



UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE MEDICINA

*Validez y Confiabilidad de PCR en Tiempo Real para
Diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar, Hospital Efrén
Jurado, Guayaquil, 2012 - 2016*

Trabajo de Investigación, requisito para el Título de

MÉDICO

WALTER RODRIGO MORQUECHO REBOLLEDO

TUTOR

WASHINGTON ALEMAN

CO-TUTORA

MIREYA RODAS

SAMBORONDÓN, AGOSTO 2017

HOJA DE APROBACIÓN DEL TUTOR

Guayaquil, 1 de septiembre del 2017

Yo, Washington Alemán, en calidad de tutor del trabajo de investigación sobre el tema "VALIDEZ Y CONFIABILIDAD DE PCR EN TIEMPO REAL PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR, HOSPITAL EFRÉN JURADO, GUAYAQUIL, 2012 - 2016" presentado por el alumno Walter Morquecho Rebolledo, egresado de la carrera de Medicina,

Certifico que el trabajo ha sido revisado de acuerdo a los lineamientos establecidos y reúnen los criterios científicos y técnicos de un trabajo de investigación científica, así como los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo de Facultad "Enrique Ortega Moreira " de Medicina, de la Universidad de Especialidades Espíritu Santo.

El trabajo fue realizado durante el periodo de febrero de 2016 a septiembre de 2017 en el Hospital Teodoro Maldonado Carbo de la Ciudad de Guayaquil.



Dr. Washington Alemán
Clínico-Infectólogo

DEDICATORIA

Primero a Dios, luego a mi padre, Walter Morquecho, madre (+) Carmen Rebolledo, hermano José Morquecho, mi tía Laura Rebolledo, tíos, abuelos, primos, familia en general, amigos y finalmente a una chica muy especial, Sara Yépez, mi princesita. Con mucho cariño para todos ellos 😊

RECONOCIMIENTO

Agradezco a Dios, a mi familia, amigos, maestros y personas que ayudaron a la realización de un sueño, graduarme de médico. Un agradecimiento muy especial a mi papá, Walter Morquecho por su apoyo incondicional en todo momento, a mi madre (+) Carmen Rebolledo que está en el cielo ya que sin ella no hubiera sido posible, a mi hermano José Morquecho por esas palabras de aliento y su ayuda a toda hora, a mi tía Laura Rebolledo que estuvo constantemente a mi lado en cada paso que daba, a los maestros que me guiaron durante mi formación, al personal que labora en la UEES que contribuyó en el camino al éxito, y a Sarita Yépez una niña muy especial que conquistó mi corazón <3

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	vii
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1	2
1.1 Antecedentes.....	2
1.2 Descripción Del Problema.....	4
1.3 Justificación	6
1.4 Objetivos Generales.....	7
1.5 Objetivos Específicos.....	7
1.6 Hipótesis.....	8
CAPÍTULO 2	9
2.1 Marco Teórico o Conceptual.....	9
2.2 Definiciones Importantes	14
CAPÍTULO 3	18
3.1 Diseño De La Investigación	18
3.2 Población Y Muestra, Criterios De Inclusión Y De Exclusión	19
3.3 Descripción de los Instrumentos, Herramientas y Procedimientos de la Investigación	19
3.4 Aspectos Éticos Y Legales.....	21
CAPÍTULO 4	23
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	23
CAPÍTULO 5	31
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Conceptualización de las variables.....	18
Cuadro 2. Flujograma de base de datos.....	23
Tabla 1. Características Sociodemográficas y Bacteriológicas.....	23
Tabla 2. Validez y Confiabilidad de PCR para TB.....	30

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Figura 1. Frecuencia de casos estratificados por sexo en referencia al año de estudio.....	24
Figura 2. Frecuencia de casos estratificados por tipo de paciente en referencia al año de estudio.....	25
Figura 3. Frecuencia de casos estratificados por cuartiles de edad en referencia al año de estudio.....	26
Figura 4. Frecuencia de casos estratificados por método de diagnóstico en referencia al tipo de paciente.....	27
Figura 5. Frecuencia de casos estratificados por tipo de paciente en referencia a los cuartiles de edad.....	28
Figura 6. Frecuencia de casos que mostraron sensibilidad a la rifampicina en referencia a los cuartiles de edad.....	29

RESUMEN

El presente trabajo de investigación busca determinar la validez y confiabilidad de la PCR en Tiempo Real para Tuberculosis en muestras de esputo en pacientes del DOTS del Hospital Efrén Jurado del 2012-2016. En Guayaquil, Ecuador se tiene centralizado el uso de laboratorios con capacidad para PCR y no se siguen los protocolos establecidos en las Guías de Tuberculosis del MSP del 2016. Esto lleva a un retraso en el inicio del tratamiento de los pacientes afectos, tratar innecesariamente y no tratar a los que deben ser tratados. El uso de PCR como método de rutina junto a la baciloscopía y el cultivo permite mejorar el tiempo desde que llega el paciente a la consulta hasta que se inicia el tratamiento. Además, se puede establecer un perfil de sensibilidad o resistencia a la rifampicina en menor tiempo que con otras técnicas y de esta manera disminuir la tasa de pacientes con cepas multirresistentes. No se pudo obtener un resultado satisfactorio o significativo que permita determinar la validez y confiabilidad de la PCR para detectar TB. Esto es en parte a que no se aplican los protocolos y sólo a ciertos pacientes se le pide PCR y a otros no.

INTRODUCCIÓN

El presente estudio tiene como propósito determinar la validez y sensibilidad de la PCR en Tiempo Real para detección de Tuberculosis. Aportará con información sobre la situación actual de Guayaquil en el apartado de Tuberculosis pulmonar principalmente y el uso de la PCR en estos pacientes. También se evidenciará el seguimiento o no de los protocolos de Tuberculosis establecidos en las Guías del mismo del 2016 por el MSP.

El trabajo se estructurará de la siguiente manera: primero se va a revisar brevemente los antecedentes sobre el uso de esta técnica en el mundo, América Latina y en el Ecuador. Luego se ahondará más en la técnica propuesta por la OMS, el GenXpert como método de PCR en Tiempo Real para detectar *Mycobacterium tuberculosis* en países en vías de desarrollo por su elevada sensibilidad y especificidad.

Por último, se comparará la información obtenida de la investigación con la publicada en la literatura mundial. Se llegarán a conclusiones sobre la realidad actual de la ciudad, que puede bien ser un reflejo de lo que pasa en el país y se harán recomendaciones para que mejore o cambie para bien esta realidad.

CAPÍTULO 1

1.1 Antecedentes

Desde el desarrollo de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR en inglés) a principios de los 80s, los diagnósticos moleculares han tenido un gran impacto en la medicina clínica (1). La PCR es el Método de Amplificación de Ácidos Nucleicos (NAATs en inglés) más común (2). Los NAATs son sistemas moleculares que pueden detectar pequeñas cantidades de material genético del Mycobacterium al amplificar repetidamente secuencias objetivo. Hay muchos tipos de PCR, unos más sensibles y específicos que otros. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2011 aprobó el GenXpert (GX), PCR en Tiempo Real, para el diagnóstico de Tuberculosis (TB) y susceptibilidad a Rifampicina (3). El mismo que fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en los Estados Unidos de América (USA en inglés) en febrero del 2015 para ser usado en lugar de frotis seriados ácido alcohol resistentes para ayudar en la decisión respecto a la continuación del aislamiento de la infección transmitida por el aire para pacientes con sospecha de TB (4). El GX es usado en el Ecuador como método diagnóstico de TB, tal como lo indica la Guía de Práctica Clínica (GPC) para la prevención, diagnóstico, tratamiento y control de la TB del 2016 del Ministerio de Salud Pública (MSP) del Ecuador (5). Los NAATs que están disponibles comercialmente incluyen GX, Prueba Amplicor Mycobacterium TB, Prueba

directa amplificada de Mycobacterium TB y las pruebas BDProbeTec y BDProbeTec ET (2).

La sensibilidad y especificidad de la PCR para la detección de TB pulmonar se ha establecido en múltiples estudios, con porcentajes similares al cultivo (Gold Standard o patrón oro), tomando como referencia para la comparación a este último (2,3,6–17). Hay que destacar que las indicaciones para el uso PCR como método diagnóstico varía de acuerdo a la población objetivo. Por ejemplo, en niños y adolescentes (< 15 años) las GPC del MSP del Ecuador indican que se recomienda usar la PCR en Tiempo Real como primera prueba diagnóstica, además del cultivo y baciloscopía en aquellos que se sospecha TB pulmonar, multidrogorresistente y/o asociada a VIH (5). Indicación que está avalada por variados estudios (2,3,18–23). Mientras que en adultos las GPC del MSP del Ecuador indican que el diagnóstico de TB se debe hacer con baciloscopía y/o cultivo de esputo en población de riesgo, y en población de riesgo (personas que viven con VIH, niños, personas privadas de la libertad, contactos con TB drogorresistente, personal de salud, casos antes tratados, inmunocomprometidos, comorbilidad) se deben realizar otras pruebas como PCR en Tiempo Real (5). Estas recomendaciones para adultos están en concordancia con el manual de implementación de PCR de la OMS (1).

