



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**“RENDIMIENTO DEL CULTIVO LÍQUIDO BACTEC-MGIT 960 EN LA
RECUPERACIÓN DE *Mycobacterium tuberculosis* EN MUESTRAS
EXTRAPULMONARES DEL HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO
UNANUE. LIMA-PERU, 2018”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA
EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO Y
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

Presentado por:

BACHILLERES: ORONCOY ASTO, NANCY

LLERENA PIMENTEL, MYRIAN

LIMA- PERU

2019

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios que fue mi guía y mi fortaleza en mis momentos de desfallecimiento en alcanzar mis metas.

A mis amados padres por ser el soporte emocional y la base fundamental de mi vida. Porque siempre estuvieron en los buenos y malos momentos que me tocó vivir, por mostrarme en cada momento su apoyo incondicional y comprensión. A mis hermanos por alentarme a perseguir mis sueños y no desvanecer en el intento. A todos usted gracias por todo.

Nancy Oroncoy Asto

DEDICATORIA

Con amor a mis padres, a mi hija, y mi familia por su gran amor, paciencia, y ese apoyo incondicional para cumplir mis sueños y alcanzar mis metas

A mis hermanas porque son un ejemplo de perseverancia en la vida, porque están a mi lado en todo tiempo y circunstancia.

Myrian Llerena Pimentel

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirnos cumplir una meta tan importante en nuestras vidas y a nuestras familias

Nuestro agradecimiento también a la jefa del dpto. de patología del HNHU. Dra. Vilma Acurio por brindarnos las facilidades para recolectar los datos de nuestro estudio, de igual manera a todas aquellas personas que de alguna u otra forma son parte de nuestra elaboración y culminación de la tesis, compartiendo sus experiencias, asesorándonos, apoyándonos y aconsejándonos sobre el tema.

Al Lic. Jimmy Morales del Pino, por habernos ayudado a enfocarnos en la investigación y clarificar nuestro esquema la metodología utilizada.

Oroncoy Nancy; Llerena Myrian

ASESOR DE TESIS

Licenciado Tecnólogo Medico en Laboratorio y Anatomía Patológica

Luis Alberto Quintana Alfaro

JURADOS

Dr. Benítez Azabache, Juan Carlos

Dr. Sandoval Vegas, Miguel Hernán

Mg. Huamán Cárdenas Víctor Raúl

INDICE

CAPITULO I: EL PROBLEMA	13
1.1 Planeamiento del problema	13
1.2 Formulación del problema	15
1.3 Justificación	15
1.4 Objetivo	16
1.4.1 Objetivo General	16
1.4.2 Objetivo Especifico	16
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	17
2.1 Antecedentes	17
2.1.1. Antecedentes nacionales:	17
1.4.3 Antecedentes internacionales:	17
1.5 Base teórica	22
1.6 Hipótesis	38
1.7 Variables e indicadores	38
1.8 Definición operacional de términos	40
CAPÍTULO III: DISEÑO Y MÉTODO	41
3.1 Tipo de investigación	41
3.2 Ámbito de la investigación	41
3.3 Población y muestra	41
3.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos	42
3.5 Plan de procesamiento y análisis de datos	42
3.6 Aspectos éticos	423
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION	44
3.7 Resultados:	44
3.8 Discusión:	49
3.9 Conclusión:	52
3.10 Recomendaciones:	52
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA:	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1.- Tipos de muestras extrapulmonares procesadas en el CENEX-HNHU, 2018.....	44
Tabla N° 2.- ensayos comparativos entre el medio de cultivo liquido BACTEC-MGIT 960 con el Gold estándar, CENEX-HNHU 2018	46
Tabla N° 3.- características del cultivo liquido BACTEC-MGIT para la detección de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	46
Tabla N° 4.- Valor Kappa entre el cultivo BACTEC-MGIT 960 y su patrón de referencia.....	47
Tabla N° 5.- Tiempos de crecimiento de los cultivo líquido y sólido para la detección de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> CENEX-HNHU 2018.....	48

ÍNDICE DE GRAFICOS

Gráfico N° 1.- Distribución de las muestras según género de paciente del CENEX-HNHU, 2018.....	45
Gráfico N° 2.- Resultados de cultivo de las muestras extrapulmonares, CENEX-HNHU, 2018.....	45
Gráfico N° 3.- Diagrama de cajas del tiempo de crecimiento en los medios de cultivo, CENEX-HNHU, 2018.....	48

RESUMEN

Introducción: La tuberculosis es una enfermedad causada por *Mycobacterium tuberculosis*, afecta al tejido pulmonar y a veces zonas extrapulmonares. Entre los métodos de diagnóstico están la baciloscopía y el cultivo. En los últimos años, nuestro país viene implementado nuevas metodologías de detección en el laboratorio, entre las cuales se halla el medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960, realizado solo en algunos laboratorios.

Objetivo: Evaluar el rendimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras extrapulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú, 2018.

Materiales y métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo, de corte transversal. Se incluyeron 208 muestras extrapulmonares procesadas durante el año 2018 en el CENEX-HNHU que cumplieron los criterios de selección. Se utilizó estadística descriptiva y analítica, considerándose un valor $p < 0.05$ como significativo.

Resultados: La tasa de recuperación de micobacterias en medio líquido BACTEC-MGIT 960 fue 11.5% mientras que, cultivo Ogawa-Kudoh de 5.3%. La sensibilidad del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 fue 90.91%, su especificidad 93.33% y el índice de Youden de 0.84. Hubo presencia de falsos positivos y negativos. La concordancia entre los resultados del cultivo líquido frente a su Gold standard fue “Moderada” ($k=0.573$; $p < 0.05$), así como hubo diferencia significativa entre los tiempos de crecimiento del microorganismo ($p < 0.05$). El tiempo medio de crecimiento fue 15.33 días para BACTEC-MGIT 960 mientras que, cultivo Ogawa-Kudoh 31.28 días.

Conclusión: El cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 tuvo buen rendimiento en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* de muestras extrapulmonares obtenidas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue.

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, Ogawa-Kudoh, BACTEC-MGIT 960, diagnóstico.

SUMMARY

Introduction: Tuberculosis is a disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, it affects the lung tissue and sometimes extrapulmonary areas. Diagnostic methods include smear microscopy and culture. In recent years, our country has implemented new detection methodologies in the laboratory, among which is the BACTEC-MGIT 960 liquid culture medium, made only in some laboratories.

Objective: To evaluate the performance of the BACTEC-MGIT 960 liquid culture in the recovery of *Mycobacterium tuberculosis* in extrapulmonary samples from the Hipólito Unanue National Hospital. Lima-Peru 2018.

Materials and methods: Descriptive, retrospective, cross-sectional study. 208 extrapulmonary samples processed during the year 2018 were included in the CENEX-HNHU that met the selection criteria. Descriptive and analytical statistics were used, considering a p value <0.05 as significant.

Results: The recovery rate of mycobacteria in BACTEC-MGIT 960 liquid medium was 11.5%, while the Ogawa-Kudoh culture was 5.3%. The sensitivity of the BACTEC-MGIT 960 liquid culture was 90.91%, its specificity 93.33% and the Youden index of 0.84. False positives and negatives were present. The agreement between the results of the liquid culture against its gold standard was "Moderate" ($k=0.573$; $p<0.05$), as well as there was a significant difference between the growth times of the microorganism ($p <0.05$). The average growth time was 15.33 days for BACTEC-MGIT 960 while Ogawa-Kudoh culture 31.28 days.

Conclusion: The BACTEC-MGIT 960 liquid culture performed well in recovering *Mycobacterium tuberculosis* from extrapulmonary samples obtained at the Hipólito Unanue National Hospital.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, Ogawa-Kudoh, BACTEC-MGIT 960, diagnosis.

CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1 Planeamiento del problema

La tuberculosis es una enfermedad causada por el *Mycobacterium tuberculosis* y que sigue siendo considerada como problema de salud pública global, ocupando el décimo lugar de las causas mortales en el mundo. Según la OMS, durante el 2018 se reportaron 10 millones de personas enfermas y 1.5 millones de muerte a causa de dicha enfermedad. Casos de tuberculosis multidrogo resistentes (MDR) se detectaron generalmente en Perú, con cifras superiores a países como Brasil, Bolivia y Haití, ocupando nuestro país el segundo lugar en América Latina así como el noveno y décimo de las causas de muerte por tuberculosis en pacientes jóvenes y adultos^{1,2}.

La tuberculosis es una afección que puede ser prevenida, pero factores como la pobreza, desnutrición y el hacinamiento, aumentan la tasa de afectados que la hace ocupar el quinto lugar de las causas de muerte en el Perú³.

Para realizar el diagnóstico de la tuberculosis se requiere la presencia del criterio epidemiológico, clínico, radiológico, y microbiológico. Este último implica una amplia variedad de metodologías usadas para aislar el microorganismo, siendo el más usado la baciloscopía, un procedimiento rápido y barato pero con baja sensibilidad. El cultivo para micobacterias es otro de las pruebas empleadas, y que es considerado como el Gold standard para el diagnóstico, porque puede evidenciar entre un rango mínimo de 10 a 100 bacilos (BAAR) presentes en la muestra, siempre y cuando sea realizado con los criterios de calidad adecuados⁴.

Uno de los cultivos que se realizan, es el cultivo Ogawa-Kudoh el cual tiene la ventaja de ser un procedimiento sencillo y útil en detectar los casos sospechosos con baciloscopía negativa. Esta prueba se encuentra dentro de los medios elaborados a base de huevo, sales, glicerol y agentes inhibidores de cocos Gram positivos (verde de malaquita), que actúan frente a las bacterias contaminantes manteniendo una armonía entre la recuperación micobacteriana y la probable contaminación, prolongando el tiempo de vida, si es conservado entre 6 a 8°C, hasta 6 meses. Otro de los medios sólidos empleados rutinariamente es el Löwestein-Jensen⁴⁻⁵.

Un medio de cultivo recientemente empleado en los laboratorios de diagnóstico, es el medio líquido BACTEC-MGIT 960, el cual tiene mayor tasa de recuperación bacteriana así como acelera el diagnóstico en la detección de micobacterias. Entre sus componentes se encuentra el caldo Middlebrook7H9 modificado que tiene agregado el suplemento de crecimiento MGIT o de enriquecimiento OADC (ácido oleico, albumina, dextrosa y catalasa) que logra condiciones óptimas en el crecimiento de micobacterias. También cuenta con un compuesto de rutenio incluido en silicona que emite una fluorescencia cuando el oxígeno se metaboliza por las bacterias que empiezan a crecer, y que aumenta proporcionalmente a medida que va generándose dióxido de carbono. De esta manera, el equipo que detecta esta fluorescencia considera a las muestras como positivas a través de algoritmos internos cuando la unidad de crecimiento (UC) alcanza o supera el valor de corte de 75 unidades, y se le confirma con pruebas adicionales (tinción Ziehl Neelsen e inmunocromatografía)⁵⁻⁷.

La tuberculosis es una enfermedad que afecta principalmente a los pulmones en un 85% de los casos y en menor porcentaje a otros órganos y tejidos, es por ello que generalmente las muestras provienen de la zona pulmonar, las cuales son esputo, y muestras extrapulmonares como los aspirados gástricos, lavados bronquiales, hisopados faríngeos, tejidos, fluidos corporales asépticos como líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, líquido pleural, líquido pericárdico, etc. Las muestras deben ser procesadas de inmediato a fin de evitar el sobre crecimiento de la microbiota acompañante o de lo contrario, ser almacenadas entre 2-8°C^{2, 6, 7}.

La tuberculosis “extrapulmonar” compromete tejidos y órganos externos a los pulmones, diagnosticándose de diversas formas que no requieren seguimiento intrahospitalario. La baciloscopía que se le realiza presenta por lo general resultados negativos, teniendo una capacidad nula de transmisión. Por lo cual se le realiza la siembra en cultivo, pudiendo demorar entre 2 a 6 semanas⁸⁻¹⁰.

La tendencia actual viene buscando nuevas tecnologías para el diagnóstico de la tuberculosis, como es el caso de las pruebas moleculares que emplean ácidos nucleicos y que son diseñadas para determinados tipos de muestras, pero que en nuestra realidad no son accesibles y menos utilizadas en la rutina del trabajo,

prefiriéndose aún el cultivo en muestras extrapulmonares en donde presentan mayor sensibilidad ^{11,12}.

Es por ello que acorde al contexto mundial, nuestro país, viene implementando nuevas metodologías para el diagnóstico de micobacterias, tanto para el aislamiento como para la evaluación de sensibilidad a los antibióticos. Así mismo el estado sigue dando la importancia debida a la lucha contra la tuberculosis, creando dentro de los hospitales, áreas altamente especializadas que cuentan con toda la tecnología y los recursos necesarios para el estudio del agente causal. Una de dichas áreas se encuentra dentro del Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU), denominado CENEX (Centro de Excelencia para el control de la transmisión de la tuberculosis), y que viene empleando el medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960, como parte del protocolo rutinario de aislamiento para la recuperación de micobacterias, junto con el tradicional medio de cultivo sólido Ogawa-Kudoh, observándose también, un buena recuperación del agente causal en el cultivo líquido. Debido a esta condición es que formulamos la siguiente pregunta:

1.2 Formulación del problema

¿Cuál es el rendimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras extrapulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú 2018?

