



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA LABORATORIO CLÍNICO**

Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con  
tuberculosis pulmonar

**Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en**  
**Laboratorio Clínico**

**Autor:**

Tapia Alarcón Jacquelin Fernanda

Tituaña Cujano Franklin Danilo

**Tutor:**

Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez

**Riobamba, Ecuador. 2023.**

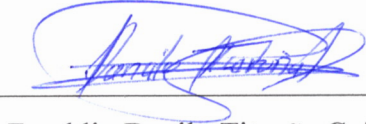
## DECLARATORIA DE AUTORÍA

Yo, **Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón**, con cédula de ciudadanía **0202034476** y **Franklin Danilo Tituaña Cujano** con cédula de ciudadanía **1850547926**, autores del trabajo de investigación titulado: **Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de nuestra entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 23 de mayo del 2024.

  
Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón  
C.I: 0202034476

  
Franklin Danilo Tituaña Cujano  
C.I: 1850547926

## DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez catedrática adscrita a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar bajo la autoría de Jacquelin Fernanda Tapia Alarcon y Franklin Danilo Tituaña Cujano; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 21 días del mes de mayo de 2024.



---

Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez

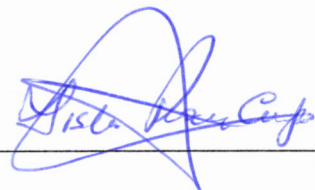
Cédula: 1757161482

## CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

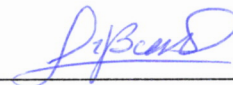
Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar**, presentado por Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón, con cédula de ciudadanía 0202034476 y Franklin Danilo Tituaña Cujano con cédula de ciudadanía 1850547926, bajo la tutoría de Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 23 días del mes de mayo de 2024.

MsC. Yisela Carolina Ramos Campi  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Mgs. Elena Margarita Brito Sanaguano  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**





Dirección  
Académica  
VICERRECTORADO ACADÉMICO



UNACH-RGF-01-04-08.17  
VERSIÓN 01: 06-09-2021

# CERTIFICACIÓN

Nosotros, **TAPIA ALARCON JACQUELIN FERNANDA** con CC: **0202034476** y **TITUAÑA CUJANO FRANKLIN DANILO** con CC: **1850547926**, estudiantes de la Carrera **LABORATORIO CLÍNICO**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; han trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**CULTIVO Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL BACILO DE KOCH EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR**", cumple con el **9%**, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURNITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 21 de mayo de 2024

Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez  
**TUTORA**

## **DEDICATORIA**

Quiero dedicarle esta tesis a mi Familia y a Dios por ser mi pilar fundamental en esta trayectoria. A mis padres Galo Tapia y Lucia Alarcón por todo el esfuerzo y sacrificio que hicieron para apoyarme durante este largo camino. A mis hermanos, especialmente a Gabriela Tapia y a mi compañero fiel que ya no está con nosotros, pero siempre me dedicaron su tiempo y sobre todo su amor infinito, gracias.

*Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón*

A Dios por guiarme en cada paso que doy, por darme fuerzas y sabiduría para poder cumplir mis sueños y metas que me he propuesto, a mis padres y a mi enamorada Yadira Amaguaya que han el pilar fundamental y razón de mi vida que me han apoyado en el transcurso de este camino, y darles gracias por todo su amor confianza y apoyo incondicional para poder seguir creciendo de forma personal y profesional en mi vida. Gracias.

*Franklin Danilo Tituaña Cujano*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a Dios por el día a día. A toda mi familia y amigos que han sido un apoyo fundamental en esta travesía que gracias a sus buenos consejos hoy estoy culminando esta etapa. A la Universidad Nacional de Chimborazo por permitirme ser una estudiante, que aproveché de los conocimientos impartidos por sus docentes y permitirme cumplir la meta de ser una laboratorista. A nuestra tutora María del Carmen Cordovéz que fue parte de este proyecto de investigación, a través de las enseñanzas y constante dedicación que mantuvo.

*Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón*

Agradecer a mi Dios por permitirme llegar a cumplir mi sueño anhelado, a mis padres Mario Tituaña y Leonor Cujano por su apoyo incondicional durante mi etapa de estudios, quienes me inculcaron valores y siempre me estuvieron brindando palabras de aliento para seguir adelante en cada paso que doy y a toda mi familia por su comprensión quienes estuvieron hasta llegar a cumplir mi sueño profesional. Un gran agradecimiento especial a mis docentes y tutora María del Carmen Cordovéz por su colaboración para terminar este trabajo de investigación.