Se han realizado una serie de estudios comparando la validez y confiabilidad diagnóstica entre diferentes métodos moleculares de amplificación de ácidos nucleicos, unos indican una clara ventaja a favor del GX propuesto por la OMS, como se observa en este estudio en el que se comparó dos métodos moleculares (GX y ProbTec) para la detección temprana de Mycobacterium tuberculosis en muestras pulmonares y extrapulmonares en

Kuwait, de 9594 muestras pulmonares, el GX tuvo una sensibilidad del 90.1% y una especificidad del 99.7%, el ProbTec obtuvo 86% y 99.6% respectivamente, mostrando superior al GX (7). En este otro estudio, Mientras que otros muestran alternativas más eficaces en determinadas circunstancias, por ejemplo, en una revisión sistemática se comparó al GX con LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification) y Pruebas de Amplificación Simultánea (SAL en inglés) y se evidenció que en 25 estudios, la sensibilidad y especificidad general para el diagnóstico de TB pulmonar fue de 93% y 94% para LAMP, 96% y 88% para SAT y 89% y 98% para GX (si bien las 3 pruebas tuvieron altos niveles de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de TB, LAMP tuvo la más alta sensibilidad para el diagnóstico de TB pulmonar con frotis positivo) (17). Hay estudios que inclusive sugieren la introducción del GX como reemplazo del frotis microscópico para un manejo más rápido y preciso del riesgo de transmisión de los pacientes con TB en países con baja prevalencia (10).

El PCR se puede realizar en diferentes muestras pulmonares, siendo la expulsión espontánea de esputo la mejor muestra, como se observa en un estudio en el que los índices de positividad fueron calculados para muestras de esputo expectorado, esputo inducido y lavado broncoalveolar (BAL en inglés); los hallazgos para esputo expectorado fueron cultivado positivamente y tuvieron baciloscopía positiva en el 55% de los casos, 38% para esputo inducido y 26% para BAL (2).

1.2 Descripción Del Problema

En el Ecuador los métodos diagnósticos moleculares están centralizados, específicamente en Guayaquil, el Ministerio de Salud Pública,

ente rector en salud del país, es el único sitio que realiza PCR en Tiempo Real (GenExpert) para Tuberculosis (TB). Si bien la TB en el Ecuador es endémica, el hecho de usar la clínica más la baciloscopía positiva para empezar a tratar TB, incluye dar tratamiento a etiologías diferentes al Mycobacterium tuberculosis como la Nocardiosis u otros Mycobacteriums no tuberculosos. El tiempo prolongado en el que se da un diagnóstico definitivo es el principal problema que lleva a un aumento de las cifras de fracaso terapéutico. Ya que, al no aplicarse en la primera muestra de esputo recolectada, la baciloscopía, cultivo y PCR, sino sólo baciloscopía en todos y cultivo en algunos e iniciar tratamiento ante la sospecha clínica, se estaría tratando inútilmente a las etiologías diferentes al Mycobacterium tuberculosis (Mtb), gastando recursos innecesariamente y exponiendo al paciente a toxicidad.

En cambio, si se aplicara inicialmente la baciloscopía, cultivo y PCR en Tiempo Real en la misma muestra de esputo como lo indica la Asociación de Laboratorios de Salud Pública (APHL en inglés) (24), se podría llegar a un diagnóstico rápido, sensible y específico, así como también se podría determinar la resistencia a fármacos esenciales como la Rifampicina. Todo esto permitiría un diagnóstico temprano que es la clave en el éxito del tratamiento del paciente con TB. El cultivo requiere 2-8 semanas dependiendo si se usa la técnica sólida o líquida, siendo más rápida esta última, sin embargo, el GenExpert puede dar un diagnóstico en 2 días con sensibilidad y especificidad similar al cultivo (2), un laboratorio de 4to nivel de seguridad, toda una infraestructura de alta bioseguridad e implica riesgo laboral elevado. El hecho de recoger todo un día las muestras de los distintos pacientes, luego prepararlas para su traslado para realizar el cultivo y análisis molecular en el Hospital Neumológico Valenzuela implica un elevado riesgo de deterioro de muestras con el consecuente retraso en el diagnóstico.

El GenExpert se debería usar rutinariamente, en al menos 1 de las muestras de esputo (preferible la primera de la mañana), en los pacientes con sospecha de TB junto con la baciloscopía y el cultivo, como lo recomiendan las Guías Actualizadas para el uso de pruebas de amplificación de ácidos nucleicos en el diagnóstico de Tuberculosis del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC en inglés) de los Estados Unidos de América (USA en inglés) (25), en unidades de atención primaria y secundaria para mejorar la lucha contra la tuberculosis, ya que además de todos los beneficios antes mencionados, 1 kit de PCR permite trabajar con múltiples muestras simultáneamente, disminuye el riesgo laboral al que están expuestos los trabajadores de la salud, puede hacer un diagnóstico de Tuberculosis paucibacilar que la baciloscopía no, permite detectar rápidamente mutaciones asociadas a la resistencia de drogas (26). Realmente, si se toman en cuenta todos estos aspectos, el mayor costo inicial de implementar métodos de diagnóstico moleculares en los servicios de atención primaria y secundaria de salud, se compensan en gran medida a corto, mediano y largo plazo por la rapidez con la que se llegaría al diagnóstico, el menor coste por menor fracaso terapéutico y la menor tasa de seguimiento innecesario de contactos de pacientes sin TB.

1.3 Justificación

La muestra del estudio se tomará del DOTS del Hospital del Día Efrén Jurado, en parte debido a la gran afluencia de pacientes con TB. Por otro lado, también se tomó en cuenta este lugar por la facilidad para la obtención de las muestras, ya que en el Hospital Neumológico Valenzuela del Ministerio de Salud Pública (MSP) es muy compleja la obtención de información para la realización del estudio (afirmación dada por las autoridades del Hospital mismo). Se debe recalcar que en Guayaquil, sólo hay 3 lugares que tienen la

capacidad de DOTS (sitio autorizado por el MSP que cumple con ciertos requisitos para la administración del tratamiento y correspondiente seguimiento de los pacientes con TB), de estos 3 lugares; 1 es el Hospital Neumológico Valenzuela que por razones de logística antes explicadas, no calificó para la obtención de muestras; el segundo es el DOTS del Hospital Luís Vernaza, que actualmente registra tan solo 2 pacientes (por casuística también fue descartada la toma de muestras en dicho lugar); y por último, el DOTS del Hospital Efrén Jurado, que cumple con las normas y tiene registros suficientes para poder realizar el estudio. Se debe mencionar que la Maternidad era el cuarto sitio donde había un DOTS, pero que actualmente no funciona más. En Ecuador, así como en muchos otros países con TB endémica, los estudios de amplificación de ácidos nucleicos como el PCR en Tiempo Real y su eficacia (GenExpert avalado por la Organización Mundial de la Salud) son escasos (27). La Tuberculosis es un problema de salud pública, especialmente en países de escasos recursos como el Ecuador, es por esto que está dentro de las prioridades en las líneas de investigación del MSP. El presente estudio pretende establecer que la PCR en Tiempo Real muestra patrones de confiabilidad similares a los observados en las técnicas convencionales de baciloscopía y cultivo y de esta forma aportar con base científica para el diagnóstico temprano de TB, aspecto clave en el tratamiento y sobrevida de la misma.

1.4 Objetivos Generales

Determinar la validez y confiabilidad de la PCR en Tiempo Real en pacientes con Tuberculosis Pulmonar

1.5 Objetivos Específicos

- Establecer la frecuencia de pacientes con Tuberculosis Pulmonar mediante métodos convencionales (baciloscopía, cultivo)
- Determinar la presencia de Tuberculosis Pulmonar en pacientes mediante PCR en Tiempo Real
- Determinar los patrones de validez y confiabilidad: Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo de la PCR en Tiempo Real en pacientes seleccionados

1.6 Hipótesis

La PCR en Tiempo Real muestra patrones de validez y confiabilidad similares a los observados en las técnicas convencionales de baciloscopía y cultivo.