1.3 Justificación

El empleo de nuevos métodos de diagnóstico permiten una mejor detección de los casos positivos y una disminución del tiempo de crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis*, siendo el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 uno de ellos, razón por la cual nuestro estudio permitirá aportar datos nacionales acerca de su rendimiento en las muestras extrapulmonares frente al cultivo tradicional, esto con la finalidad de realizar un diagnóstico temprano de la enfermedad, permitiendo instaurar medidas de control que favorecerán la salud pública.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio influirán en la decisión de seleccionar la prueba de laboratorio más idónea en el diagnóstico de la tuberculosis, así como mejorar la detección del agente causal en menos tiempo, favoreciendo en el tratamiento oportuno de los pacientes y la población en general.

1.4 Objetivo

1.4.1 Objetivo General

- Evaluar el rendimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras extrapulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú, 2018.

1.4.2 Objetivo Especifico

- Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960.
- Hallar el grado de concordancia entre los resultados del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 con el Gold standard (cultivo Ogawa-Kudoh).
- Determinar el tiempo medio de crecimiento del microorganismo en el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

- ❖ Antecedentes nacionales e internacionales

2.1.1. Antecedentes nacionales:

Parimango et al. (2007) en su estudio “Comparación de los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen en el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* de pacientes con tuberculosis pulmonar, Trujillo, Perú” el cual tuvo por objetivo comparar de manera cuantitativa y cualitativa los resultados de muestras con baciloscopía positiva sembradas en ambos medios de cultivo, y de donde a partir de 54 muestras, el 39,13% tuvo crecimiento eugénico en el medio Ogawa y el 28,26% en el Löwenstein-Jensen, demostrando ser estadísticamente significativo (Test-t = 33.03, $p < 0,05$), pero no siendo así en el tiempo de crecimiento y el número de colonias (Test-t = 0.503, $p > 0,05$; Test-t = 0.716, $p > 0,05$), concluyendo que ambos medios tienen la misma eficacia en aislar *M. tuberculosis*¹³.

Quispe et al. (2016) en su estudio titulado “Manual MGIT™ System for the Detection of Mycobacterium Tuberculosis: Insights From a High TB Burden Setting” cuyo objetivo era evaluar el rendimiento diagnóstico del MGIT™ manual (MMGIT), encontrando que la sensibilidad y especificidad para el frotis y el cultivo MMGIT por muestra fueron de 89.9%/92.2% y 97.1%/98.9% respectivamente. Así mismo el Tiempo de detección fue de 11.8 días en MMGIT y 22.9 días en el estándar de oro (cultivo Löwenstein-Jensen). La sensibilidad y especificidad para el frotis y MMGIT por paciente fueron respectivamente 89.9% y 92.2% y 97.1% y 98.3%; concluyendo que el cultivo líquido MMGIT posee alta sensibilidad y especificidad, independientemente del resultado del frotis, con una reducción del 50% del tiempo de crecimiento, haciéndolo un método de diagnóstico aceptable para tuberculosis¹⁴.

1.4.3 Antecedentes internacionales:

Aparecida de Almeida et al. (2005) en su trabajo “Sputum culture yield: comparing an automated diagnostic system to Löwenstein-Jensen medium in the diagnosis of

pulmonary tuberculosis” el cual tuvo como objetivo evaluar un sistema automatizado para el diagnóstico de tuberculosis, comparándolo con el examen directo de esputo y el cultivo Löwenstein-Jensen (LJ), encontró que a partir de 844 muestras evaluadas, el 27,1% fueron positivos en el examen directo, el 34,7% positivos en el cultivo LJ y el 37,1% positivos en el sistema automatizado BACTEC MGIT 960, teniendo una sensibilidad del 98,1% en el sistema automatizado y un 91,9% en el cultivo LJ, así como una especificidad y Valor Predictivo Positivo del 100% para ambos métodos. También obtiene que el tiempo de detección del microorganismo fuera mejor en el sistema automatizado que en el medio LJ, concluyendo que debido a la eficiencia similar del sistema automatizado al medio LJ y su tiempo de detección más corto, es que se promueve su implementación en los protocolos rutinarios del laboratorio¹⁵.

Solórzano et al. (2009) en “Comparative Evaluation of Three Culture Methods for the Isolation of Mycobacteria from Clinical Samples” cuyo objetivo fue evaluar la capacidad de dos medios de cultivo líquido, con incubación automatizada y sistema de lectura (MB/BacT ALERT 3D System and BACTEC MGIT 960 System) y un medio de cultivo sólido (Löwenstein-Jensen). En donde al analizar 1770 muestras, 135 fueron detectadas con *M. tuberculosis* por al menos uno de los métodos usados. El sistema BACTEC MGIT 960 tuvo mayor sensibilidad (86.5%), sobre todo al detectar *M. tuberculosis* (89.1%), sin embargo el medio Löwenstein-Jensen fue más sensible (76.2%) en detectar micobacterias no tuberculosas. The BACTEC MGIT 960 System mostró la más baja tasa de detección de crecimiento (15.3 days), significativamente más corto que los otros dos medios. Hubo una sensibilidad del 95.5% y especificidad del 99.6% usando el BACTEC MGIT 960 System con el medio Löwenstein-Jensen siendo este el único en detectar el 100% de las micobacterias no tuberculosas¹⁶.

López et al. (2011) en el trabajo titulado “Evaluación de medios de cultivo alternativos para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar”, cuyo objetivo fue evaluar el medio MGIT (Mycobacterial Growth Indicator Tuve) en comparación con el cultivo Ogawa-Kudoh y el cultivo agar de Capa Delgada (CD) para el diagnóstico de la tuberculosis, y donde encontró que la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos así como la eficiencia fueron del 84.0%, 94.1%, 87.5%, 92.3% y 90.8% en el MGIT y 71.1%, 99.1%, 96.9%, 90.0% y 91.4% en el

medio CD. Concluyendo que ambos métodos son buenas alternativas para el diagnóstico de la tuberculosis, considerando al medio MGIT como una prueba más sensible en muestras paucibacilares¹⁷.

Pedro et al. (2011) En su trabajo titulado “Avaliação do desempenho dos meios de cultura Ogawa-Kudoh e MGIT para isolamento de micobactérias”, cuyo objetivo fue evaluar el desempeño del medio de cultivo Ogawa-Kudoh (OK) y del manual Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT-Becton y Dickinson) en relación con la positividad, velocidad de los resultados, contaminación y el aumento del diagnóstico por el cultivo en un laboratorio de salud pública del estado de São Paulo, encontrando que de 490 cultivos sembrados, 45 (9,2%) fueron positivas en el medio OK y 58 (11,8%) en el MGIT, el porcentaje de contaminación del medio OK fue 1,2% y 0,2% en el MGIT, el incremento en el diagnóstico por cultivo OK fue 11 (17,7%) y en el MGIT fue 20 (28,2%). El crecimiento en medio MGIT fue más rápido que en OK en los resultados positivos ($p= 0.02$) así como la concordancia de los resultados fue del 95.2% (483). Concluyendo que el medio MGIT mostró mejor resultados que el medio OK en relación con la positividad, rapidez del diagnóstico, tasas de contaminación y en el aumento del diagnóstico por cultivo¹⁸.

Hasan et al. (2013) en “Evaluation of the effectiveness of BACTEC MGIT 960 for the detection of mycobacteria in Bangladesh” que tuvo por objetivo evaluar la eficacia del método BACTEC MGIT 960 para su aplicación en el diagnóstico de rutina junto con la microscópica y los cultivos tradicionales, y donde encontró que la positividad relativa del sistema MGIT 960 fue 60% y 66.7% mayor que el cultivo Lowenstein-Jensen (LJ) y la microscopía de fluorescencia LED respectivamente, observándose tasas de recuperación de 21 muestras en MGIT y 16 muestras en cultivo LJ del complejo Mycobacterium. Halló también, que el cultivo líquido MGIT 960 fue altamente sensible (100%), específico (93.3%), preciso (93.6%) y de rápida detección para el aislamiento de micobacterias en comparación al cultivo LJ. Concluyendo que el cultivo MGIT 960 permite detectar micobacterias (tuberculosas como no tuberculosas) de manera más efectiva y rápida¹⁹.

Smaoui et al. (2015) en su estudio “Evaluation of the BACTEC MGIT 960 TB with Solid Media for Recovery of Mycobacteria from Extrapulmonary Specimens in South Tunisia” tiene como objetivo medir la eficacia del método BACTEC 960 en muestras

extrapulmonares. Se analizaron 634 muestras, de las cuales se aislaron 98 (15.4%) cepas por tres medios de cultivo. la tasa de recuperación para MGIT 960, LJ y Coletsos fueron de 93.8%, 77.5% y 70.4% respectivamente, el tiempo medio de crecimiento fueron de 18.5, 44.8 y 42.8 respectivamente, la tasa de contaminación en MGIT960 fue de 1.7% siendo menor que la de los medios solidos 2.2% para LJ y 2.5% para Coletsos. El demuestra diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.000001$) en la tasa de recuperación en comparación con el método LJ convencional. Llegando a la conclusión que cultivo líquido BACTEC 960 acorta el periodo de detección y disminuye la carga de trabajo²⁰.

Moreira et al. (2015) en su estudio titulado "Liquid vs Solid Culture Medium to Evaluate Proportion and Time to Change in Management of Suspects of Tuberculosis—A Pragmatic Randomized Trial in Secondary and Tertiary Health Care Units in Brazil" tiene el objetivo comparar la técnica MGIT 960 con el método Lowenstein-Jensen (LJ) para el diagnóstico de laboratorio de tuberculosis activa. Se analizaron 693 pacientes de las cuales 348 analizadas para MGIT frente a 345 para LJ. Los resultados de frotis y cultivo fueron positivos para 10% y 15.7% respectivamente. El tiempo medio para un diagnóstico final de tuberculosis fue de 37,7 días para MGIT (IC del 95%: 36,2 - 39.1, SD 10.6, mediana 42 y rango 4 - 42) y 55.1 días para LJ (IC 95% 53.8 - 56.5, SD 9.9, mediana 59 y rango 19 - 60) El tiempo medio para resultados positivos fue de 10.7 días para MGIT (IC 95% 8.4 - 13.1, SD 5.7, mediana 9 y rango 4 - 25) y 31.7 días para LJ (IC 95% 27.6 - 35.7, SD 8.9, mediana 31 y rango 19 - 49). Concluyendo que el sistema MGIT960 para el diagnóstico de TB proporciona un modelo prometedor de gestión de casos para mejorar la calidad de la atención y el control de la Tuberculosis²¹.

Wang et al. (2016) en su estudio titulado "Evaluation of the efficacy of Myco/F lytic system, MGIT960 system and Lowenstein-Jensen médium for recovery of *Mycobacterium tuberculosis* from sterile body fluids" tiene como objetivo es evaluar la eficacia del sistema lítico Myco / F, el tubo BACTEC MGIT 960 y el medio Lowenstein-Jensen (LJ) para la recuperación de micobacterias. El estudio analizo 214 muestras por medio de los 3 métodos, obteniendo una tasa de recuperación 86.41% para Myco / F lytic, 75.73% para MGIT 960 y 42.72% para medio LJ. El tiempo medio de positividad fue de 27.06 ± 8.03 días para Myco / F lytic, 22.20 ± 7.84 días para MGIT 960 y 42 ± 8.84 días para medio LJ. Las tasas de

contaminación fueron 6.54%, 3.74% y 2.80% para Myco / F lytic, MGIT960 y medio LJ respectivamente. Concluyendo que el sistema Myco / F lytic como el MGIT960 fueron superiores al medio LJ para la recuperación de tuberculosis. El sistema lítico Myco / F fue más favorable que el MGIT960 con respecto a la tasa de recuperación y la rentabilidad²².

Diriba et al. (2017) en su trabajo titulado “Performance of Mycobacterium Growth indicator Tube BACTEC 960 with Löwenstein Jensen method for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* at Ethiopian National Tuberculosis Reference Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia” cuyo objetivo fue evaluar el rendimiento del cultivo BACTEC 960 y del cultivo de Löwenstein-Jensen (LJ), encontró que al analizar 908 muestras de pacientes, la tasa de recuperación para LJ y BACTEC 960 fueron de 20% y 26% respectivamente, el tiempo medio de crecimiento para ambos fue de 31 y 16 días respectivamente. Así mismo, la concordancia observada entre ambos métodos de diagnóstico tuvo un valor Kappa “Moderado” de 0,59 (P<0,001). Llegando a la conclusión de que el cultivo líquido BACTEC 960 tiene mejor tasa de recuperación para Micobacterias que el Löwenstein-Jensen²³.