*Franklin Danilo Tituaña Cujano*

## ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	12
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	17
Tuberculosis Pulmonar.....	17
Patogenia.....	17
Histopatología.....	17
Propagación del microorganismo y sitios intracelulares de proliferación.....	18
Primoinfección y Reactivación.....	18
Inmunidad.....	19
Manifestaciones Clínicas.....	19
Epidemiología.....	20
Resistencia clínica.....	21
Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis.....	21
Tratamiento.....	33
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	34
Tipo de investigación.....	34
Población.....	34
Muestra.....	34
Métodos de estudio.....	35
Técnicas y procedimientos.....	35
Criterios de inclusión y exclusión.....	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54
ANEXOS.....	59

## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Descripción de Pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch..... 38

Tabla 2. Comparación del uso del cultivo con otros métodos de diagnóstico..... 45

## RESUMEN

La tuberculosis es una infección pulmonar y extrapulmonar, ocasionada por el *Mycobacterium tuberculosis*. Considerada una de las primeras causas de muerte en el mundo, pese a que es enfermedad tratable y curable. Esta investigación se realizó mediante revisión bibliográfica, con el propósito de recopilar información científica sobre el cultivo y las pruebas de susceptibilidad de esta micobacteria. El presente trabajo se trata de un estudio de tipo descriptivo, documental y no experimental, retrospectivo, donde se revisaron 55 artículos científicos, seleccionando 23, mediante los criterios de inclusión y exclusión. La información fue buscada en bases de datos como Pubmed, Scielo, Google libros, Elsevier, Manuales del MSP, OPS, OMS, Dialnet, Biomédica, Medigraphic y Google académico. Con el análisis y discusión de diferentes autores se les dio respuesta a los objetivos propuestos, demostrándose como pruebas de susceptibilidad más empleadas: Gene Xpert MTB/Rif, Gene Xpert MTB/Rif Ultra, Gene Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDRTBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR* y la *Genotype MTBDR sl*. En cuanto a métodos diagnósticos para la Tuberculosis Pulmonar fueron usados el Xpert MTB/RIF y ULTRA, Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDRTBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR*, *Genotype MTBDR sl*, seguidos de los convencionales: medios de cultivos (sólidos o líquidos) y la tinción de Zhiel Neelsen. Concluyendo que tanto para el aislamiento como para la sensibilidad y resistencia del bacilo tuberculoso fueron aplicadas con mayor frecuencia las técnicas de biología molecular, dejando atrás métodos tradicionales, pues presentan una sensibilidad y especificidad alta, con resultados rápidos ayudando a implementar tratamientos oportunos para los pacientes con TB pulmonar, evitando la aparición de cepas multirresistentes.

**Palabras claves:** bacilo de Koch, tuberculosis, diagnóstico, susceptibilidad, sensibilidad.

## ABSTRACT

Tuberculosis is a pulmonary and extrapulmonary infection caused by *Mycobacterium tuberculosis*. It is considered one of the leading causes of death in the world, although it is a treatable and curable disease. This research was carried out by means of a bibliographic review, with the purpose of gathering scientific information on the culture and susceptibility tests of this mycobacterium. The present work is a descriptive, documentary and non-experimental, retrospective study, where 55 scientific articles were reviewed, selecting 23, by means of inclusion and exclusion criteria. The information was searched in databases such as Pubmed, Scielo, Google Books, Elsevier, MSP Manuals, PAHO, WHO, Dialnet, Biomedica, Medigraphic and Google Scholar. The analysis and discussion of different authors provided answers to the proposed objectives, demonstrating the most used susceptibility tests: Gene Xpert MTB/Rif, Gene Xpert MTB/Rif Ultra, Gene Xpert MTB/XDR, Genotype®MDR-TBplus, Genoscholar TB-NTM+MDR and Genotype MTBDR sl. As for diagnostic methods for pulmonary tuberculosis, Xpert MTB/RIF and ULTRA, Xpert MTB/XDR, Genotype®MDR-TBplus, Genoscholar TB-NTM+MDR, Genotype MTBDR sl were used, followed by conventional methods: culture media (solid or liquid) and Zhiel Neelsen staining. In conclusion, molecular biology techniques were applied more frequently for the isolation, sensitivity and resistance of the tubercle bacillus, leaving behind traditional methods, because they present high sensitivity and specificity, with fast results, helping to implement timely treatments for patients with pulmonary TB, avoiding the appearance of multidrug-resistant strains.

**Key words:** Koch bacillus, tuberculosis, diagnosis, susceptibility, sensitivity.



Firmado electrónicamente por:  
JHON JAIRO INCA  
GUERRERO

Reviewed by:

M.Ed. Jhon Inca Guerrero.