CAPÍTULO 2

2.1 Marco Teórico o Conceptual

La TB es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad por enfermedad infecciosa en el mundo, con algunas inseguridades diagnósticas (28). Afecta gravemente a países de bajos o medianos ingresos (29). Según el Reporte Global de TB de la OMS del 2016, la TB está entre las 10 primeras causas de muerte el año pasado, 10.4 millones de personas se enfermaron de TB, esto equivale a 28.500 personas cada día; 1.8 millones murieron de TB incluyendo a 400.000 con TB + VIH, lo que da un promedio de 4.900 personas cada día. El 60% de los casos ocurre sólo en 6 países (China, India, Indonesia, Nigeria, Pakistan y Sudáfrica). El 40% aproximadamente (4.3 millones) no tuvo acceso al tratamiento de calidad para TB. 1 de cada 5 personas que requirió tratamiento para TB multidrogorresistente, la recibió, lo que significa que el 80% de las personas con TB multidrogorresistente no recibe la medicación adecuada. Hay una deficiencia de aproximadamente 3 billones de dólares para la implementación, investigación y desarrollo en la financiación de la lucha contra la TB (30).

La TB es una enfermedad infecciosa bacteriana crónica transmisible producida por el Mycobacterium TB (también conocido como Bacilo de Koch). La historia de la enfermedad progresa desde la exposición, infección primaria, y aquí puede: quedar latente, progresar a la forma activa e incluso causar la muerte. El complejo del Mycobacterium TB está compuesto por muchas bacterias, pero los más importantes en salud pública son el Mycobacterium TB

y el *Mycobacterium bovis* en segundo lugar. El reservorio más peligroso es el ser humano con infección latente porque se encuentra asintomático y cuando sufre una disminución de sus defensas, el bacilo puede reactivarse y llevar a la forma activa transmisible. La forma de TB más contagiosa es la pulmonar, en su forma cavitaria o con baciloscopía positiva aún más transmisible. Por otro lado, el *Mycobacterium bovis* tiene como reservorio el ganado mamífero, pero su capacidad de contener bacilos y por ende de transmitir enfermedad al humano es bastante baja (5).

La TB se clasifica en 2 grandes grupos: pulmonar y extrapulmonar. La pulmonar se divide en parenquimatosa, endobronquial y intratorácica linfonodular. La extrapulmonar a su vez se divide en TB pleural, miliar, extratorácica linfonodular, del SNC, espinal, pericárdica, otras (artrítica, gastrointestinal, urogenital, laríngea, entre otras) (31). La vía de transmisión más importante es la aérea por microgotas que se pasan de persona a persona. Existen otras vías de transmisión como la leche no pasteurizada que puede contener el bacilo. En general, las formas extrapulmonares de la TB se consideran no transmisibles a excepción de la laríngea. Luego de 2 a 10 semanas después de la infección aparece evidencia radiográfica y la prueba de la Tuberculina se vuelve positiva. Los linfocitos pueden generar respuesta que puede llevar a granulomas con bacilos latentes, este granuloma se puede calcificar y verse en la radiografía. Todo esto lleva al conocido complejo de Gohn, en el que debe haber una lesión residual vista en radiografía más un ganglio parahiliar calcificado (5). Hay muchos factores de riesgo que llevan de infección a enfermedad activa, entre los más importantes están: exposición reciente con una persona con TB infecciosa, historia de una prueba positiva para TB, infección por VIH, usuario de drogas inyectables o no, nacimiento en un país con TB endémica o inmigración menor o igual a 5 años, residentes o empleados con alto riesgo de hacinamiento, miembro de una población médica

de bajos recursos, o un factor de riesgo médico para TB (diabetes mellitus, corticoterapia prolongada, tratamiento inmunosupresor, enfermedad renal crónica, ciertos cánceres hematológicos o carcinomas, peso >10 % debajo del peso ideal, silicosis, gastrectomía o bypass yeyunoileal) (32).

Si bien las GPC del MSP del Ecuador para el diagnóstico de TB recomiendan baciloscopía y cultivo (2 muestras de esputo, incluyendo uno de la mañana, concentrado, no saliva) en términos generales (5), el número de muestras de esputo difiere de lo que aconseja el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de USA (CDC en inglés) y la Asociación Nacional para el Control de la TB que es 3 muestras de esputo (28). Aunque, una adecuada muestra de esputo de 5ml o más, es uno de los factores que puede mejorar el rendimiento positivo del cultivo o la microscopía (2), se ha evidenciado que hasta un mínimo de 3 ml es aceptable (28). Las muestras de esputo se las prepara realizando un frotis en una placa portaobjeto y se le aplica una tinción. Hay muchas disponibles, pero las más comunes son Ziehl-Neelsen, fluorocromo de auramina-rhodamina y Kinyoun. Las tinciones fluorescentes son consideradas las más sensitivas. La microscopía indica la presencia de un bacilo ácido alcohol resistente, pero no siempre indica viabilidad de los organismos o que el organismo es *Mycobacterium tuberculosis* (2). La sensibilidad de la baciloscopía va de 20%-60%, la microscopía por fluorescencia mejora la sensibilidad en un 10% adicional (26). Desde un punto de vista de salud pública y clínico práctico, un paciente con TB puede ser clasificado en TB latente (asintomático y no transmisible) o activo (transmisible) en el que se pueden usar métodos moleculares o de cultivo para el diagnóstico (29). Según las GPC del MSP del Ecuador los criterios clínicos para sospecha de TB son tos productiva por más de 15 días, fiebre, sudoración nocturna, pérdida del apetito, baja de peso, dolor torácico, astenia y en casos más graves hay hemoptisis (5).

La elección de una técnica diagnóstica sobre otra depende del objetivo que se persiga (detección de infección latente, activa o resistencia a drogas). De esta forma, 2 pruebas se pueden usar para la detección de enfermedad latente que son las Pruebas de la Tuberculina en Piel que suele seguir la Técnica de Mantoux que inyecta Derivados Proteínicos Purificados de TB, PPD, (TSTs en inglés) y el Ensayo Liberador de Interferón Gamma (IGRA en inglés). El IGRA puede diferenciar entre una respuesta positiva al TST inducida por BCG o inducida por una infección por Mycobacterium TB. Aun cuando el TST tiene muchas ventajas en países de bajos recursos (bajo costo del reactivo y del equipamiento, requerimientos limitados de laboratorio y de experiencia del personal), tiene 2 limitaciones principales; primero, la especificidad está comprometida por la vacunación tarde en la infancia o repetidas con la BCG (Bacilo de Calmette Guerin) y en menor medida por la exposición a mycobacterias no tuberculosas; segundo, tiene un valor predictivo limitado, la mayoría de pacientes con TST positivos no progresan a enfermedad TB activa (29). Actualmente, se están dirigiendo los esfuerzos para desarrollar nuevas pruebas en piel que reemplacen a la PPD con antígenos RD1 más específicos (33).

El diagnóstico se puede realizar de manera ambulatoria, a menos que hayan circunstancias que lo impidan, en cuyo caso la hospitalización con aislamiento de la infección transmitida por el aire es lo recomendado (4). El acercamiento diagnóstico de TB debe incluir la clínica, hallazgos radiográficos, factores epidemiológicos e historia de infección o enfermedad por TB previa. Si la sospecha diagnóstica es alta, se debe empezar tratamiento aun cuando la confirmación de laboratorio no esté disponible aún, como se indica en las GPC del MSP del Ecuador, el médico puede empezar tratamiento con diagnóstico clínico (5).

El cultivo es el Gold Standard para el diagnóstico de TB, sin embargo, aunque es el más sensible de las pruebas disponibles, con el beneficio añadido de que también permite pruebas de sensibilidad a las drogas, no es un patrón perfecto. Demora de 2 a 8 semanas el aislamiento del *Mycobacterium tuberculosis* y en el 10 al 20% de los casos el bacilo no puede ser cultivado exitosamente. Los medios usados más comúnmente incluyen los basados en huevo como el Löwenstein-Jensen y el Ogawa, y los basados en agar como el Middlebrook 7H9, 7H10 y 7H11. El tiempo para la detección del *Mycobacterium* puede ser acortado con el uso de sistemas líquidos automatizados o semiautomatizados. Se han desarrollado sistemas que funcionan con el crecimiento no radiométrico. Estos incluyen el sistema MycoBacT y el BACTEC MGIT 960. Los mismos que miden los cambios en la producción de dióxido de carbono o el consumo de oxígeno fluorométricamente o colorimétricamente, permitiendo el monitoreo continuo del cultivo (2).

Los NAATs puede ser usado para el diagnóstico rápido de un microorganismo que pertenece al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (24-48 horas) en quienes la sospecha de TB es moderada a alta (34). Los NAATs tienen excelente valor predictivo positivo en muestras de baciloscopía positiva para diferenciar entre *Mycobacterium TB* y otras *Mycobacterias* no tuberculosas (> 95%). Por otro lado, también pueden establecer la presencia de TB en el 50-80% de muestras de baciloscopía negativa que eventualmente se harán cultivo positivo. Sin embargo, los NAATs aún no reemplazan la baciloscopía rutinaria y el cultivo de los algoritmos para el diagnóstico de TB. Cargas bacterianas tan bajas como 1-10 organismos por mL pueden dar un resultado positivo. La sensibilidad y especificidad de los métodos de amplificación están entre el 95% y 98% respectivamente para las baciloscopías positivas y entre 75-88% y 95% para las baciloscopías

negativas. Un resultado positivo de NAAT apoya el diagnóstico de TB en apropiadas circunstancias epidemiológicas y clínicas, una baciloscopía positiva y un NAAT positivo es suficiente para el diagnóstico (25).