Palacios (2017) en su estudio “Diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar por cultivo”, el cual tuvo como objetivo realizar el diagnóstico de Tuberculosis extrapulmonar por cultivo en muestras clínicas de pacientes con sospecha de este padecimiento, así como determinar la presencia de *M. tuberculosis* y su afectación a diferentes órganos y/o tejidos. En donde, a partir del análisis 654 muestras cultivadas, el 5.5% dieron positividad (36 aislamientos) y que de acuerdo al órgano/tejido afectado el 30.6% fue aislado de piel, incluyendo una cepa de *M. bovis*; teniendo una sensibilidad del 100% para fármacos como Etambutol y Rifampicina, 94.5% para Isoniacida y 44.0% para Pirazinamida; llegando a la conclusión de que el cultivo es un método importante para el diagnóstico y pruebas de fármacosensibilidad en pacientes sospechosos de tuberculosis extrapulmonar²⁴.

Saini et al. (2017) en “Comparison of BACTEC MGIT with conventional methods for detection of *Mycobacteria* in clinically suspected patients of extra pulmonary tuberculosis in a tertiary care hospital” cuyo objetivo fue comparar el rendimiento del cultivo de tubo indicador de crecimiento de micobacterias BACTEC MGIT con los medios convencionales LJ y el examen directo de frotis de AFB en muestras

extrapulmonares. Se procesaron 66 muestras extrapulmonares, la tasa de recuperación fue de 31.8% en LJ, 46.9% por MGIT y 15.15% en frotis de AFB. El tiempo medio fue 8 días para MGIT, para medio sólido LJ fueron de 21 días. La tasa de contaminación se presentó en un 3% en BACTEC MGIT 960, mientras que en el medio sólido 8%. Llegando a la conclusión que el cultivo BACTEC MGIT 960 tiene una mayor tasa de aislamiento en comparación con los medios sólidos²⁵.

Jahan et al. (2019) en “Comparative Study of Solid Culture and Liquid Culture for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis” tiene como objetivo comparar la eficacia del cultivo sólido y el cultivo líquido en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Se analizaron 100 muestras, MGIT 960 detectó más muestras positivas que el cultivo sólido; 68% frente al 67%. El tiempo medio de detección de Micobacterias fue $34,3 \pm 5,2$ días para medios Lowenstein-Jensen y $17,5 \pm 3,8$ días para MGIT 960 (valor de $p < 0,05$). Concluyendo que el cultivo líquido dio un resultado más temprano que el cultivo sólido²⁶.

Zhao et al. (2019) en “Evaluation of a manual identification system for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in a primary tuberculosis laboratory in China” el cual tuvo como objetivo comparar el rendimiento diagnóstico del medio manual BACTEC™ Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT™) system (M-MGIT) con el automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 system (A-MGIT) y el medio Lowenstein-Jensen (L-J) en la detección de micobacterias en muestras de esputo de pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar (TB). De donde al analizar 565 muestras, los medios M-MGIT y A-MGIT detectaron significativamente más aislamientos de *M. tuberculosis* que el cultivo L-J (39%, 40% y 32% respectivamente), la sensibilidad de los métodos M-MGIT, A-MGIT y L-J fue del 92%, 94% y 74%, respectivamente, el tiempo de detección de micobacterias fue de 12.9 ± 4.2 días para M-MGIT, 11.8 ± 5.2 días para A-MGIT y 24.2 ± 8.7 días para LJ. Concluyendo que el medio M-MGIT tiene un rendimiento diagnóstico similar al A-MGIT, siendo una alternativa rápida y confiable a los cultivos convencionales²⁷.

1.5 Base teórica

2.2.1 Tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad antigua cuyo principal agente etiológico, es el *Mycobacterium tuberculosis*, que ha generado muerte en miles de personas por muchas generaciones. Esta patología afecta primordialmente los pulmones, pero también a diferentes órganos en un 33%, estimándose que un cuarto de la población mundial tiene tuberculosis latente. Las personas que han estado en contacto con el bacilo (tuberculosis latente) tienen un 10% de riesgo en enfermar por tuberculosis, lo cual se agrava si las personas cuentan con un sistema inmunológico deficiente, incrementándose mucho más el riesgo^{1, 28, 29}.

2.2.2 Aspectos Epidemiológicos

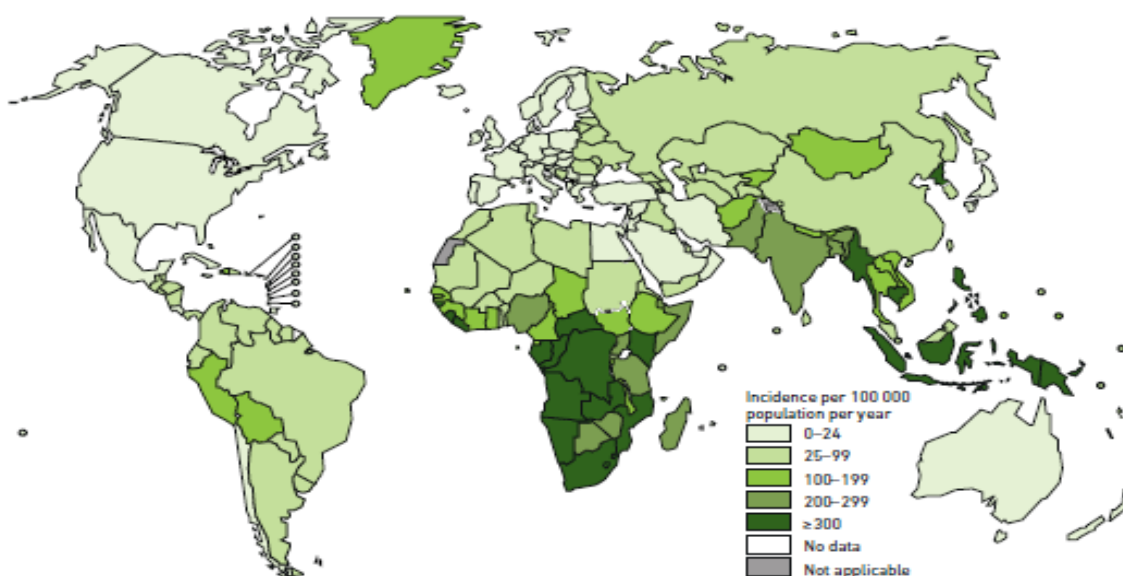
2.2.2.1 Epidemiología de la tuberculosis en el mundo

La tuberculosis continúa siendo un problema de salud mundial, estando entre las 10 principales causas de mortalidad en el mundo. Esta enfermedad ha afectado a lo largo de muchos años; por ejemplo, en el 2018, 10 millones de personas enfermaron y 1.5 millones fallecieron, estimándose que el 95% de las muertes se dieron en países de ingresos bajos y medianos; en niños 1 millón se enfermaron y 250 000 fallecieron^{1, 2}.

En todo el mundo, las tasas de casos nuevos de tuberculosis varían ampliamente entre los países. En los años 2017, se notificaron 10 millones de casos nuevos de tuberculosis. Las incidencias afectaron las regiones de Asia Sudoriental (44%), África (25%) y Pacífico Occidental (18%), habiendo distribuciones menores en Europa (2.7%), regiones del mediterráneo oriental (7.7%) y América (2.8%). Sin embargo, los 30 países con alta presencia de dicha enfermedad representaron el 87% de los casos estimados de incidentes en todo el mundo y ocho de estos países representaron dos tercios del total global³⁰.

En cuanto al índice de mortalidad para tuberculosis a nivel mundial, se redujo a un 47% desde el año 1990 en 4 regiones mundiales y del 50% en 11 países de la región de las Américas para el año 2004².

Figura 1.- Tasa mundial de Incidencia estimada de Tuberculosis año 2017.



Fuente: informe mundial OMS, 2018.

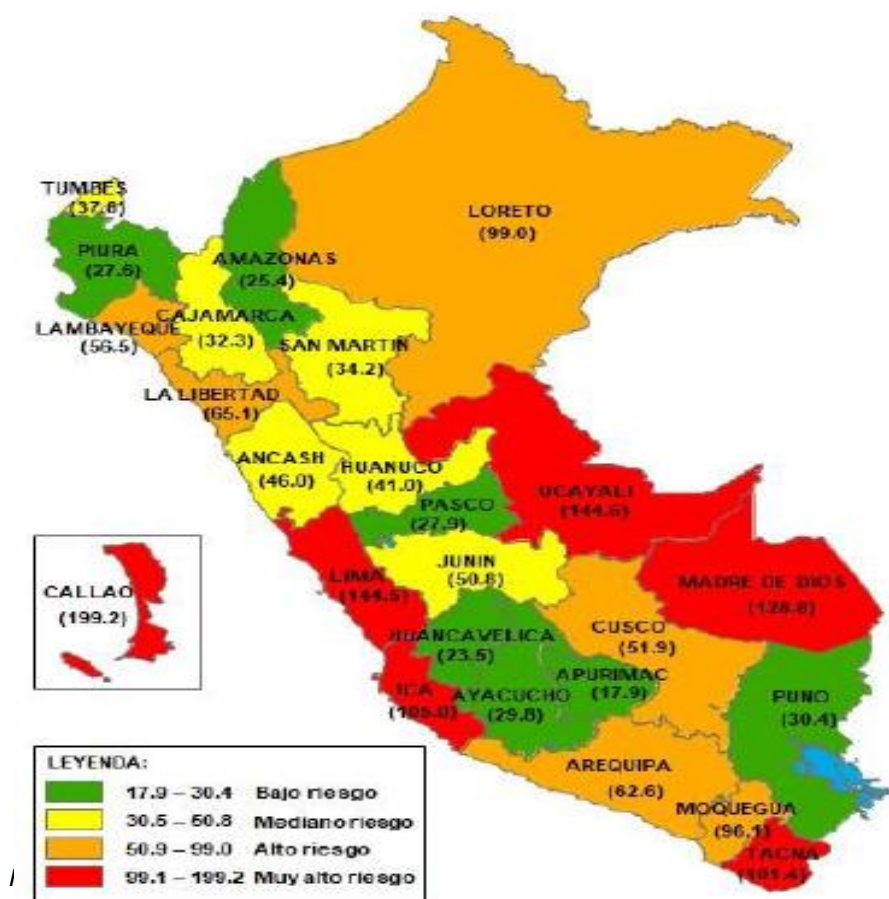
2.2.2.2. Epidemiología de la tuberculosis en el Perú

A nivel de América latina, nuestro país se halla en el segundo lugar y en el décimo quinto lugar para los casos de mortalidad. También ocupa el vigésimo séptimo lugar medido por años de vida saludable perdidos a causa de la carga de dicha enfermedad. Las tasas de incidencias y de morbilidad total (por cada 100 mil habitantes) han ido disminuyendo de un 2% a un 3% del año 2011 al 2015; en incidencias del 97.4% al 87.6% y en morbilidad del 109.7 al 99.5. Para el año 2015, se notificó más de 30 mil casos de la enfermedad, siendo esto la menor incidencia notificada en los últimos 25 años con 87.6 por cada 100 mil habitantes^{2, 3, 31}.

Según la Dirección de prevención y control de tuberculosis (DPCTB) del MINSA, en el año 2017 se informó 31 087 casos de tuberculosis, 12 regiones se encontraron en alto y muy alto riesgo, estando entre ellas Lima y Callao. Entre los años 2013 y 2015, cinco provincias (Ucayali, Lima, Loreto, Madre Dios e Ica) presentaron casos nuevos de tuberculosis por encima del nivel nacional notificándose 72% de casos nuevos, siendo Lima el departamento en el tercer lugar que tuvo una incidencia muy alta. Dentro del departamento de Lima, los distritos con más casos reportados sobre tuberculosis fueron San Juan de Lurigancho, Rímac, La Victoria, El Agustino, Ate,

Santa Anita y Barranco; notificándose para estas zonas 27 578 casos incidentes de tuberculosis y 31 528 casos de morbilidad. (Figura 2) ^{2, 32, 33}.

Figura 2.- Tasa de incidencia de Tuberculosis en el Perú, año 2017.



2.2.3 Mycobacterium Tuberculosis y Patogénesis de la Enfermedad

Mycobacterium es un bacilo ácido alcohol resistente (BAAR), sin flagelo, no formador de esporas, es una bacteria aerobia estricta, no productor de toxinas e intracelular facultativo, que posee un largo periodo de generación (16-20 horas) que varía de acuerdo con el oxígeno, nutrientes y PH del medio, siendo su fuente y reservorio natural el ser humano. Su morfología es variable, pero por lo general poseen una forma bacilar, media curva y que mide entre 0.2-0.7 µm de espesor y 1-10 µm de longitud. Existen cuatro especies capaces de producir esta enfermedad siendo el *Mycobacterium Tuberculosis* el más importante. La tuberculosis afecta los

pulmones y es la forma más contagiosa, pero también puede atacar otros órganos (tuberculosis extrapulmonar) dentro de las cuales la de tipo pleural y ganglionar son las más frecuentes^{34, 35}.

La forma de transmisión del *Mycobacterium tuberculosis* es a través de micro gotas, en forma de aerosoles cargado de Micobacterias que son expulsadas al hablar, toser o estornudar. El órgano afectado son los pulmones pero también alcanza otros órganos del cuerpo como huesos, riñones y meninges. Los pacientes con tuberculosis activa, pueden infectar de 10 a 15 individuos al año a través del contacto cercano. Sin embargo, la mayoría de los individuos son capaces de combatir la infección¹.

