rev*. 2012;25(4):708-719.
 35. Alemu A, Tadesse M, Seid G, Mollalign H, Eshetu K, Sinshaw W et al. Does Xpert® MTB/RIF assay give rifampicin resistance results without identified mutation? Review of cases from Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1).
 36. Li H, He Z, Liang J, Li G, Xie T, Liu Y et al. Evaluation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of lymphatic tuberculosis. *BioMed Res Int*. 2020;2020:1-11.

12. Anexos



HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA
 DR. DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ
 CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
 Rendimiento GeneXpert MTB /RIF para
 tuberculosis ganglionar
 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS



Datos sociodemográficos

Folio: M F NSS

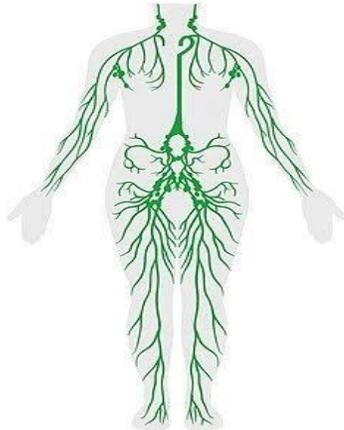
Edad Sexo M F

Comorbilidades

Diabetes Hipertensión Otro

HIV Inmunosupresión

Ubicación de ganglio biopsiado



Fecha de biopsia:

Fecha de baciloscopia:

Resultado de baciloscopia

A)Negativo B)Positivo: + ++ +++

Resultado de GeneXpert

No reactivo

Reactivo bajo

Reactivo moderado

Reactivo alto

Resistencia a rifampicina

No reactivo Reactivo

Resultado de cultivo Lowenstein: A) Sin desarrollo B) Con desarrollo fecha:

Resultado de cultivo MGIT: A) Sin desarrollo B) Con desarrollo, fecha:

Complejo Tuberculosis No complejo Tuberculosis

Nombre: Nombre:

Tabla 1. Características basales de 138 casos de linfadenitis estudiados en el HICMNR del 2016 al 2019.

	n (%)
Edad en años, (RIC)*	33 (27-45)
Sexos	
Masculino	114 (82)
Femenino	24 (18)
Patología subyacente	
Enfermedad por virus de la inmunodeficiencia humana	110 (79.7)
Otras**	8 (5.7)
No mencionada	20 (14.4)
Topografía del ganglio biopsiado	
Cervical	98 (71)
Inguinal	21(15)
Axilar	10 (7.2)
Supraclavicular	4 (2.8)
Otros***	5 (3.6)
Total	138

*RIC: rango intercuartílico. **Artritis reumatoide, EPOC, enfermedad de Still, hipotiroidismo, cáncer de pulmón, histiocitosis de células de Langerhans, espondilitis anquilosante, sífilis.

***Submentoniano, submaxilar, curvatura gástrica, pre aórticos.

Tabla 2. Relación entre la topografía ganglionar y el diagnóstico de infección por *Mycobacterium* del complejo *Tuberculosis* en 138 casos de linfadenitis

Topografía de los ganglios biopsiados	Prueba GeneXpert MTB/RIF Positiva n (%)	Cultivo con desarrollo de <i>Mycobacterium</i> del complejo <i>Tuberculosis</i> n (%)
Cervicales (n=98)	29 (29.5)	24 (24.4)
Inguinales (n=21)	1 (4.7)	3 (14.2)
Axilares (n=10)	5 (50)	5 (50)
Supraclaviculares (n=4)	1 (25)	2 (50)
Otros (n=5)*	3 (60)	3 (60)
Total (n=138)	39 (28.2)	37 (26.8)

Tabla 3. Sensibilidad y Especificidad de la prueba GeneXpert MTB/RIF con respecto al cultivo

Gene Xpert MTB/RIF	Desarrollo en el cultivo		Total
	SI	NO	
SI	31 VP	8 FP	39
NO	6 FN	93 VN	99
Total	37	101	138

VP. Verdadero positivo

FP. Falso positivo

FN. Falso negativo

VN. Verdadero negativo

Sensibilidad = $VP / VP+FN = 31/37 = 0.83$ (IC 95%, 0.7 – 0.95)

Especificidad= $VN / FP+VN = 93/101 = 0.92$ (IC 95%, 0.86 – 0.97)

Valor predictivo positivo= $VP / VP+FP = 31/39 = 0.79$ (IC 95%, 0.66 – 0.92)

Valor predictivo negativo= $VN / FN+VN = 93/99 = 0.93$ (IC 95%, 0.88 – 0.92)

Razón de verosimilitud positiva 10.5

Razón de verosimilitud negativa 0.17