Para una óptima interpretación de los resultados del GX, se debería hacer baciloscopía y cultivo en la misma muestra, pero si esto no es posible, se debe recolectar una muestra adicional para hacer baciloscopía y cultivo (24). En países con alta incidencia de TB, hay poca información sobre la eficacia de ensayos moleculares comerciales desarrollados localmente; en Brasil, un estudio multicéntrico evaluó la eficacia de Detect-TB en 3 laboratorios, de un total de 302 muestras de esputo de pacientes con sospecha de TB, comparado con el cultivo, la sensibilidad y especificidad del Detect-TB fue de 85.6% y 93.1% respectivamente. Esto sugiere que se pueden usar rutinariamente estas pruebas en laboratorios de referencia (27). Desde el 2010 al menos 85 publicaciones de investigación revisada por pares ha sido publicada sobre el uso de GX para diagnosticar TB pulmonar, extrapulmonar o pediátrica (35).

2.2 Definiciones Importantes

Validez: es la capacidad de un instrumento para medir la variable que se propone medir (se compara con el Gold Standard). Se determina mediante el cálculo de la Sensibilidad y Especificidad de una prueba.

Confiabilidad: es la capacidad de un instrumento para proporcionar la misma medición en momentos diferentes. Nos informa de la precisión de un

instrumento. Se determina mediante el cálculo de los Valores Predictivos Positivo y Negativo. Está afectado por la prevalencia de la enfermedad.

Según las GPC del MSP para TB del 2016 (5):

Caso de TB: persona a la que se diagnostica TB, con o sin confirmación bacteriológica, y a quien se indica e inicia tratamiento antituberculosis.

Caso probable de TB: persona que presenta síntomas o signos sugestivos de TB. Incluye a los sintomáticos respiratorios.

Infección tuberculosa latente: estado de respuesta inmunitaria persistente a antígenos de *M. tuberculosis* adquiridos con anterioridad que no se acompaña de manifestaciones clínicas de TB activa.

Resistencia a drogas primaria o inicial: cuando una persona ha sido infectada de TB con una cepa resistente a drogas confirmada. Este afectado no debe tener historia de tratamiento previo o que la haya recibido menos de un mes. La vía de transmisión es la misma que en TB sensible. Este riesgo aumenta en comunidades con alta prevalencia de TB DR.

Resistencia a drogas secundaria o adquirida: esta es el resultado del inadecuado, incompleto o pobre tratamiento administrado a un afectado con TB, que selecciona cepas mutantes con resistencia a drogas comprobada.

Reinfección: afectado que termina el tratamiento de TB y que vuelve a infectarse con otra cepa. La confirmación de una cepa de M. tuberculosis viable se realiza mediante el cultivo y la tipificación a partir de este.

Caso de TB bacteriológicamente confirmado: persona que tenga una muestra biológica positiva a M. tuberculosis, sea esta por baciloscopia, cultivo, nuevos métodos diagnósticos avalados por la OMS (PCR en tiempo real) o cualquier otro método aprobado por el MSP. Todos estos casos deben ser notificados, independientemente de su inicio de tratamiento.

Caso de TB clínicamente diagnosticado: toda persona con diagnóstico de TB que no cumple con los criterios de confirmación bacteriológica pero fue diagnosticada como TB activa por un médico que ha decidido prescribir un esquema de tratamiento completo.

Esta definición incluye a los casos diagnosticados sobre la base de rayos X o histología sugestiva, y casos extrapulmonares sin confirmación de laboratorio. Si estos casos clínicamente diagnosticados posteriormente resultan ser bacteriológicamente positivos (antes o después de iniciar tratamiento), deben ser reclasificados como bacteriológicamente confirmados.

Caso de TB pulmonar (TBP): se refiere a cualquier persona con TB confirmada bacteriológicamente o diagnosticada clínicamente de TB, que implica afectación del parénquima pulmonar o árbol traqueo-bronquial. La TB miliar también se considera como TBP porque hay lesiones en los pulmones.

No se consideran casos de TBP a las linfadenopatías, TB intratorácicas (mediastínicas y/o hiliares) o derrame pleural TB, sin que exista alteración pulmonar.

Si existiera un caso de TB con localización pulmonar y extrapulmonar simultáneamente, debe clasificarse como TBP.

Caso nuevo: persona con diagnóstico de TB pulmonar o extrapulmonar que nunca recibió tratamiento anti TB o lo recibió por menos de un mes.

Afectado con TB y VIH (coinfección TB/VIH): se refiere a cualquier caso bacteriológicamente confirmado o clínicamente diagnosticado de TB y que tiene un resultado positivo de la prueba del VIH realizado al momento del diagnóstico de TB u otra evidencia documentada de inscripción en la atención de VIH, tales como la inscripción en el registro de pre TARV o en el registro de TARV una vez que este ha iniciado.

Multidrogorresistencia (MDR): resistencia demostrada simultánea a H y R. Extensamente resistente (XDR): caso con MDR y además resistencia a cualquier fluoroquinolona de última generación y al menos a uno de los tres medicamentos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina o amikacina).

Resistencia a rifampicina (RR): resistencia demostrada a R utilizando métodos fenotípicos o genotípicos, con o sin resistencia a otros medicamentos anti TB. Incluye cualquier resistencia a R, ya sea monorresistencia, MDR, polirresistencia o XDR; por tanto, forma parte de las cuatro definiciones anteriores.

CAPÍTULO 3

3.1 Diseño De La Investigación

-Tipo de investigación

Observacional, descriptiva, comparativa, retrospectiva

-Alcance

60 meses (1/1/2012 - 31/12/2016), Pacientes del DOTS del Hospital del Día Efrén Jurado en Guayaquil, Ecuador

-Lugar

DOTS del Hospital del Día Efrén Jurado en Guayaquil, Ecuador

-Matriz de operacionalización de las variables

Cuadro 1. Conceptualización de las variables

Variable	Tipo de variable	Subtipo de variables	Definición operacional	Indicador	Unidad o categoría	Escala
Año de tratamiento	Categórica	Multinomial	Año de ingreso del paciente	Historia clínica	2012, 2013, 2104, 2015, 2016	Nominal
Edad	Numérica	Discreta	Tiempo de vida en años	Historia clínica	No aplica	Razón
Cuartiles de edad	Categórica	Multinomial	Edad agrupada en cuartiles	Historia clínica	Cuartiles	Nominal
Sexo	Categórica	Dicotómica	Sexo al nacer	Historia clínica	Masculino Femenino	Nominal
Tipo de paciente	Categórica	Dicotómica	Estado de ingreso del paciente	Historia clínica	Nuevo paciente Re-caída	Nominal

Baciloscopía 1 - 2	Categoría	Dicotómica	Positividad a la baciloscopía	Historia clínica	Sí No	Nominal
Diagnóstico microbiológico de TB	Categoría	Dicotómica	Cumple criterios para TB por medio de parámetros microbiológicos	Historia clínica	Sí No	Nominal
Cultivo TB	Categoría	Dicotómica	Aislamiento del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en cultivo	Historia clínica	Sí No	Nominal
PCR	Categoría	Dicotómica	Positividad a material genético del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Historia clínica	Sí No	Nominal
Sensibilidad a Rifampicina	Categoría	Dicotómica	Resultado del antibiograma con sensibilidad al fármaco anti tuberculoso Rifampicina	Historia clínica	Sí No	Nominal

3.2 Población Y Muestra, Criterios De Inclusión Y De Exclusión

Población o Universo

- Todos los pacientes con Tuberculosis Pulmonar del 2012-2016

Muestra:

- Criterios de Inclusión:
 1. Pacientes con TB según cultivo
 2. Rango de edad de 18 años o mayores
- Criterios de Exclusión:
 1. No contar con PCR en Tiempo Real
 2. No contar con baciloscopía
 3. TB diferente a pulmonar

3.3 Descripción de los Instrumentos, Herramientas y Procedimientos de la Investigación

-Instrumentos

Registros de exámenes de baciloscopía, cultivo y PCR en Tiempo Real (GenExpert) de los pacientes del DOTS del Hospital del Día Efrén Jurado.