Existen factores relacionados con la transmisión como el número de microorganismos expelidos, la concentración de microorganismo en el aire, el intervalo de tiempo que la persona expuesta respira el aire contaminado y el estado inmunológico del individuo expuesto. El diagnóstico precoz, un inicio adecuado y oportuno de tratamiento es de gran interés para un control de la tuberculosis, previniendo una reducción de la infección y el riesgo de transmisión^{3, 36}.

Las manifestaciones de la enfermedad dependen de la oscilación entre la virulencia del microorganismo y la capacidad inmunológica del huésped, combinación entre la respuesta innata y la adquirida, ya que la protección de la respuesta innata es limitada y el bacilo puede multiplicarse dentro del macrófago y diseminarse hematológicamente³⁷.

2.2.4 Resistencia Bacteriana

A nivel mundial, se detectaron 160 684 casos de tuberculosis MDR/RR-TB en el año 2017. La resistencia de la bacteria hacia los fármacos es un problema emergente siendo un reto importante para el control a nivel mundial de la tuberculosis. La resistencia es un fenómeno natural, debido en su mayoría a la estructura lipídica de su pared celular (>60%) la cual actúa como barrera permeable frente a solutos hidrofílicos^{2, 30, 38}.

2.2.5 Manifestaciones Clínicas

2.2.5.1 Tuberculosis pulmonar

- **Tuberculosis latente:** Es manifestada después de la infección naciente, comprometiendo los lóbulos medio e inferior, apareciendo un nódulo circunscrito como una masa (Tuberculomas), la cual genera lesiones que se resecan formando una calcificación en las zonas intermedias del pulmón³⁹.
- **Enfermedad de la tuberculosis:** Es producto de la reactivación de una tuberculosis latente, manifestándose como una evolución consolidativa necrotizante en una o ambos vértices pulmonares. La necrosis es de tipo gaseosa, reflejando el aspecto calcáreo del material necrótico. Las manifestaciones clínicas iniciales son inespecíficas, apareciendo varias semanas después³⁹.

2.2.5.2 Tuberculosis extrapulmonar

La tuberculosis extrapulmonar es la afección de otros órganos, menos los pulmones, pudiendo ser de tipo pleural, abdominal, etc. Las personas inmunodeprimidas con tuberculosis pueden mostrar localizaciones hasta en un 60% de los casos. Suele estar relacionada con enfermedades que propician trastorno en el sistema inmunitario, siendo el HIV una de ellas. Su detección se basa en la clínica y en el empleo de escasas pruebas de apoyo al diagnóstico^{11, 40}.

La tuberculosis extrapulmonar es menos frecuente, daña órganos de difícil acceso y su capacidad contagiosa es baja, pero tiene un diagnóstico más complicado debido a que las muestras tienen carga paucibacilar. Para su diagnóstico existen una serie de pruebas de laboratorio, desde el examen directo como la baciloscopía, el cultivo, hasta pruebas de biología molecular, siempre empleando muestras con las medidas de bioseguridad y asepsia que deben tener para obtener un adecuado resultado^{41, 42}.

2.2.6 Muestras

Las muestras deben cumplir adecuadas condiciones pre-analíticas para lograr un óptimo resultado, entre las cuales tenemos: el de proceder de la zona correcta donde se ubica la lesión, la calidad de la muestra así como su adecuado transporte, preservación y manipulación. El proceso de las muestras extrapulmonares deberá ser dentro de las 4 horas posterior a la recolección y evitar el sobre crecimiento de

la microbiota acompañante, en el caso opuesto se puede refrigerar a 4°C hasta el momento de su procesamiento^{4, 6, 43}.

- **Espujo:** Tanto como el simple o el inducido, el espujo es el mejor tipo de muestra para dar un diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Su colecta se inicia a la primera hora de la mañana. Las normas del PNCT recomiendan las obtención de 2 a 3 muestras consecutivas, siendo la muestra ideal de tipo mucopurulenta que provenga del árbol bronquial asegurando una alta posibilidad de encontrar bacilos, con un volumen entre 3-5 ml aproximadamente y que se encuentre en un frasco estéril y de preferencia transparente^{4, 6, 43}.
- **Aspirado gástrico:** Se emplea principalmente en niños o adultos que no es posible obtener la muestra. Se recomienda emplear 3 muestras de días consecutivos, siendo obtenida en la mañana y en ayunas, para aspirar los espucos tragados durante la noche. Una vez que lleguen al laboratorio son procesadas de inmediato y si no fuera el caso se le neutraliza con una solución fosfato disódico^{6, 43}.
- **Lavado bronco alveolar, aspirado bronquial o cepillado bronquial:** Su procesamiento es de inmediato una vez que llega al laboratorio. Es una muestra obtenida por a través de un broncoscopio y se realiza solo en aquellos donde el espujo es difícil de obtener. El empleo de lidocaína como anestesia puede influir en el desarrollo del microorganismo⁶.
- **Orina:** Se recomienda la primera orina de la mañana previa higiene, una vez colectada debe ser procesada de inmediato, pues el PH afecta considerablemente la vida del bacilo. Si se envía a otro laboratorio, esta muestra debe ser centrifugada y neutralizada empelando bicarbonato de sodio y bajo refrigeración entre 4-9°C no más de 12 horas^{6, 43}.
- **Líquido cefalorraquídeo:** Es obtenida por el médico. Debe ser enviada en envase estéril y procesado inmediatamente o conservada entre 2° y 8°C no más de 12 horas⁴³.
- **Líquido pleural, ascítico, pericárdico, articular y otros:** Son muestras que deben ser obtenidas en envases estériles. Se emplea un anticoagulante como el citrato e sodio al 10% o EDTA para obtener la muestra y debe recogerse el mayor volumen posible^{6, 43}.

- **Biopsias y material resecado:** Es un tipo de muestra que debe ser enviada al laboratorio en agua destilada o suero fisiológico para evitar deshidratación.

2.2.7 D

Su diag

técnicas

microbi

muestra

2.2.7.1

Es una

pulmon

seguim

TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN

CUBRIR CON FUCSINA FILTRADA

CALENTAR HASTA EMISIÓN DE VAPORES TRES VECES DURANTE 5 MINUTOS

LAVAR CON AGUA

CUBRIR CON DECOLORANTE DURANTE 3 MINUTOS

LAVAR CON AGUA

CUBRIR CON AZUL DE METILENO DURANTE 1 MINUTO

LAVAR CON AGUA

SECAR AL AIRE

o agua

niología,

pruebas

tipo de

erculosis

e para el

- **Tinción de ziehl-Neelsen:**

Es una coloración específica para la búsqueda de micobacterias ya que en coloraciones habituales son difíciles de teñir. El alto contenido de ácidos micólicos en la capa lipídica retiene al colorante fucsina al ser calentado, una vez adentro el colorante no podrá ser extraído por el alcohol ácido. El frotis teñido se observa a un aumento de 100x empleando aceite de inmersión^{6, 43}.

Figura 3.- Pasos para la realización de la tinción Ziehl Neelsen.

Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico parte 2 cultivo. Argentina: OPS; 2008

RESULTADOS DEL EXAMEN MICROSCÓPICO	INFORME
No se observa BAAR en 1000 campos observados	No se observa bacilos ácido alcohol resistentes
Se observa de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados.	N° exacto de bacilos en 100 campos
Se observa de 10 a 99 BAAR en 100 campo observados.	Positivo (+)
Se observa 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados.	Positivo (++)
Se observa más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.	Positivo (+++)

Figura 4.- Escala del reporte microscópico en baciloscopía

Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico parte 2 cultivo. Argentina: OPS; 2008

2.2.7.2 Cultivo

Técnica con mayor sensibilidad a diferencia de la baciloscopía, con el cual se permite evidenciar un mínimo de 10 a 100 bacilos presentes en la muestra. Los resultados son obtenidos en un tiempo prolongado; el cultivo de micobacterias incrementa en un 15-20% del total de casos positivos en el examen microscópico directo y en tuberculosis pulmonar en un 20-30%^{4, 6}.

Las micobacterias son bastantes exigentes y requieren de medios de cultivo que tengan todas las condiciones óptimas para su crecimiento. Entre los tipos de medios de cultivo, se encuentra los de tipo sólido, donde el microorganismo puede formar colonias; y el cultivo líquido, donde el microorganismo se manifiesta por la turbidez que se evidencia en el caldo. La existencia de sensores incorporados al medio líquido permite detectar el cambio de color y la emisión de luz fluorescente, debido al consumo de O₂ y posterior liberación de CO₂ por parte del microorganismo^{4, 6}.

➤ **Cultivo sólido:**

Entre los medios sólidos, se encuentran los elaborados a base de huevo, sales, glicerol y un agente inhibidor de cocos Gram positivos (como el verde de malaquita) que actúa frente a las bacterias contaminantes manteniendo una estabilidad durante la recuperación de las micobacterias y evitando la probable contaminación que viene en las muestras asépticas. Entre estos medios tenemos el cultivo Ogawa-Kudoh y el cultivo Löwenstein-Jensen^{4, 6}.

● **Medio de cultivo Ogawa-Kudoh**

Es un cultivo sencillo y el más usado. Es un medio rico en nutrientes ya que contiene albúmina (huevo), glicerol que aporta fuente de carbono, verde malaquita (inhibidor de cocos Gram positivos), y está conformado por un conjunto de sales como fosfato monopotásico y glutamato de sodio. Se realiza en una cabina de flujo laminar donde el personal debe estar capacitado en el manejo adecuado de las medidas de bioseguridad, la decontaminación de la muestras es realizada con Na-OH 4%. Las colonias típicas de *Mycobacterium tuberculosis* son grandes, teniendo la forma de coliflor con bordes irregulares (colonias eugónica)^{4, 19, 43}.

● **Medio de cultivo Löwenstein-Jensen**

Es un medio muy usado al igual que el Ogawa-Kudoh. En su composición contiene sales como fosfato monopotásico, citrato de magnesio, sulfato de magnesio, L-asparagina, glicerina, verde de malaquita y albúmina. Este cultivo permite realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos y se usa el NALC-NaOH como parte del protocolo de decontaminación⁴.

➤ **Cultivo líquido**

Este tipo de medio de cultivo disminuye el periodo de expectativa de los resultados, posee mayor sensibilidad y la recuperación de micobacterias es entre las 2 semanas a comparación de los medios sólidos. La sensibilidad a los antibióticos son obtenidos en 10 días aproximadamente, a diferencia de los 28 y 42 días en los medios habituales. Esta técnica facilita a los pacientes en su diagnóstico temprano, así como permite afrontar desafíos que comprometan epidemias de esta enfermedad, que muchas veces suelen estar asociadas al HIV y a tuberculosis resistentes^{4, 7, 43}.

● **Sistema BACTEC 960**

Es un sistema de cultivo líquido que utiliza un equipo totalmente automatizado, con capacidad para 960 muestras, existiendo otros equipos con capacidad para menor número (por ejemplo el BACTEC MGIT 320). Los componentes de este medio son: el caldo Middlebrook7H9 modificado al que se le agrega el suplemento de crecimiento MGIT o enriquecimiento OADC el cual permite lograr condiciones óptimas con la finalidad de promover el crecimiento de micobacterias, además contiene un compuesto de rutenio incluido en silicona, sensible a la presencia del oxígeno en el medio y que al metabolizar el oxígeno por las bacterias que empiezan a crecer, se emite una fluorescencia en el tubo, el cual aumenta proporcionalmente a medida que va generándose dióxido de carbono producto del consumo del oxígeno, mientras que las bacterias contaminantes son inhibidas por la adición de una mezcla de antibióticos denominadas PANTA, que es reconstituido en 15.0 ml de suplemento de crecimiento MGIT para luego agregarlo a cada tubo de MGIT. El equipo mide la fluorescencia utilizando una luz UV de 365 nm, de ese modo la fluorescencia emitida señala el desarrollo del microorganismo en el medio. Los tubos son interpretados como positivos de forma automática a través de algoritmos internos cuando la unidad de crecimiento (UC) alcanza o supera el valor de corte de 75 unidades. La confirmación del resultado se realiza empleando pruebas adicionales las cuales siempre están relacionadas con el resultado del cultivo (Tinción ziehl-Neelsen, placas BHI, prueba inmunocromatográfica). Además, se observa agregaciones bacterianas en cultivos líquidos positivos, a las cuales se les denomina “clumps”^{6, 7, 8}.

❖ **Procedimiento para el cultivo en medio líquido.**

Para el aislamiento de micobacterias en medio líquido, se pueden procesar muestras pulmonares y extrapulmonares. Las muestras pulmonares mucoides (esputo por expectoración) contienen una importante cantidad de bacterias contaminantes de la microbiota, por lo que es necesario realizar el procedimiento de descontaminación estandarizado NaOH-NaLC. En el caso de muestras como fluidos corporales o biopsias que son recolectadas de forma aséptica, se recomienda también su descontaminación, debido a la dificultad que se presenta en mantener las condiciones esterilidad en todo el proceso de recolección, transporte y almacenamiento^{4,7}.