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 0604136572

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El *Mycobacterium tuberculosis* causa Tuberculosis pulmonar (TB) y extrapulmonar. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la misma es una infección que data desde la antigüedad, capaz de provocar daños no sólo a nivel del aparato respiratorio, sino también en un segundo momento, en el tracto gastrointestinal (GI), linforreticular, piel, sistema nervioso central, musculoesquelético, reproductivo e hígado<sup>1</sup>.

La vía de transmisión de esta enfermedad es la respiratoria, mediante estornudos, tos o al momento de hablar, a través de las microgotas de Flügge, que contienen los bacilos tuberculosos. Estos llegan mediante el flujo aéreo hasta los alveolos, donde son captados por células de defensa como los macrófagos que los fagocitan y destruyen, ayudando a evitar su propagación en el organismo. Por otro lado, algunos sobrepasan esta barrera e ingresan en el torrente sanguíneo y ganglios linfáticos por lo que se activan los mecanismos de inmunidad celular para evitar su propagación<sup>2</sup>.

El 87% de los casos de tuberculosis es de tipo pulmonar, donde la inflamación granulomatosa necrosante es la principal patología que se presenta. Comúnmente afecta a personas que presentan algún factor de riesgo tanto intrínseco como extrínseco que puede acarrear la enfermedad, tales como, condiciones de hacinamiento, inmigrantes de países con una alta prevalencia de tuberculosis, menores de edad, trabajadores de la salud, así como aquellas alteraciones de salud en individuos inmunocomprometidos, fundamentalmente los VIH positivos<sup>3</sup>.

El riesgo de contraer tuberculosis está determinado por diversos factores sociales, socioeconómicos de la población e individuales. El programa de enfermedades infecciosas de la OMS, ha documentado el consumo de tabaco, drogas o alcohol como factores que dañan la salud de las personas y aumentan sus posibilidades de contraer TB<sup>4</sup>.

Según la OMS en el 2022, el mayor número de nuevos casos de TB pulmonar se produjo en la región de Asia Sudoriental (46%), seguida de África (23%) y el Pacífico Occidental (18%), es decir, alrededor del 87% se concentra en estas regiones geográficas. Refiere, además, que la mayor incidencia de la enfermedad se encuentra en Bangladesh, China,

Nigeria, Pakistán Filipinas, India, Indonesia y la República Democrática del Congo. En este mismo período 1,3 millones de personas fallecieron por esta causa, considerada la segunda enfermedad que ha causado más muertes a nivel mundial después del COVID 19 y del VIH-SIDA<sup>5</sup>.

En la India, el Programa Nacional de Eliminación de la Tuberculosis (PNET) informó que este país representa la mayor carga mundial con un 19% durante 2021. Con un total de 1.933.381 casos reportados. Este incremento puede atribuirse a diversos factores, como limitaciones en el acceso a la atención médica, diagnósticos tardíos, resistencia a los fármacos y la influencia de la pandemia de COVID-19, que podría haber obstaculizado la búsqueda y detección temprana de casos de TB<sup>6</sup>.

Indonesia tiene la segunda incidencia de TB más alta del mundo y representa el 8,5% de la carga mundial a pesar de los enormes esfuerzos realizados en las últimas dos décadas. Se enfrentó a un importante inconveniente en la detección de este tipo de infección por la COVID 19, pero en el 2020, la detección de casos infectados se redujo un 30% y sólo aumentó un 12% en 2021. Estos datos reflejan un subregistro de enfermos y fallecimientos por esta patología, siendo una de las principales enfermedades infecciosas de este país, afectando a todos los grupos de etarios, fundamentalmente a la población en edad productiva (15-54 años)<sup>7</sup>.

En el 2020 la tuberculosis seguía siendo un problema de salud pública en Estados Unidos, se estima que hay 291 000 casos de diversas formas de la enfermedad. La Covid-19 revierte los avances en la Estrategia Fin de la Tuberculosis, en este año murieron 3 000 personas más a causa de la enfermedad pulmonar que en 2019 y la incidencia aumentó ligeramente<sup>4</sup>.

En las Américas, según la Organización Mundial de la Salud, se evidenciaron avances en la introducción y expansión de las pruebas moleculares rápidas. Se diagnosticaron 4 007 casos de Tuberculosis resistente a la rifampicina o multirresistente (TB-RR/MDR). También en gran parte de la población estudiada se identificó que las cepas con resistencia a las fluoroquinolonas disminuyeron al 29%. Así mismo, se diagnosticaron 210 pacientes con esta enfermedad extensamente resistente (TB-XDR) en 14 países<sup>4</sup>.