Registros de historias clínicas de las bases de datos de la computadora del DOTS del Hospital del Día Efrén Jurado

-Herramientas

Programa de Microsoft Excel, Paquete de datos estadísticos SPSS, Programa S400 (IESS-Hospital del Día Efrén Jurado)

-Procedimientos de la Investigación:

Se recogerá información sobre los resultados de las pruebas de diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar (Baciloscopía, Cultivo, PCR en Tiempo Real) hechas a los pacientes que acuden al DOTS (por sus siglas en inglés o TAES en español, significa Tratamiento Antituberculoso bajo Estricta Supervisión) del Hospital del Día Efrén Jurado en el período de enero de 2012 a diciembre de 2016. Las muestras para estos estudios son esputo y lavado broncoalveolar. Se determinará la validez y confiabilidad (Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo) de la PCR en Tiempo Real con el cultivo (prueba de oro o gold standard).

Los datos serán tabulados en Microsoft Excel y se analizarán con el paquete de datos estadístico de las ciencias sociales (SPSS) y se mostrarán como tablas de 2 x 2 relacionando los resultados del Cultivo y la PCR en Tiempo Real (GenExpert) para Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo.

Los recursos que se usarán son: transporte (carro del propio estudiante), registros de bases de datos de resultados de exámenes

de baciloscopía, cultivo y PCR en Tiempo Real que fueron hechos a los pacientes con sospecha de TB que asisten al DOTS y que fueron costeados por el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) debido a una afiliación al mismo. Registros de bases de datos de historias clínicas de los mismos pacientes antes mencionados. Uso de computadora del DOTS del Hospital del Día Efrén Jurado que no tiene costo alguno.

El tiempo empleado para recolectar la información será de 6 meses desde noviembre de 2016 hasta abril de 2017. Se irá por la tarde, después de la asistencial (16h30 aproximadamente), 1 hora cada día. En mayo de 2017 se empezará a tabular la información obtenida en Excel y se dedicará 1 hora diaria por 15 días. Posteriormente, se realizará el análisis estadístico con el programa SPSS para la obtención de la eficacia de la PCR en Tiempo Real, lo que tomará 7 días. Por último, se procederá a actualizar la tesis con los datos obtenidos del estudio y se realizará la respectiva discusión y correcciones requeridas en un plazo de 30 días a 1 hora por día. Se usa las Normas Vancouver para las referencias bibliográficas y citas. El proyecto se espera que esté terminado para finales de junio, con un margen de error de más o menos 7 días.

3.4 Aspectos Éticos Y Legales

En cumplimiento con la normativa vigente, la información que se recaba de las bases de datos del IESS - Hospital del Día Efrén Jurado contenida en el programa S400 tiene autorización de Docencia e Investigación del Hospital. Se mantendrá un margen de Confidencialidad sobre los resultados e información personal de cada paciente, no se revela datos personales de los pacientes que pueda afectar de alguna forma a estos o a sus familias. Cada historia clínica está cifrada por códigos.

La Universidad de Especialidades Espíritu Santo, unidad

educativa que avala este proyecto de investigación ha dado la correspondiente aprobación por medio de Consejo Directivo. El balance riesgo beneficio para los pacientes es positivo, ya que se hace uso de bases de datos del Hospital, sin coste o peligro alguno para el paciente, más que el manejo adecuado de la información de los mismos antes mencionada.

El proceso de obtención del consentimiento informado con el documento de consentimiento informado no es necesario para esta investigación debido a que es un estudio retrospectivo y es información de dominio del Hospital. Tampoco es necesaria la protección de la población vulnerable (aprobación por un comité de ética reconocido por el MSP) ya que no se manejará muestras, sino sólo los resultados de las mismas, tampoco se hará ninguna intervención al paciente que pueda ponerlo en riesgo.

CAPÍTULO 4

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Cuadro 2. Flujograma de la formación de la base de datos

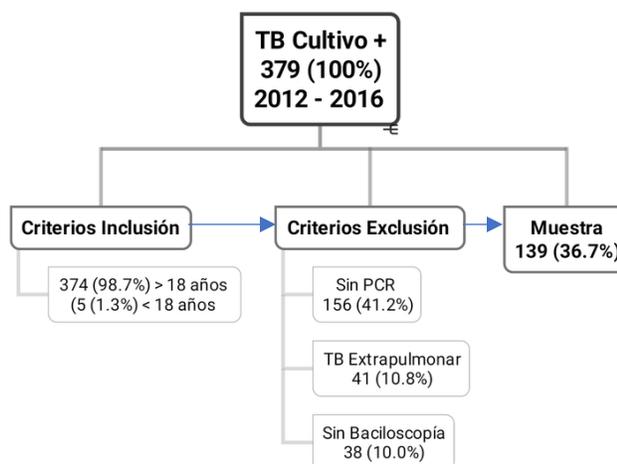
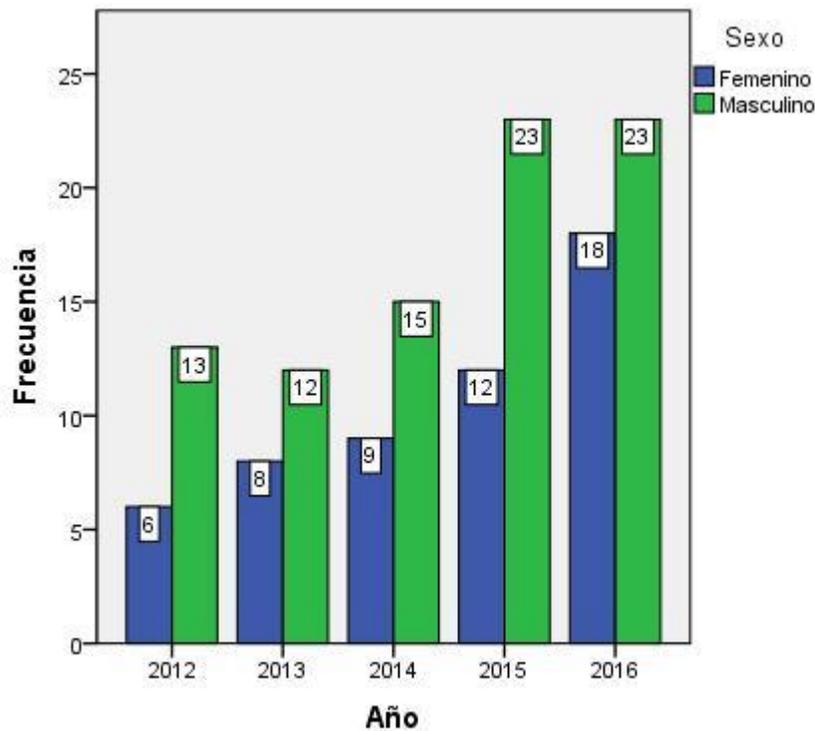


Tabla 1. Características sociodemográficas y bacteriológicas de los 139 pacientes

Características Sociodemográficas y Bacteriológicas				Serie total N= 139 pacientes
Sexo femenino, n (%)				53 (38)
Edad (años), media ± DE				42,4 ±17,9
Tipo de paciente, n (%)				
Nuevo ingreso				125 (90)
Re-ingreso				14 (10)
Diagnóstico microbiológico, n (%)	TB por baciloscopia positiva n=99 (71)	Baciloscopia 1 n= 96 (97)	Positivo	84 (87,5)
		Baciloscopia 2 n= 80 (80,8)	Negativo	12 (12,5)
	Diagnóstico no confirmado por baciloscopia n=40 (28,7)	Baciloscopia 1 n=36 (90)	Positivo	67 (83,3)
		Baciloscopia 2 n=32 (80)	Negativo	13 (16,3)
		Baciloscopia 1 n=36 (90)	Positivo	0
		Baciloscopia 2 n=32 (80)	Negativo	36 (100)
Cultivo positivo, n (%)				87 (62,6)
PCR positivo, n (%)				100 (71,9)
Resistencia a la rifampicina, n (%)*				10 (10)

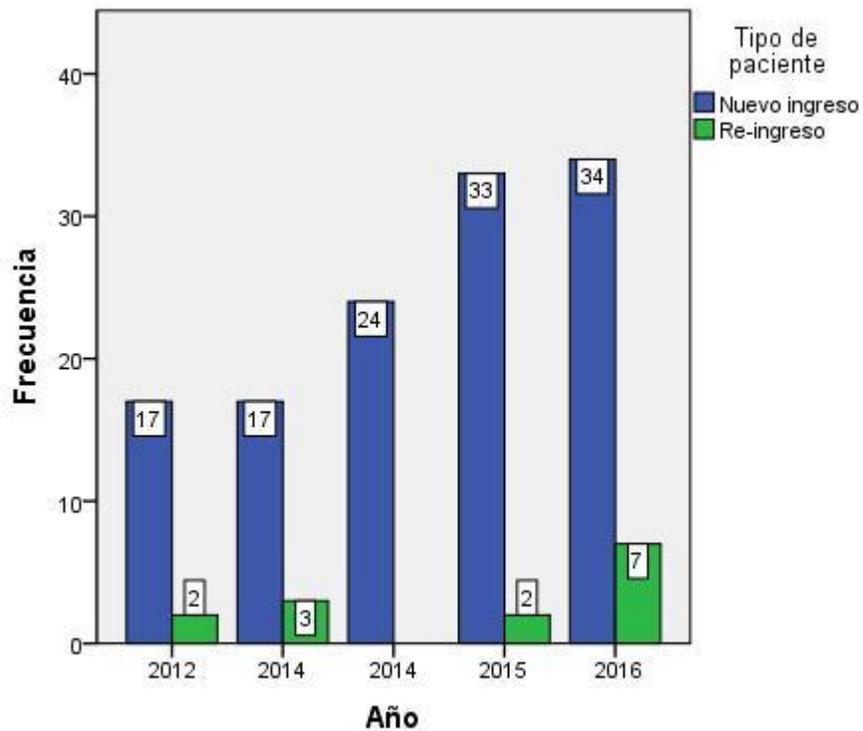
*Porcentajes obtenidos a partir de 100 pacientes quienes contaban con sensibilidad a rifampicina

Figura 1. Frecuencia de casos estratificados por sexo en referencia al año de estudio.