❖ **Incubación de tubos MGIT™.**

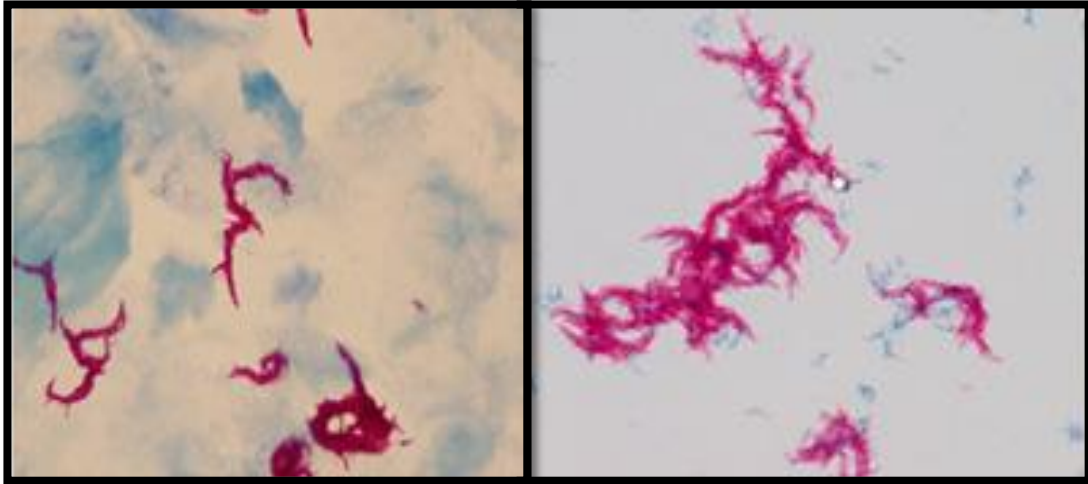
Dado que el sistema MGIT™ se incuba y se monitoriza continua y automáticamente, una vez que se colocan los tubos en una estación, no hay necesidad de retirarlos del equipo. Los cultivos permanecen en sus estaciones, hasta que se señala como “Positivo”, o si no se detecta crecimiento después de 42 días de incubación, se señala como “Negativo”. Si se determina en el equipo que un tubo es positivo, y el frotis es negativo para micobacterias, el tubo puede volver a entrar en el equipo dentro de las 5 horas siguientes a su extracción. Si el tubo es devuelto al equipo dentro de las 5 horas las rutinas de lectura son restablecidas, se mantiene el inicio de la fecha de incubación y se reanuda la monitorización del tubo. Si el tubo no se devuelve dentro de la ventana de reentrada en 5 horas, los datos asociados se eliminan de la base de datos del equipo y el tubo se monitorizará como un tubo recién introducido⁷.

❖ **Realización de la tinción Ziehl-Neelsen desde medio líquido.**

Los tubos que se señalan como positivos en el equipo MGIT requieren un análisis adicional para determinar el tipo de crecimiento. La presencia/ausencia de BAAR en el tubo se evidencia por la tinción de Ziehl-Neelsen. Los tubos deben ser revisados visualmente. El crecimiento del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, se distingue por la formación de flóculos con escasa turbidez, mientras que el

crecimiento bacteriano contaminante tiene un aspecto turbio, además, se le realiza la prueba de la inmunocromatografía para su detección⁷.

Figura 5.- Observación del factor cordonal de micobacterias. Coloración Ziehl-Neelsen (100x).



Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico parte 2 cultivo. Argentina: OPS; 2008.

Gold Standard:

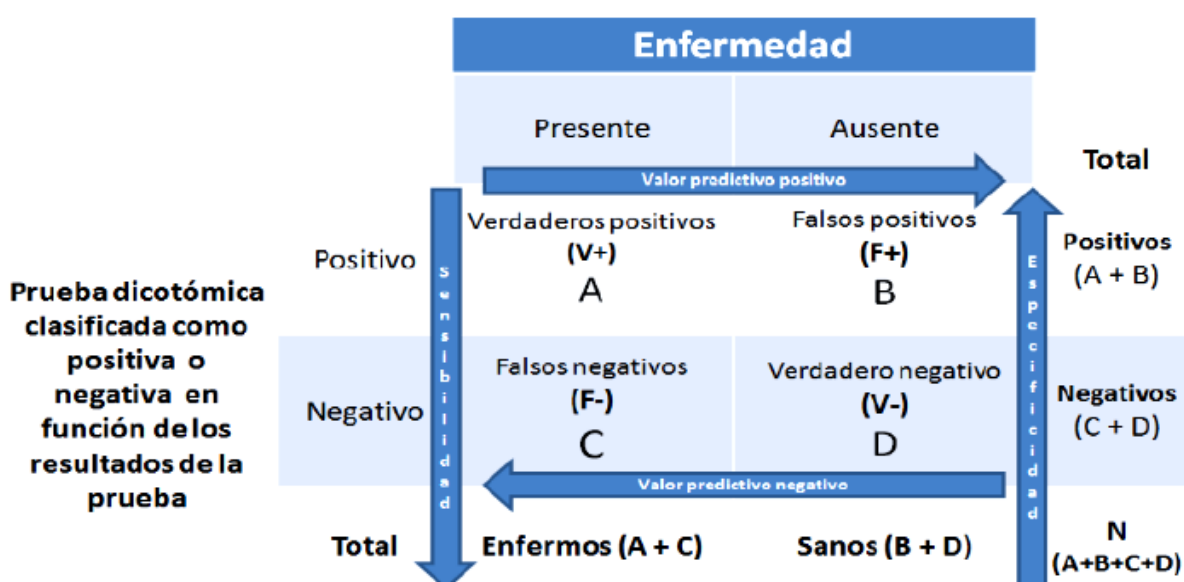
Conocida también como el “patrón de oro” o “prueba de referencia”, el cual se define como aquella prueba diagnóstica capaz de medir correctamente la presencia o ausencia de una enfermedad. Puede consistir en una prueba o puede ser un conjunto de pruebas (Gold standard compuesto). Por lo general es un método que diferencia a las personas enfermas de las sanas y suele presentar inconvenientes como para ser usada rutinariamente (tiempo, costos, difícil procesamiento, etc.). A menudo, se asigna el papel de prueba de oro a aquella que ha demostrado, hasta el momento, un 100% de sensibilidad y especificidad. Los estudios sobre evaluación de pruebas diagnósticas siempre comparan la nueva prueba diagnóstica con el Gold Standard afín de evaluar las ventajas del rendimiento del primero (sencillez, rapidez, etc.). El uso de una prueba de oro es un requisito para evaluar la utilidad diagnóstica de cualquier prueba^{44, 45, 46}.

Evaluación de la validez de una prueba diagnóstica:

La evaluación del desempeño de una prueba diagnóstica puede comenzar por cuantificar la cantidad de errores o aciertos que se cometen al tratar de acertar un diagnóstico a partir de los resultados de una prueba. Es importante diseñar una matriz de decisiones para poder conocer la distribución de la condición frente al resultado de la prueba y a partir de ahí calcular los diferentes indicadores⁴⁷.

Figura 6.- Matriz de decisiones con resultados de prueba diagnóstica.

Fuente: José H Donis. Assessment of the validity and reliability of a diagnostic test. 2012



Entre los principales indicadores tenemos:

Sensibilidad: Es la capacidad de una prueba para identificar correctamente aquellos que tienen la enfermedad. Esta es igual al número de sujetos con un test positivo que tienen la enfermedad, dividido entre todos los sujetos que tienen la enfermedad⁴⁸.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos Positivos}}{\text{Total de enfermos}}$$

Especificidad: Es la capacidad de una prueba para identificar aquellos que no tienen la enfermedad, y es igual al número de sujetos que resultan negativos a la prueba y que no tienen la enfermedad, dividido entre el número de personas que no tienen la enfermedad o están sanos⁴⁸.

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos Negativos}}{\text{Total de no enfermos}}$$

Valor Predictivo Positivo: Es aquella probabilidad condicional en la que los individuos con una prueba positiva tienen realmente la enfermedad⁴⁷.

$$\text{Valor Predictivo Positivo} = \frac{\text{Verdaderos Positivos}}{\text{Total de positivos a la prueba}}$$

Valor Predictivo Negativo: Es aquella probabilidad condicional en la que los individuos con una prueba negativa no tienen realmente la enfermedad⁴⁷.

$$\text{Valor Predictivo Negativo} = \frac{\text{Verdaderos Negativo}}{\text{Total de negativos a la prueba}}$$

La razón de verosimilitud ó *likelihood ratio* (LR) es aquella razón obtenida entre la posibilidad de observar un resultado en los pacientes con la enfermedad en cuestión *versus* la posibilidad de ese resultado en pacientes sin la enfermedad, existen 2 tipos los cuales son⁴⁹:

Razón de Verosimilitud Positiva: Es aquel indicador obtenido al relacionar la fracción de verdaderos positivos (Sensibilidad) con la fracción de falsos positivos (1-Especificidad), y nos indica la probabilidad de tener la enfermedad si el resultado fuese positivo⁴⁸.

$$\text{Razón de Verosimilitud Positiva} = \frac{\text{Sensibilidad}}{(1-\text{Especificidad})}$$

Razón de Verosimilitud Negativa: Es aquel indicador obtenido al relacionar la fracción de falsos negativos (1-Sensibilidad) con la fracción de verdaderos negativos (Especificidad), y nos indica la probabilidad de que un individuo enfermo, obtenga un resultado negativo, en relación con la que un individuo no enfermo o sano, obtenga un resultado negativo⁴⁸.

$$\text{Razón de Verosimilitud Negativa} = \frac{1 - \text{Sensibilidad}}{\text{Especificidad}}$$

Tabla 1 Rangos de valores de *likelihood ratio* y su impacto en utilidad clínica

LR positivo	LR negativo	Utilidad
10	<0,1	Altamente relevante
5-10	0,1-0,2	Buena
2-5	0,5-0,2	Regular
<2	> 0,5	Mala

Fuente:
Molina.

Silva y

Likelihood ratio (razón de verosimilitud): definición y aplicación en Radiología.2017

Índice de Youden: Es aquella medida que se obtiene por la diferencia entre la tasa de verdaderos positivos y la de falsos positivos. En términos más sencillos es la suma de la sensibilidad y especificidad restado de 1. Un buen test debe tener alta esta diferencia. En la teoría es igual a 1 sólo cuando la prueba es perfecta y cuanto más cercana a 1, la prueba diagnóstica es mejor⁴⁷.

$$\text{Índice de Youden} = (\text{Sensibilidad} + \text{Especificidad}) - 1$$

Índice Kappa: Es aquella medida que permite obtener el grado de concordancia o acuerdo entre observadores y/o pruebas, más allá del debido al azar, se empleará para determinar el grado de acuerdo entre los resultados del medio de cultivo líquido BACTEC MGIT 960 con los resultados del medio de cultivo sólido Ogawa-Kudoh. Puede tomar valores entre -1 y +1, mientras más cercano a +1 hay mayor grado de concordancia y mientras más cercano a -1 hay menos grado de concordancia. Además un valor 0 indica concordancia ocurrida por el azar. A continuación se muestra la escala (propuesta por Landis y Koch, 1977) utilizada para expresar el grado de concordancia en el presente estudio⁵⁰.

ESCALA DE MEDICIÓN

COEFICIENTE KAPPA	GRADO DE CONCORDANCIA
0,00	Pobre
0,01-0,20	Leve
0,21-0,40	Aceptable
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Considerable
0,81-1,00	Casi Perfecta

1.6 Hipótesis

Hipótesis General:

- El cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 tiene buen rendimiento en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* de muestras extrapulmonares obtenidas del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

1.7 Variables e indicadores

Variable:

- Rendimiento del medio de cultivo.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	
Rendimiento del medio de cultivo	Es el desempeño o capacidad que tiene una prueba diagnóstica para poder distinguir de manera efectiva la presencia o ausencia de una enfermedad. Generalmente se le compara con una prueba de referencia o Gold standard, buscando determinar si la nueva prueba posee el mismo rendimiento que la de referencia.	Son los resultados numéricos que se obtienen de cada indicador de validez diagnóstica de la prueba a evaluar	Indicador de validez diagnóstica	Sensibilidad (S)	$VP/(VP+FN) = \%$
				Especificidad (E)	$VN/(FN+VN) = \%$
				Valor predictivo (+) (VPP)	$VP/(VP+FP) = VPP$
				Valor predictivo (-) (VPN)	$VN/(FN+VN) = VPN$
				Razón de verosimilitud (+) (RL +)	$S/(1-E) = RL +$
				Razón de verosimilitud (-) (RL -)	$(1-S)/E = RL -$
				Índice de Youden (Y)	$Y = (S+E)-1$

1.8 Definición operacional de términos

Muestra extrapulmonar: Es aquel material biológico extraído de diferentes partes del organismo de una persona, exceptuando al pulmón, con la finalidad de ser analizadas por técnicas de laboratorio con el fin de diagnosticar la enfermedad llamada tuberculosis.

Cultivo líquido BACTEC MGIT 960: Es aquel método automatizado de laboratorio que emplea equipos tecnológicos y un medio de consistencia líquida, que contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis*.