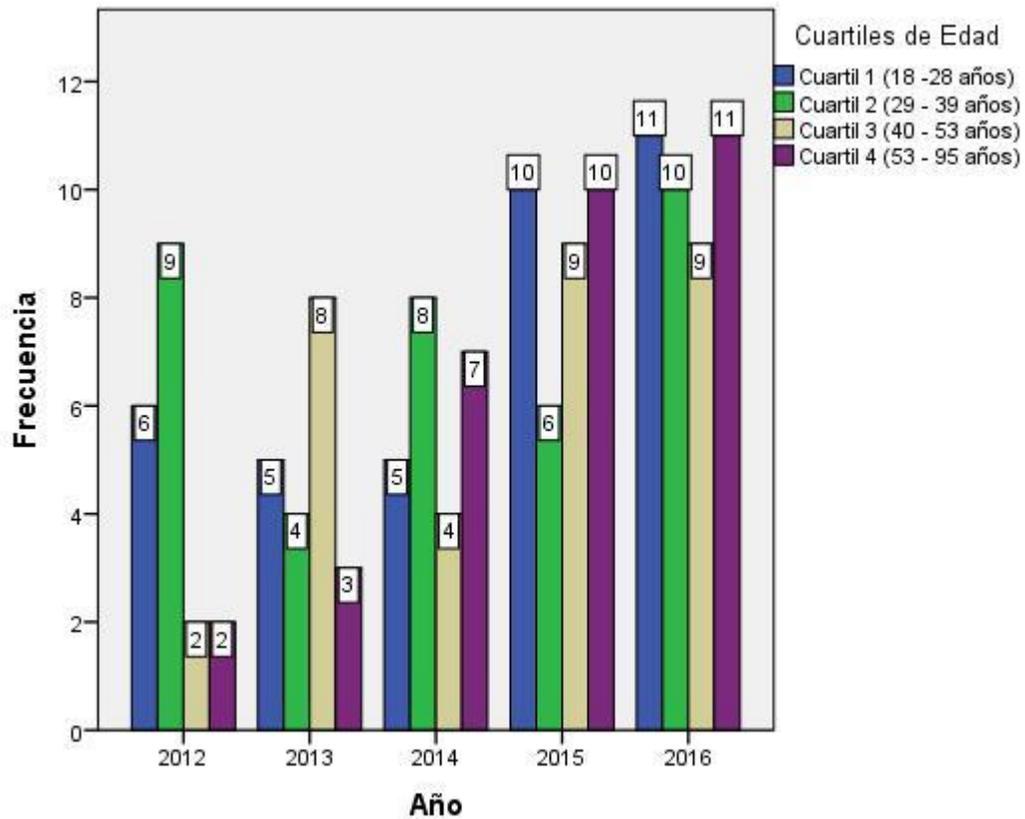
Como se puede apreciar en el gráfico 1, la frecuencia de casos de TB pulmonar es mayor en hombres, lo que concuerda con la estadística mundial. Lo que también se puede destacar es que a medida que pasan los años, cada vez hay más casos de TB pulmonar tanto en varones como en mujeres. Esto sucede en países en vías de desarrollo y nuestro país no es la excepción, mientras que países desarrollados, es todo lo contrario, cada vez hay menos casos(3,8,9,11,26,30,32,35).

Figura 2. Frecuencia de casos estratificados por tipo de paciente en referencia al año de estudio.



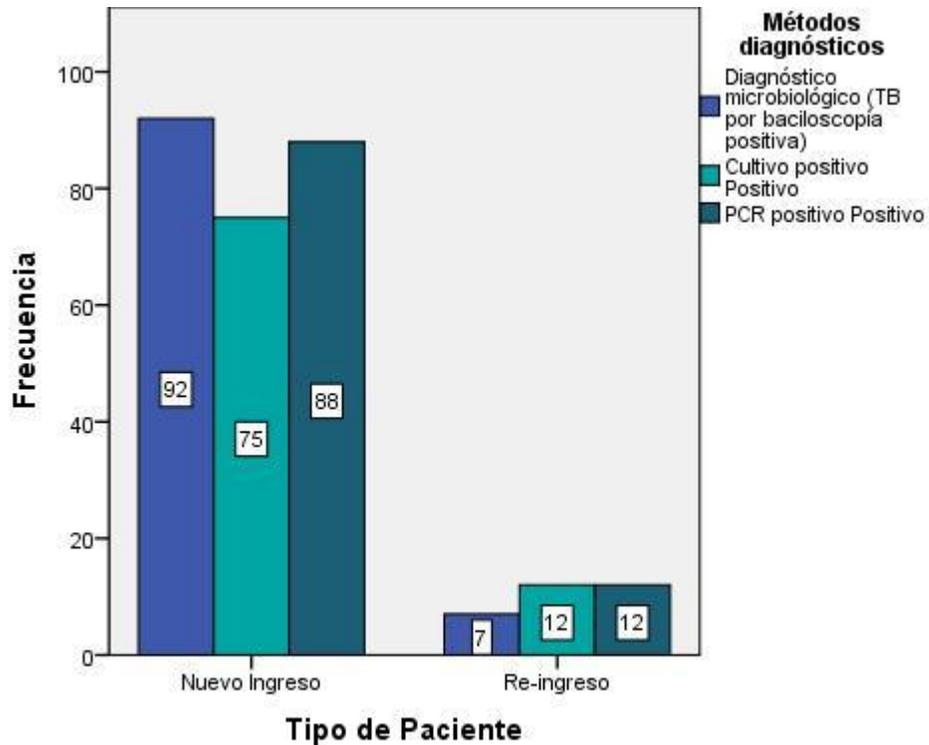
En este otro gráfico, lo que se puede notar es que el tipo de paciente que hay más es el nuevo ingreso, es decir, un paciente con reciente diagnóstico de TB pulmonar y que estas cifras van en aumento año a año. Por otro lado, la frecuencia de pacientes con re-ingresos o recaídas se mantuvo estable los últimos años, a excepción del 2016, año en el que se elevó el número considerablemente. Todo esto va de la mano de lo que pasa en el mundo(1,2,25,30,35).

Figura 3. Frecuencia de casos estratificados por cuartiles de edad en referencia al año de estudio.



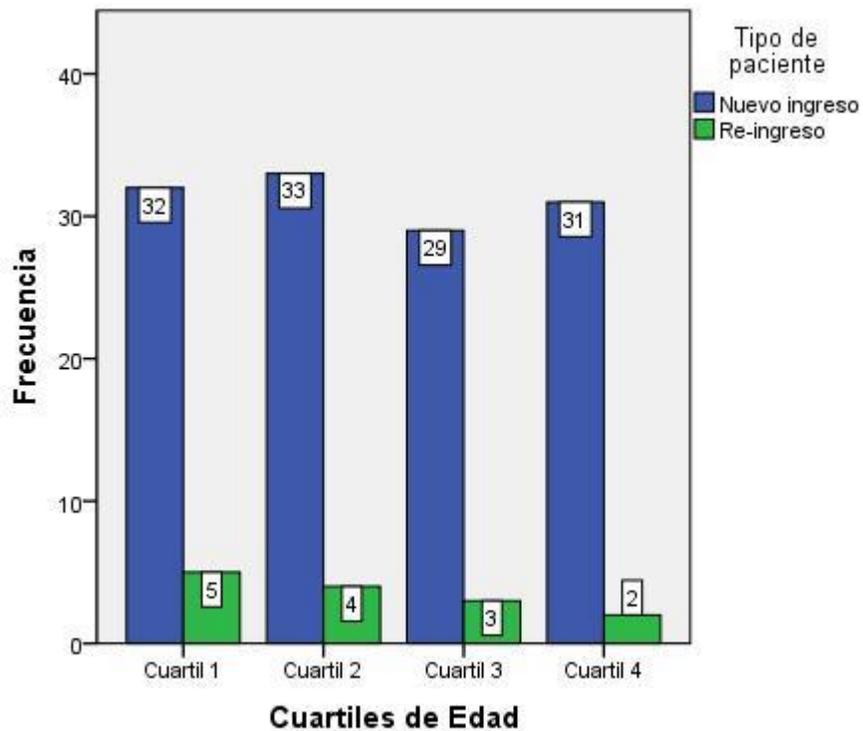
En la distribución de casos por cuartiles podemos evidenciar que en los primeros 3 años del estudio (2012-2014) hubo más casos en gente de < 40 años de edad, pero a medida que pasan los años, cada vez hay más gente de > 40 años con TB. Esto refleja posiblemente la prevalencia cada vez mayor de una población mundial de mayor edad promedio(13,17,29,30,35).

Figura 4. Frecuencia de casos estratificados por método de diagnóstico en referencia al tipo de paciente.



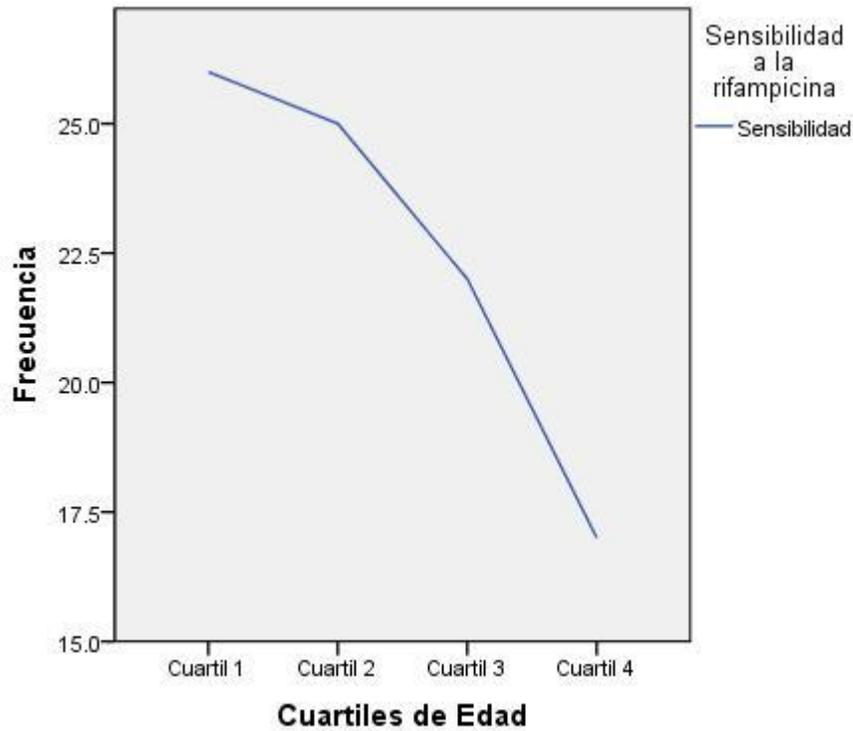
El método de diagnóstico más frecuente entre los nuevos ingresos, es la baciloscopía, hecho que hace pensar que quizás no se está dando un diagnóstico de certeza y se está tratando a pacientes que no tienen el *Mycobacterium tuberculosis*. De la misma forma, se podría estar no tratando a aquellos con una TB pulmonar paucibacilar por ejemplo. Por otro lado, entre los pacientes en recaída o re-ingreso se prefirió más el diagnóstico por cultivo y PCR. En la literatura se observa que el gold standard es el cultivo(2,4,32,33,36,37). Hay guías que incluso recomiendan realizar las 3 técnicas al primer contacto con el paciente(2,8,11,24,32,36).

Figura 5. Frecuencia de casos estratificados por tipo de paciente en referencia a los cuartiles de edad.



Si se distribuye en cuartiles de edad a los casos respecto al tipo de paciente, encontramos que hay muchos más nuevos ingresos o pacientes recién diagnosticados en todos los cuartiles de edad, con una frecuencia que se ha mantenido en términos generales. El número de re-ingresos o recaídas va disminuyendo a medida que la población aumenta en edad, es decir, que hay un factor desconocido que hace que mientras mayor es la persona en edad, menor probabilidad tiene de recaer. Esto es compatible con lo que sucede con pacientes en otros países(1,12,13,23,30,35).

Figura 6. Frecuencia de casos que mostraron sensibilidad a la rifampicina en referencia a los cuartiles de edad.



Mientras más jóvenes son los casos, hay una mayor sensibilidad al tratamiento con rifampicina. Estos resultados son bastante similares a lo que se produce en pacientes con TB pulmonar en países subdesarrollados. Mientras que en países desarrollados hay más casos en pacientes de mayor edad, la sensibilidad es mayor en pacientes mayores(5,11,32,37).

Tabla 2. Sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la PCR (con IC) para el diagnóstico de TB.

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
PCR	76% (66 – 84)	72% (55 – 84)	0,87 (0,78 – 0,93)	0,54 (0,40 – 0,57)

La sensibilidad y especificidad están por debajo de lo hallado en ensayos clínicos randomizados(7,10,14,15,18,21,38). El valor predictivo positivo es bastante elevado y se acerca a lo estimado en estudios, pero aún es inferior a lo establecido(3,32,39). El valor predictivo negativo por otro lado tiene un valor bastante inferior a lo publicado(8,9,17,19,20). Estos valores no son estadísticamente significativos por las limitaciones del estudio. No hubo registros en todos los pacientes y en los que hubo, también hubo registros incompletos.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se debería aplicar PCR a toda muestra de esputo junto con la baciloscopía y cultivo. Esto ayuda en la detección rápida de pacientes paucibacilares y permite un mejor acercamiento terapéutico al revelar información sobre la resistencia a la rifampicina conjuntamente.

En Guayaquil no se aplica lo estipulado en las Guías de Tuberculosis del MSP del 2016. Se aplica de manera no constante, a unos pacientes sí, a otros no. Esto con probabilidad ha llevado a que en los últimos años repunte el número de casos con TB.

La validez y confiabilidad de la PCR en Tiempo Real para TB no se ha podido determinar satisfactoriamente por falta de aplicación de protocolos establecidos en las Guías de TB del MSP 2016. Sin embargo, queda claro con los resultados obtenidos que es una prueba con elevada sensibilidad y especificidad en concordancia con la literatura internacional.

Como recomendaciones, se debería aplicar lo que está escrito en las Guías de TB del MSP del 2016 a todos los pacientes. Se debe descentralizar los laboratorios estatales que permiten realizar PCR. Se debe llevar un registro adecuado de los pacientes con TB y su información en computadora dejando de lado poco a poco los registros en papel o que estos sean solo un respaldo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Xpert MTB/RIF implementation manual [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112469/1/9789241506700_eng.pdf?ua=1
2. (uk) ICGT. Diagnosis [Internet]. National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2016 [citado 27 de febrero de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK361233/>
3. Moussa HS, Bayoumi FS, Mohamed AMA. Gene Xpert for Direct Detection of Mycobacterium Tuberculosis in Stool Specimens from Children with Presumptive Pulmonary Tuberculosis. *Ann Clin Lab Sci*. 2016;46(2):198-203.
4. Bernardo, John. Diagnosis of pulmonary tuberculosis in HIV-uninfected patients - UpToDate [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-of-pulmonary-tuberculosis-in-hiv-uninfected-patients?source=search_result&search=pulmonary%20tuberculosis&selectedTitle=3~150#H15
5. OPS-libro-prevencion-tuberculosis.pdf [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/OPS-libro-prevencion-tuberculosis.pdf>
6. Parcell BJ, Jarchow-MacDonald A, Seagar A-L, Laurenson I, Prescott GJ, Lockhart M. Three Year Evaluation of Xpert MTB/RIF in a Low Prevalence Tuberculosis Setting: a Scottish Perspective. *J Infect*. 22 de febrero de 2017;
7. Mokaddas EM, Saadaldeen H, Ahmad S. Comparison of two molecular methods and an automated liquid culture system for the early detection of Mycobacterium tuberculosis from both pulmonary and extrapulmonary specimens in Kuwait. *Int J Mycobacteriology*. diciembre de 2016;5 Suppl 1:S74-5.
8. Jiang F, Huang W, Wang Y, Tian P, Chen X, Liang Z. Nucleic Acid Amplification Testing and Sequencing Combined with Acid-Fast Staining in Needle Biopsy Lung Tissues for the Diagnosis of Smear-Negative Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167342.