CENEX-HNHU: Es el Centro de Excelencia para el control de la transmisión de la tuberculosis, ubicado dentro del Hospital Nacional Hipólito Unanue, en el distrito del Agustino, Lima-Perú. Brinda la exclusiva atención, diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis para los pacientes de la zona este de Lima.

OPS: Es la Organización Panamericana de la Salud, que forma parte de las Naciones Unidas, y tiene como fin supervisar y planificar políticas que generen la salud y el bienestar de los países americanos.

Rendimiento diagnóstico: Es el desempeño que tiene una prueba diagnóstica cuando se le compara con su Gold standard, con el fin de distinguir entre los individuos que tienen la enfermedad, de aquellos que no la tienen.

CAPÍTULO III: DISEÑO Y MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

Esta investigación es no experimental porque no se manipulan variables para ver su efecto sobre las mismas; es de tipo descriptivo porque solo se han recolectado datos; es retrospectivo porque se revisaron los resultados de años anteriores y finalmente, es de corte transversal porque los datos fueron recolectados una vez en un tiempo específico.

3.2 Ámbito de la investigación

Realizada en el laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del Hospital Nacional Hipólito Unanue, el cual pertenece al CENEX, centro considerado como de referencia nacional para la atención de tuberculosis.

3.3 Población y muestra

➤ Población:

La población de estudio estuvo integrada por todos los resultados de aquellas muestras extrapulmonares procesadas en el Centro de Excelencia para el control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX), ubicado dentro del Hospital Nacional Hipólito Unanue, durante el año 2018.

➤ Muestra:

Al realizar el muestreo no probabilístico por conveniencia, se incluyó los resultados de 208 muestras extrapulmonares, que tuvieron doble muestra y que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión para el presente estudio.

➤ Criterios de inclusión

Se incluyeron muestras extra-pulmonares con:

- Resultado completos (baciloscopía y cultivo).
- Un volumen mayor a los 2ml.
- Dos muestras por duplicado, una sembrada en el cultivo sólido Ogawa-Kudoh y la otra sembrada en el cultivo líquido BACTEC MGIT-960.

➤ **Criterios de exclusión**

- Muestra extra-pulmonar conteniendo sangre o de tipo hemoptoica.
- Muestra extra-pulmonar contaminada con restos alimenticios.
- Muestras extrapulmonares (orina y heces)

3.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada para el presente estudio fue la revisión documental, para lo cual se solicitó la autorización a la jefa del servicio del laboratorio del Hospital Nacional Hipólito Unanue para acceder a la base de datos digital del laboratorio de Mycobacterium y biología molecular, ubicado dentro del CENEX, el cual contiene los resultados de las muestras extrapulmonares procesadas del año 2018. El instrumento utilizado fue una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2013 (Microsoft Office Professional Plus) (Anexo 2) donde se construyó una primera base de datos.

3.5 Plan de procesamiento y análisis de datos

El primer día se recopilaron datos esenciales para el estudio como la edad y sexo del paciente así como antecedentes de tuberculosis; luego se hizo lo propio con los datos de la muestra como volumen, resultados de cultivo y tiempo de crecimiento del microorganismo, distribuyéndolos en tablas de frecuencias y porcentajes así como empleando gráficos de barras

Se empleó el paquete estadístico EPIDAT Versión 3.1 para evaluar el rendimiento del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 frente al Gold standard para el diagnóstico de tuberculosis (Cultivo sólido), donde se obtuvieron los indicadores de validez diagnóstica como la sensibilidad, especificidad, valores predictivos, razones de verosimilitud, índice de Youden. También se halló el grado de acuerdo (análisis kappa) para conocer el nivel de concordancia entre los resultados del cultivo líquido con la prueba de referencia.

Además, se utilizó la prueba de normalidad Shapiro-Wills y la prueba t-student para encontrar si el tiempo de crecimiento del microorganismo en el cultivo líquido difería significativamente del tiempo de crecimiento de la prueba de referencia, empleándose un nivel de significancia $p < 0.05$.

3.6 Aspectos éticos

Nuestro estudio conto con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Nacional Hipólito Unanue (CARTA N°124 – 2019- CIEI – HNHU). Se aseguró la confidencialidad de la información de los resultados de las muestras extrapulmonares provenientes de pacientes atendidos en el hospital empleando el código de identificación que se usa cuando una muestra llega al servicio, manteniendo así la discreción y el anonimato del paciente.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION

3.7 Resultados:

Se recolectaron 208 muestras por duplicado, provenientes de pacientes atendidos en el CENEX-HNHU durante el año 2018. El 62.5% de los pacientes fueron de sexo masculino y el 37.5% del sexo femenino; el promedio de las edades de los pacientes fue de 41.5 ± 26.41 años. Entre los principales antecedentes de los pacientes, se encontró que el 67.8% nunca habían sido tratados por tuberculosis, el 12% ya habían sido tratados y un 20.2% no habían presentado ningún antecedente.

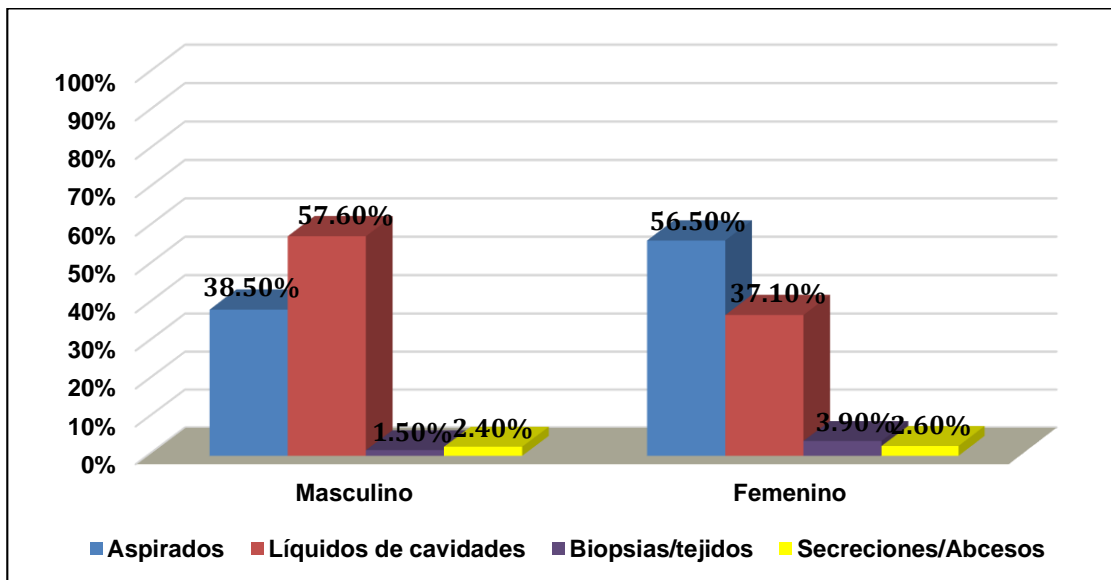
Las muestras tuvieron un volumen medio de 3.63 ± 1.04 ml, con un volumen mínimo de 2 ml y un máximo de 5 ml. Entre las principales muestras representativas, estuvo el Líquido pleural (32.2%) y el Aspirado gástrico (29.3%). (Tabla 1)

Tabla 1.- Tipos de muestras extrapulmonares procesadas en el CENEX-HNHU, 2018.

MUESTRAS	n	%
Líquido pleural	67	32.2
Aspirado gástrico	61	29.3
Aspirado traqueal	30	14.4
Líquido cefalorraquídeo	20	9.6
Líquido ascítico	17	8.2
Aspirado de biopsia cervical	3	1.4
Biopsia de ganglio cervical	2	1.0
Biopsia pleural	2	1.0
Secreción lumbar	1	0.5
Tejido óseo de fémur	1	0.5
Absceso de pierna derecha	1	0.5
Secreción de herida de abdomen	1	0.5
Secreción mucoide	1	0.5
Secreción nasal	1	0.5

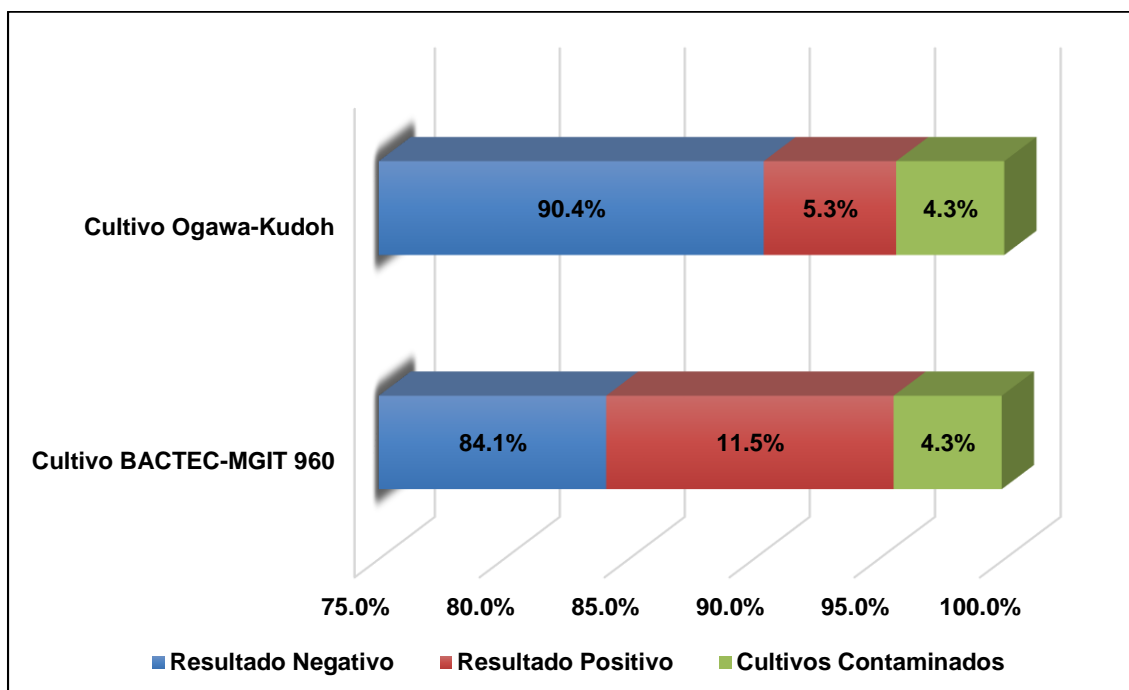
Por otra parte, las muestras de aspirados (56.5%) tuvieron mayor presencia en el género femenino, mientras que las muestras provenientes de cavidades (57.6%) fueron las más frecuentes en el género masculino. (Gráfico 1)

Gráfico 1.- Distribución de las muestras según género de paciente del CENEX-HNHU, 2018.



Producto del sembrado de las muestras, en el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 se encontró que un 11.5% (24/208) mostró emisión de fluorescencia, que significó un indicador de crecimiento para el *Mycobacterium tuberculosis*, mientras que en la prueba de referencia (cultivo Ogawa-Kudoh), un 5.3% (11/208) mostró crecimiento bacteriano, distribuyéndose los resultados en < 20 colonias (1.9%), 1+ (2.4%), 2++ (0.5%), 3+++ (0.5%). (Gráfico 2)

Gráfico 2.- Resultados de cultivo de las muestras extrapulmonares, CENEX-HNHU, 2018.



En la tabla 2 se muestra una tabla de contingencia donde se comparan los resultados del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 con el cultivo sólido Ogawa-Kudoh (Gold standard) para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras extrapulmonares, observándose la presencia de 1 caso falso negativo y 12 casos falsos positivos.

Tabla 2.- Ensayos comparativos entre el medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 con el Gold standard, CENEX-HNHU, 2018.

Cultivo líquido BACTEC-MGIT 960	Cultivo sólido Ogawa-Kudoh		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	10	12	22
Negativo	1	168	169
Total	11	180	191

Al hallar la sensibilidad del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960, se encontró un valor de 90.91% (IC 95%: 69.37%-100.0%), una especificidad del 93.33% (IC 95%: 89.41%-97.26%) y un índice de Youden de 0.84. El resto de resultados como el valor predictivo y la razón de verosimilitud, se muestran en la tabla 3.

Tabla 3.- Características del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 para la detección de *Mycobacterium tuberculosis*.