9. Rao P, Chawla K, Shenoy VP, Mukhopadhyay C. Role of real-time PCR for detection of tuberculosis and drug resistance directly from clinical samples. *Indian J Tuberc.* julio de 2016;63(3):149-53.
10. Opota O, Senn L, Prod'hom G, Mazza-Stalder J, Tissot F, Greub G, et al. Added value of molecular assay Xpert MTB/RIF compared to sputum smear microscopy to assess the risk of tuberculosis transmission in a low-prevalence country. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* julio de 2016;22(7):613-9.
11. Jung YJ, Kim J-Y, Song DJ, Koh W-J, Huh HJ, Ki C-S, et al. Evaluation of three real-time PCR assays for differential identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex and nontuberculous mycobacteria species in liquid culture media. *Diagn Microbiol Infect Dis.* junio de 2016;85(2):186-91.
12. Wang SF, Ou XC, Li Q, Zheng HW, Wang YF, Zhao YL. The Abbott RealTime MTB assay and the Cepheid GeneXpert assay show comparable performance for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* abril de 2016;45:78-80.
13. García-Basteiro AL, Ismail MR, Carrilho C, Ussene E, Castillo P, Chitsungo D, et al. The role of Xpert MTB/RIF in diagnosing pulmonary tuberculosis in post-mortem tissues. *Sci Rep.* 10 de febrero de 2016;6:20703.
14. Huang F, Dang L, Sun H, Yang H, Wu X. [A study of the value of three molecular diagnostic techniques in the diagnosis of tuberculosis]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi Zhonghua Jiehe He Huxi Zazhi Chin J Tuberc Respir Dis.* septiembre de 2015;38(9):680-5.
15. Ko Y, Lee H-K, Lee YS, Kim M-Y, Shin JH, Shim E-J, et al. Accuracy of Xpert(®) MTB/RIF assay compared with AdvanSure™ TB/NTM real-time PCR using bronchoscopy specimens. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* enero de 2016;20(1):115-20.
16. Gürsoy NC, Yakupoğulları Y, Tekerekoğlu MS, Otlı B. [Evaluation of the diagnostic performance of Xpert MTB/RIF test for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance in clinical samples]. *Mikrobiyol Bul.* abril de 2016;50(2):196-204.
17. Yan L, Xiao H, Zhang Q. Systematic review: Comparison of Xpert MTB/RIF, LAMP and SAT methods for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Tuberc Edinb Scotl.* enero de 2016;96:75-86.

18. Gutierrez C. Benefits and challenges of molecular diagnostics for childhood tuberculosis. *Int J Mycobacteriology*. diciembre de 2016;5 Suppl 1:S4-5.
19. Dayal R, Agarwal D, Pathak H, Feroz S, Kumar M, Chauhan DS, et al. PCR targeting IS6110 in diagnosing tuberculosis in children in comparison to MGIT culture. *Indian J Tuberc*. julio de 2016;63(3):154-7.
20. Osman AL, Saeed NS, Elhassan MM. Polymerase Chain Reaction targeting insertion sequence IS6110 for the diagnosis of pulmonary tuberculosis among Sudanese children and young adults. *Int J Mycobacteriology*. diciembre de 2014;3(4):252-8.
21. Elhassan MM, Elmekki MA, Osman AL, Hamid ME. Challenges in diagnosing tuberculosis in children: a comparative study from Sudan. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. febrero de 2016;43:25-9.
22. Tiwari S, Nataraj G, Kanade S, Mehta P. Diagnosis of pediatric pulmonary tuberculosis with special reference to polymerase chain reaction based nucleic acid amplification test. *Int J Mycobacteriology*. marzo de 2015;4(1):48-53.
23. Detjen AK, DiNardo AR, Leyden J, Steingart KR, Menzies D, Schiller I, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med*. junio de 2015;3(6):451-61.
24. ID_2013Nov_Cepheid-Xpert-Fact-Sheet.pdf [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: https://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/ID_2013Nov_Cepheid-Xpert-Fact-Sheet.pdf
25. Updated Guidelines for the Use of Nucleic Acid Amplification Tests in the Diagnosis of Tuberculosis [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5801a3.htm>
26. Leylabadlo HE, Kafil HS, Yousefi M, Aghazadeh M, Asgharzadeh M. Pulmonary Tuberculosis Diagnosis: Where We Are? *Tuberc Respir Dis*. julio de 2016;79(3):134-42.
27. Verza M, Schmid KB, Barcellos RB, Linck N, Bello GL, Scapin D, et al. Performance of a molecular assay to detect Mycobacterium tuberculosis complex DNA in clinical specimens: multicenter study in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. febrero de 2017;112(2):94-9.

28. Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, Cohn DL, Daley CL, Desmond E, et al. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children. *Clin Infect Dis*. 15 de enero de 2017;64(2):e1-33.
29. Pai M, Behr MA, Dowdy D, Dheda K, Divangahi M, Boehme CC, et al. Tuberculosis. *Nat Rev Dis Primer*. 27 de octubre de 2016;2:16076.
30. WHO_GlobalTB_r3 - global-tb-report-infographic.pdf [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/tb/global-tb-report-infographic.pdf?ua=1>
31. Heemskerk D, Caws M, Marais B, Farrar J. Clinical Manifestations [Internet]. Springer; 2015 [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK344404/>
32. Evaluation for TB - UpToDate [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=ID%2F80879&topicKey=ID%2F8010&rank=3~150&source=see_link&search=pulmonary%20tuberculosis
33. Pai M, Sotgiu G. Diagnostics for latent TB infection: incremental, not transformative progress. *Eur Respir J*. 1 de marzo de 2016;47(3):704-6.
34. Marks SM, Cronin W, Venkatappa T, Maltas G, Chon S, Sharnprapai S, et al. The health-system benefits and cost-effectiveness of using Mycobacterium tuberculosis direct nucleic acid amplification testing to diagnose tuberculosis disease in the United States. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. agosto de 2013;57(4):532-42.
35. WHO Policy Statement on Xpert MTB-RIF 2013 pre publication 22102013.pdf [Internet]. [citado 1 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/WHO%20Policy%20Statement%20on%20Xpert%20MTB-RIF%202013%20pre%20publication%2022102013.pdf>
36. Riello FN, Brígido RTS, Araújo S, Moreira TA, Goulart LR, Goulart IMB. Diagnosis of mycobacterial infections based on acid-fast bacilli test and bacterial growth time and implications on treatment and disease outcome. *BMC Infect Dis*. 1 de abril de 2016;16:142.
37. Jo YS, Park J-H, Lee JK, Heo EY, Chung HS, Kim DK. Discordance between MTB/RIF and Real-Time Tuberculosis-Specific Polymerase

Chain Reaction Assay in Bronchial Washing Specimen and Its Clinical Implications. PloS One. 2016;11(10):e0164923.

38. Aliannejad R, Bahrmand A, Abtahi H, Seifi M, Safavi E, Abdolrahimi F, et al. Accuracy of a new rapid antigen detection test for pulmonary tuberculosis. Iran J Microbiol. agosto de 2016;8(4):238-42.
39. Su M, Chen J, Bai B, Huang Y, Wei L, Liu M, et al. [Establishment and preliminary application of detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum based on variable number tandem repeat]. Zhejiang Xue Xue Bao Yi Xue Ban J Zhejiang Univ Med Sci. enero de 2016;45(1):61-7.

ANEXOS

CARTA DE APROBACIÓN DEL HOSPITAL PARA REALIZACIÓN DE TESIS

Guayaquil, 19 de julio de 2017

Hospital del Día Efrén Jurado López
Directorio de la Institución

Yo, Walter Rodrigo Morquecho Rebolledo, solicito a usted se sirva autorizar la obtención de datos para el trabajo de titulación con tema "Eficacia de la PCR en Tiempo Real para el Diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar en pacientes del DOTS del Hospital Efrén Jurado del 2012-2016". Agradezco de antemano la atención prestada a la presente.

Atentamente,

Leda Karina
Espantoso y
Leda Juana
Campos.
③

Walter Morquecho R
Walter Morquecho Rebolledo
Interno de Medicina
UEES

CENTRO CIRURGICO AMBULATORIO
"DR. EFREN JURADO LOPEZ"
Dr. Daniel Calle Loffredo
DIRECTOR MEDICO

HOSPITAL DEL DIA
"DR. EFREN JURADO LOPEZ"
RECIBIDO
19 JUL 2017
ASISTENTE DIRECCIÓN MEDICA
HORA:

CRONOGRAMA GENERAL

Actividades	2016								2017					
	Mayo	Junio	Julio	Agost	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Marzo	Abril	Mayo	Junio
Ficha Técnica														
Permiso para realizar tesis														
Marco teórico														
Anteproyecto														
1er Borrador														
Aprobación de Anteproyecto														
Recolección de Datos														
Tabulación de Datos														
Análisis de Resultados														
Redacción de Conclusiones														
Entrega de Tesis Final														