Prueba diagnóstica	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad	90.91	69.37	100.00
Especificidad	93.33	89.41	97.26
Índice de Validez	93.19	89.36	97.03
Valor predictivo +	45.45	22.38	68.53
Valor predictivo -	99.41	97.96	100.00
Índice de Youden	0.84	0.67	1.02
Razón de verosimilitud +	13.64	7.65	24.30
Razón de verosimilitud -	0.10	0.02	0.63

IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

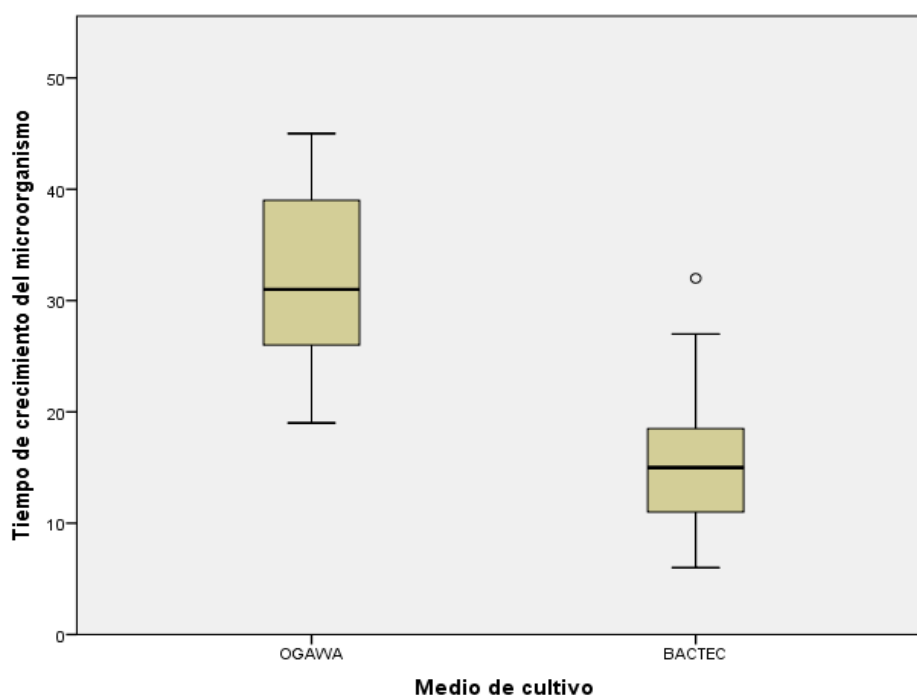
El grado de acuerdo (índice kappa) obtenido fue de un valor de 0.573 (IC 95%: 0.3691-0.7775) que se categoriza según la escala de Landis y Koch como una concordancia Moderada (*Moderate*). (Tabla 4)

Tabla 4.- Valor Kappa entre el cultivo BACTEC-MGIT 960 y su patrón de referencia.

Acuerdo observado:		0.9319	
Acuerdo esperado:		0.8405	
Kappa	EE	IC (95.0%)	
0.5733	0.1042	0.3691	0.7775
Kappa mínimo:		-0.0352	
Kappa máximo:		0.8645	
Prueba de significación:			
Estadístico Z		Valor p	
8.4962		0.0000	

Además, se evaluó el tiempo de crecimiento del microorganismo, encontrándose un valor de 15.33 días como tiempo medio para el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960, con tiempo mínimo y máximo de 6 y 32 días respectivamente, mientras que en la prueba de referencia (cultivo Ogawa-Kudoh) se halló un tiempo medio de crecimiento de 31.82 días. (Gráfico 3)

Gráfico 3.- Diagrama de cajas del tiempo de crecimiento en los medios de cultivo, CENEX-HNHU, 2018.



Los tiempos de crecimiento del microorganismo presentaron distribución normal (Prueba de normalidad Shapiro-Wills, $p > 0.05$), por ello, al aplicar la prueba t-student se encontró diferencia significativa entre el tiempo medio de crecimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 sólido con la prueba de referencia ($p < 0.05$). (Tabla 5)

Tabla 5.- Tiempos de crecimiento de los cultivo líquido y sólido para detección de *Mycobacterium tuberculosis*, CENEX-HNHU, 2018.

	Cultivo BACTEC-MGIT 960				Cultivo Ogawa-Kudoh				Valor p
	$\bar{x} \pm DS$	Mediana	Mín.	Máx.	$\bar{x} \pm DS$	Mediana	Mín.	Máx.	
Tiempo de crecimiento	15.3 ± 6.49	15.00	6	32	31.8 ± 8.29	31.00	19	45	0.000

Valor p obtenido por t-student.

3.8 Discusión:

La tuberculosis sigue siendo una enfermedad importante en nuestro país, por esta razón, se ha venido implementando e innovando nuevas pruebas de detección del Mycobacterium, dentro de las cuales se halla el cultivo líquido que emplea sistemas automatizados para la lectura del crecimiento bacteriano⁴.

El resultado obtenido de la sensibilidad del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en nuestro estudio, fue relativamente bajo frente a otros como Hasan et al. (2013) y Zhao et al. (2019) quienes encuentran sensibilidades del 100% y 91% respectivamente, no siendo así la especificidad, cuyo resultado fue mayor al 90%. Por otra parte nuestro hallazgo de especificidad no fue mayor a valores como el presentado por López et al. (2011), quien reporta especificidad del 94%^{17, 19, 27}.

Así mismo, la sensibilidad y especificidad que obtuvimos con el cultivo líquido no pudo ser mejor al desempeño que obtuvo Quispe et al. (2016), quien halló valores porcentuales de estos indicadores muy cercanos al 100% tanto para la muestra como para el paciente¹⁴.

Diversos trabajos realizados alrededor del mundo, como los de Saini et al. (2017) y Jahan et al. (2019), demuestran el desempeño y tiempo óptimo que tiene el cultivo líquido para aislar Mycobacterium a diferencia del tradicional cultivo sólido, lo cual motivó a que en nuestro trabajo se evaluara el rendimiento del cultivo líquido en base a su capacidad de discriminación diagnóstica^{25, 26}.

Es importante mencionar el porcentaje de microorganismos hallados en el cultivo líquido, el cual fue bajo a comparación de otros estudios realizados por Pedro et al. (2011) en Brasil, donde encuentra cultivos positivos en MGIT con un incremento en el diagnóstico del 28,2% y Smaoui et al. (2015) en el sur de Tunisia, quien obtiene hasta una recuperación bacteriana del 93.8%^{18, 20}.

Si bien es cierto de que el medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 no es de uso común en hospitales que realizan el diagnóstico de tuberculosis, si lo es en centros especializados donde se emplea generalmente para realizar pruebas de susceptibilidad a drogas de primera línea en el tratamiento de tuberculosis. Además, la OMS lo recomienda como un medio de aislamiento primario junto con el medio de cultivo sólido, con el fin de obtener mayor sensibilidad y especificidad en el

diagnóstico, tal como se utilizó en el protocolo del presente trabajo para las muestras extrapulmonares pero que no se pudo evaluar. Solórzano et al. (2009) encuentra que al usar ambos medios de cultivo se puede incrementar los indicadores de diagnóstico, hallando un aumento de la sensibilidad en detectar *Mycobacterium tuberculosis*, de hasta un 95%, tanto en muestras pulmonares como extrapulmonares^{16, 24, 51}.

Vale mencionar la importancia del tipo y calidad de la muestra que se empleó para el cultivo, pues esto puede influir decididamente en la obtención adecuada de los resultados⁵². Para nuestro estudio, las muestras empleadas fueron de tipo extrapulmonar, provenientes de zonas corporales ajenas al sistema respiratorio, que al poseer la característica de baja carga bacilar, pudo afectar a aquellos indicadores de validez que dependen de la prevalencia de casos, como es la sensibilidad del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960.

Se encontró la presencia de un falso negativo en el cultivo líquido, debido probablemente a un error en la lectura del crecimiento bacteriano, dado por el sensor del equipo automatizado, interpretándolo como negativo. Este resultado obtenido fue bueno, pues otros estudios como el de Pang et al. (2016) encuentran mayor cantidad, incluso con tasas de hasta el 5,7% (8) de falsos negativos en las muestras sembradas en el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960, aludiendo al escaso crecimiento y baja emisión de fluorescencia para detectar al microorganismo. Mahomed et al. (2016) por su parte, menciona que otros factores como la temperatura de incubación, la decontaminación de muestras, etc. pueden ocasionar falsos resultados^{53, 54}.

La presencia de falsos positivos al evaluar el rendimiento del medio de cultivo líquido, pudo ser producto de una inadecuada manipulación de las muestras que generó contaminación cruzada pese al tratamiento previo, la presencia de otros tipos de especies de micobacterias así como causas referidas a la recolección de la muestra, el transporte, las condiciones de almacenamiento, etc²³. No se descarta también, que la falta de experiencia del personal en la identificación de cultivos positivos así como en la realización de las pruebas complementarias, hayan influido en la falsa positividad de los resultados del diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis*⁴.

La presencia de falsos resultados en el cultivo líquido no permitió que la prueba diagnóstica sea perfecta, pues su índice de Youden tuvo un valor menor a 1. El Valor Predictivo Positivo (VPP) obtenido fue muy bajo a diferencia de lo encontrado en la literatura por López et al. (2011) y Aparecida de Almeida et al. (2005), siendo una de las causas posibles de haber obtenido dicho valor, a la gran cantidad de falsos positivos obtenidos en el medio de cultivo líquido^{15, 17}.

El Valor Predictivo Negativo fue alto (VPN), esto significó que un resultado negativo en el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 pudo descartar el diagnóstico de tuberculosis con una probabilidad del 99.41%.

El valor de las razones de verosimilitud, índice que es independiente de la prevalencia de la enfermedad, estuvieron considerados como altamente relevante o excelente, ya que la prueba diagnóstica tuvo una Razón de Verosimilitud (+) que indicó la probabilidad de que un cultivo líquido positivo a *Mycobacterium* provenga de un paciente con tuberculosis que de uno sano, mientras que al tener una Razón de Verosimilitud (-) muy cercana a 0, significó que fue más probable que un cultivo negativo provenga de un paciente sano que de uno con tuberculosis^{49,55}.

El grado de concordancia obtenida del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 frente a su patrón de referencia fue de tipo moderada, resultado semejante al hallado por Diriba et al. (2017) donde encuentra también el mismo grado de acuerdo entre el mencionado cultivo líquido con el cultivo sólido ($k=0,59$)²³.

Finalmente, un aspecto resaltante y que puede ser tomado en cuenta para la evaluación de un cultivo microbiológico es acerca del tiempo de crecimiento del microorganismo, que se evidenció en nuestros hallazgos por una detección temprana en el cultivo líquido. Si bien es cierto de que no es un parámetro que se considera dentro de los indicadores de pruebas diagnósticas, es muy importante tomarlo en cuenta, como muchos estudios lo hacen, pues la confirmación microbiológica a tiempo evita el retraso del inicio del tratamiento en pacientes con alta sospecha clínica sobre todo en los pacientes graves^{21, 22, 27}.

3.9 Conclusión:

- El cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 tuvo buen rendimiento en la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* de muestras extrapulmonares obtenidas en el Hospital Nacional Hipólito Unanue.
- Los resultados del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 frente a los resultados de su prueba de referencia (cultivo sólido Ogawa-Kudoh) tuvieron una concordancia moderada.
- Hubo un menor tiempo de crecimiento del microorganismo en el medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960.

3.10 Recomendaciones:

- Ampliar el tamaño y tipo de muestra, incluyendo muestras pulmonares, de esputo así como aquellas que tengan baciloscopía paucibacilar.
- Seguir estrictamente las etapas del protocolo de trabajo para el aislamiento del microorganismo, con el fin de evitar o minimizar la contaminación de los cultivos, lo cual puede interferir en los resultados.
- Realizar también estudios costo-beneficio sobre la implementación del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en los centros de diagnóstico de tuberculosis.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA:

1. Organización mundial de la salud [página en internet]. Who.int:2018.[citado 2oct.2018]disponible:<http://www.who.int/es/newroom/factsheets/detail/tuberculosis>
2. Ministerio de salud. Dirección general de epidemiología. Análisis de situación epidemiológica de la tuberculosis en el Perú 2015[página en internet].lima: ministerio de salud;2016[citado el 29 de octubre del 2018].disponible en : <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3436.pdf>
3. Principales causas de mortalidad por sexo Perú, año 2014 [página en internet].ministerio de salud, oficina general de tecnologías de la información; 2015. Disponible en: <http://www.mimsa.gob.pe/estadisticas/estadísticas//mortalidad/macros.asp?00>
4. Organización Panamericana de la salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico parte 2 cultivo. Argentina: OPS;2008
5. Fernando Alcaide, Jaime Esteban, Julián González, Juan J. Palacios. Procedimientos en microbiología clínica. 9 ed. España: seimc;2005
6. Guía técnica para cultivo de micobacterias en medio líquido; año 2018 [página en internet] Instituto de Salud Pública, departamento de Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile 2018
7. Boletín epidemiológico paulista, año 2011[página en internet] disponible en <http://www.saude.sp.gov.br/resources/ccd/homepage/bepa/2011/bepa91-julho 2011.pdf>
8. Ramírez M, Menéndez A y Noguerado A. Tuberculosis extrapulmonar, una revisión. Rev Esp Sanid Penit 2015; 17: 3-11. URL disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/sanipe/v17n1/02_revision.pdf
9. Chaves W, Buitrago JF, Dueñas A, Bejarano JC. Acerca de la tuberculosis extrapulmonar. Repert med cir. 2017; 26(2):90–97. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reper.2017.04.004>
- 10.W. Arciniegas, D.L. Orjuela. Tuberculosis extrapulmonar: revisión de 102 casos en el Hospital Universitario San Jorge de Pereira. 2000-2004 Biomédica; 26 (2006), pp. 71-80

11. Teran R y De Waard JH. Recientes avances en el diagnóstico de tuberculosis en el laboratorio clínico. eJIFCC 2015; 26(4): 310-325. URL disponible en: <https://www.ifcc.org/media/334117/eJIFCC2015Vol26No4pp310-325.pdf>
12. Fajardo GE, Reyes OM, Varela DE y Medina KF. Tuberculosis pulmonar y métodos diagnósticos laboratoriales actuales. Rev Fac Cienc Méd 2018; 35-44. URL disponible en: <http://www.bvs.hn/RFCM/pdf/2018/pdf/RFCMVol15-2-2018-6.pdf>
13. Parimango Rodríguez D, et al. Comparación de los medios Ogawa y Löwenstein Jensen en el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* de pacientes con tuberculosis pulmonar. Hospital Regional docente de Trujillo, Perú. Revista Médica Vallejana (Perú) 2007;4(1): 24-31
14. Quispe, R, Valle, GA, Huapaya, JA. Manual MGIT™ system for the detection of Mycobacterium tuberculosis: insights from a high TB burden setting. Int J Tuberc Lung Dis 2016; 20: 605–610.
15. Almeida Elisabete Aparecida de, Santos Manoel Armando Azevedo dos, Afiune Jorge Barros, Spada Delurce Tadeu de Araújo, Melo Fernando Augusto Fiuza de. Sputum culture yield: comparing an automated diagnostic system to Löwenstein-Jensen medium in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. J. bras. pneumol. [Internet]. 2005 June [cited 2020 Apr 27]; 31(3): 231-236. URL disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1806-37132005000300009>.
16. Sorlózano-Puerto, Antonio & Soria, Isabel & Roman, Juan & Huertas, Pilar & Soto, María & Piedrola, Gonzalo & Gutiérrez-Fernández, José. (2009). Comparative Evaluation of Three Culture Methods for the Isolation of Mycobacteria from Clinical Samples. Journal of microbiology and biotechnology.
17. López ML, Evaluación de medios de cultivo alternativos para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar. Infectio revista de la asociación colombiana de infectología. 2011; 5 (4): 235-240
18. Pedro HDSP; Susilene María Tonelli Nardi; Mairas Gazzola Arroyo; Marialzabel Pereira Ferreira; Maria do Rosario Assad Goloni; Lucilaine Ferrazoli año 2011 [página en internet]. Avaliação do desempenho dos meios de cultura Ogawa-kudoh e MGIT para isolamento de micobacterias, Estado

- de salud de sao Paulo, Brasil, bepa 2011;8(91):5-13. disponible:<http://www.saude.sp.gov.br/resources/ccd/homepage/bepa/2011/bepa91-2011.pdf>
19. Hasan M, Kishore Munshi S, Banu Momi S, Rahman F, Noor R. Evaluation of the effectiveness of BACTEC MGIT 960 for the detection of mycobacteria in Bangladesh. *International Journal of Mycobacteriology* 2013; 2: 214-219.
 20. Smaoui S, Kammoun S, Marouane C, Slim L and Messadi F. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 TB with Solid Media for Recovery of Mycobacteria from Extrapulmonary Specimens in South Tunisia. *J Med Diagn Meth* 2015, 4(2): 1-5.
 21. Moreira AdSR, Huf G, Vieira MAMdS, Costa PAd, Aguiar F, Marsico AG, et al. (2015) Liquid vs Solid Culture Medium to Evaluate Proportion and Time to Change in Management of Suspects of Tuberculosis-A Pragmatic Randomized Trial in Secondary and Tertiary Health Care Units in Brazil. *PLOS ONE* 10(6): e0127588. doi:10.1371/journal.
 22. Wang G, Yang X, Zhu J, Dong W, Huang M, Jiang G, Zhao L, Qin S, Chen X and Huang H. Evaluation of the efficacy of Myco/F lytic system, MGIT960 system and Lowenstein-Jensen medium for recovery of *Mycobacterium tuberculosis* from sterile body fluids. *Sci. Rep.* 6,37757; doi: 10.1038/srep37757 (2016)
 23. Diriba Getu; Kebede Abebaw; Yaregal Zelalem; Getahun Muluwork; Tadesse Mengistu; Meaza Abyot; Dagne Zekarias; Moga Shewki; Dilebo Jibril; Gudena Kebebe ; Hassen Mulu ; Desta Kassu. (2017). Performance of Mycobacterium Growth Indicator Tube BACTEC 960 with Lowenstein-Jensen method for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis at Ethiopian National Tuberculosis Reference Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes*. 10. 10.1186/s13104-017-2497-9.
 24. Palacios MA, Luna RG, Ornelas PM, Herrera LD, Ortiz PM, Silva MJ. Diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar por cultivo. *Rev. Neumol. Cir. Torax* 2017; 76 (2): 84-90
 25. Saini D, Singh A, Kumar A, Rawat R, Verma RK, Singh DP. Comparison of BACTEC MGIT with conventional methods for detection of Mycobacteria in clinically suspected patients of extra pulmonary tuberculosis in a tertiary care

- hospital. *Int J Res Med Sci.* 2017; 5(8): 3530-3533. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20173556>
26. Jahan H, Hasan K, Khanam RA, Bhowmik D, Tarana MN, Sarker S, Sarwar S. Comparative Study of Solid Culture and Liquid Culture for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *J Shaheed Suhrawardy Med Coll* 2019; 11(1): 28-31.
27. Zhao P, Yu Q y Zhang Y. Evaluación de un sistema de identificación manual para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* en un laboratorio primario de tuberculosis en China. *The Journal of international medical research* 2019; 47 (6),2666–2673. Disponible <https://doi.org/10.1177/0300060519844399>
28. Daniel, T.M. Robert Koch and the pathogenesis of tuberculosis. *Int J. Tuberc Lung Dis*, v. 9, p. 1181-2. 2005
29. Raviglione MC, O'Brien RJ. Tuberculosis. En: Faucio AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editores. *Harrison. Principios de Medicina Interna. Enfermedades Infecciosas: Vol. 1.* 17 a ed. España: McGraw-Hill; 2009. p. 258-72
30. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018 [página en internet]. Disponible: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>
31. Ministerio de Salud -Dirección general de Epidemiología. Carga de enfermedad en el Perú, estimación de los años de vida saludables perdidos 2012 [Internet]. Lima: USAID; 2012. [Citado el 30 de noviembre de 2018] Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/Cargaenfermedad2012.pdf>.
32. Perú, Ministerio de Salud. MINSA invertirá S/142 millones para reforzar lucha contra la tuberculosis. Acceso 30 de noviembre de 2018. Disponible en: <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/>
33. Ministerio de salud - DPCTB. Situación de tuberculosis en el Perú y la respuesta del estado (plan de intervención, plan de acción). Acceso 01 de diciembre de 2018. Disponible en: <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/recursos/20180605122521.pdf>

34. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. 2017. Microbiología Médica. 8va Edición. 2017: Ed. Mosby. pp 218-233.
35. Thwaites G. Section 8: Mycobacterial infections: tuberculosis. En: Farrar J, Hotez Pj, Junghanss T, Kang G, Lalloo D, White N. Manson's tropical diseases. 3ra edition. 2014. 561-598
36. Arévalo AR, Alarcón H, Arévalo DE. Métodos diagnósticos en tuberculosis; lo convencional y los avances tecnológicos en el siglo XXI. Rev. Méd. La Paz 2015. 21 (1): 75-84. URL disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v21n1/v21n1_a11.pdf
37. Keep, N. H. J. M. Cohen-Gonsaud, B. Henderson. Wake up! Peptidoglycan lysis and bacterial non-growth states. Trends Microbiol 2006; 14 (6): 271-276. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.04.003>
38. Gómez VJ, Gómez AJ, Robledo J, Hernández JM. Resistencia a Medicamentos en Mycobacterium tuberculosis: contribución de mecanismos constitutivos y adquiridos. Rev. Salud Pública 2018. 20(4): 491-497.
39. Zander DS, Farver CF. Patología pulmonar. Elsevier, España S.L.U, 2ª ed. p. 203, 2018
40. Vásquez Aneth, Chipana V. Tuberculosis extrapulmonar: Breve Revisión General y Nuevas Alternativas de Diagnostico. Revista conciencia (Bolivia) 2016, (4): 2. URL disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v4n2/v4n2_a07.pdf
41. Peñata A, Salazar R, Castaño T, Bustamante J, Ospina S. Diagnóstico molecular de tuberculosis extrapulmonar y sensibilidad a Rifampicina con un método automatizado en tiempo real. Artículo original Biomédica 2016; 36 (1): 78-89. URL disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3088>
42. Arias F, Gutiérrez R, Gallardo M, Moreno M, Muñoz I, Kohan K, Scappaticcio A, Figueroa J, Díaz Á. Manual de procedimientos técnicos departamento laboratorio biomédico nacional y de referencia para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Chile: ISP; 2019
43. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico. Parte 1: Manual de la actualización en baciloscopía. 2da edición. Lima: ORAS-CONHU: 2018.

44. Camila Medina M. Generalidades de las pruebas diagnósticas, y su utilidad en la toma de decisiones médicas. Rev. Colomb. Psiquiat. 2011; 40(4): 787-797. URL disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-psiquiatria-379-pdf-S0034745014601657>
45. Bravo-Grau S, Cruz JP. Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su Interpretación. Revista Chilena de Radiología 2015; 21(4): 158-164.
46. Duarte GA, Herrera D, Téllez FI. Pruebas diagnósticas: aspectos básicos de lo que el endoscopista debe saber. Endoscopia. 2016; 28(3):128-132. URL disponible en: <file:///C:/Users/JIMMY/Downloads/S0188989316300835.pdf>
47. Xunta de Galicia. Consellería de Sanidade, Dirección Xeral de Saúde Pública. Análisis epidemiológico de datos tabulados en Epidat versión 3.1. Disponible en: <http://dxsp.sergas.es>
48. Donis JH. Evaluación de la validez y confiabilidad de una prueba diagnóstica. Avances en Biomedicina Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica Mérida-Venezuela 2012; 1(2): 73-81.
49. C. Silva Fuente-Alba_ y M. Molina Villagra. *Likelihood ratio* (razón de verosimilitud): definición y aplicación en Radiología. Rev Argent Radiol. 2017;81(3):204-208
50. Cerda J, Villarroel L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. Rev Chil Pediatr. 2008; 79 (1): 54-58.
51. Valencia Torres E. En: Avances en el diagnóstico y la investigación de la tuberculosis en el Perú. Jornada sobre actualización de la tuberculosis. Lima: INS; 2019.p. 1-31.
52. Pandia Fajardo E. Evaluación de una técnica para el diagnóstico presuntivo de *Mycobacterium tuberculosis*. [tesis pregrado]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos: 2006
53. Pang Y, Su B, Zheng H, Zhang Z, Ma A, Wang Y and Zhao Y. Factors Associated with Missed Detection of *Mycobacterium tuberculosis* by Automated BACTEC MGIT 960 System. BioMed Research International 2016: 1-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5972021>
54. Mahomed S, Dlamini-Mvelase NR, Dlamini M, et al. Failure of BACTEC™ MGIT 960™ to detect *Mycobacterium tuberculosis* complex within a 42-day

incubation period. Afr J Lab Med. 2017; 6(1): 537-539. URL disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5516912/>

55. Estrada Álvarez JM. El índice de Youden y su aplicación a la determinación del punto de corte en un test cuantitativo. [tesis de maestría]. España: Universidad de Granada. 2015. pp. 8 y 9

**ANEXO 1
MATRIZ DE CONSISTENCIA**

“Evaluación del rendimiento de dos medios de cultivo para la recuperación de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras extra-pulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú 2018”

<p>¿Cuál es el rendimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en muestras extrapulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú 2018?</p>	<p>• Objetivo General:</p> <p>Evaluar el rendimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en muestras extrapulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú, 2018.</p> <p>• Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 - Hallar el grado de concordancia entre los resultados del medio de cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 con el Gold standard (cultivo Ogawa-Kudoh). - Determinar el tiempo medio de crecimiento del microorganismo en el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960. 	<p>El cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 tiene buen rendimiento en la recuperación de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> de muestras extrapulmonares obtenidas del Hospital Nacional Hipólito Unanue</p>	<p>Rendimiento del medio de cultivo</p>	<p>Estudio experimental, descriptivo, retrospectivo y transversal</p>	<p>POBLACIÓN:</p> <p>La población de estudio estuvo integrada por todos los resultados de aquellas muestras extrapulmonares procesadas en el Centro de Excelencia para el control de la transmisión de la tuberculosis (CENEX), ubicado dentro del Hospital Nacional Hipólito Unanue, durante el año 2018.</p> <p>MUESTRA:</p> <p>Al realizar el muestreo no probabilístico por conveniencia, se incluyó los resultados de 208 muestras extrapulmonares, que tuvieron doble muestra y que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión para el presente estudio</p>	<p>TÉCNICA:</p> <p>Revisión documental</p> <p>INSTRUMENTOS</p> <p>Ficha de recolección de datos (hoja de cálculo de Microsoft Excel 2013) anexo 2.</p>
---	---	--	---	---	--	--