En esta región, en el 2020, el 24% de los casos notificados correspondían a personas con diabetes. En 26 países que se notificó esta comorbilidad, los porcentajes más elevados corresponden a México (28%), Guatemala (23%), Estados Unidos de América (23%) y Puerto Rico (22%)<sup>4</sup>.

Por otro lado, América Latina tiene un estimado de 29 000 nuevos casos de tuberculosis en personas con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (10%) y 27 000 muertes por esta enfermedad pulmonar, de las cuales el 29% son personas infectadas por VIH. El 80% de las personas infectadas por TB/VIH se encuentran en Brasil, México, Colombia, Haití, Perú, República Dominicana y Venezuela<sup>4</sup>.

La OMS, refiere que, en el 2020 el 3% de la carga mundial de tuberculosis (9,8 millones) se ubicaba en las Américas, con una incidencia de 29 por cada 100 000 habitantes. Se estimó, además, que 89% de los casos de TB se encontraban en 13 países, siendo la incidencia más alta en Brasil, Perú y México. Por otro lado, 16 países concentran las tasas más bajas; la mayoría están en el Caribe y entre ellos destacan Costa Rica, Bahamas y Curazao<sup>4</sup>.

En México, según datos de la OMS para 2019, hubo entre 23 000 y 37 000 casos nuevos de TB, con un intervalo de 23 por cada 100 000 habitantes. Según cifras oficiales del Programa Nacional de Tuberculosis (PNT) de la Secretaría de Salud de México (SSA) (institución encargada de realizar la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad), se registraron 22 285 personas con este tipo de afección pulmonar (80%), el 28,2% se asociaron a diabetes y un 8,2% a VIH/SIDA, reportándose en hombres el 63% de los casos y 37% en mujeres<sup>8</sup>.

Referente a lo anterior, la mayoría de los pacientes con este tipo de infección se encontraban entre 20 - 64 años y menos del 5% de 0 - 14 años. A los 22 285 casos nuevos, deben sumarse otros 2 163: 746 de reingresos (aquellos que, habiendo iniciado tratamiento de al menos un mes, lo interrumpen sin indicación médica y después retoman el tratamiento anti-tuberculosis), 1156 de recaídas y 261 enfermos nuevos), lo que da un total de 24 448 personas con *Mycobacterium tuberculosis*<sup>8</sup>.

En términos de mortalidad, la Secretaría de Salud (SSA) de México registró en 2017, alrededor de 2006 muertes por tuberculosis (1,6 por 100 000 habitantes). Mientras que la

OMS estimó que el número de muertes para 2019 fue de 2560 (tasa de 2,0 casos por 100 000 habitantes), de los cuales 760 vivían con VIH. Respecto a la tasa de letalidad (número de muertes estimadas/incidencia estimada), la OMS estima que ronda el 9%, con un intervalo del 7 - 11%<sup>8</sup>.

De acuerdo con el boletín anual Tuberculosis 2018 emitido por el Ministerio de Salud de Ecuador, en la Coordinación Zonal de Salud 3 se registró un total de 263 casos confirmados de tuberculosis, de los cuales 81 corresponden a la provincia de Chimborazo, 92 de Cotopaxi, 73 de Tungurahua y por último se identificaron 17 en Pastaza<sup>3</sup>.

En Ecuador, en el 2022, se notificaron 6 872 pacientes con TB, un 11% de coinfección TB-VIH (764 del total de casos), un 2% en menores de 5 años (147 niños) y 890 (13%) en población privada de la libertad. De ellos, se informó la existencia de 465 TB drogoresistente<sup>9</sup>.

Esta enfermedad se registra como una de las 10 primeras causas de mortalidad a nivel mundial; se estima que al menos una tercera parte de la población está infectada por *M. tuberculosis* y un 10% desarrollará la enfermedad en forma activa. La mayoría de los pacientes que presentan una infección tuberculosa tienen síntomas como tos con expectoración purulenta, hemoptisis, pérdida de peso, fiebre o sudores nocturnos<sup>10</sup>.

El *M. tuberculosis* es un bacilo ácido alcohol resistente, que en muchas ocasiones es adquirido por individuos con un sistema inmunológico competente y no desarrollan la enfermedad, presentando entonces, una infección latente que en una situación de supresión inmunológica si puede activarse el microorganismo y desencadenar la tuberculosis<sup>11</sup>.

Dentro de la Ley Orgánica de Salud del Ecuador en el Artículo 9, se menciona que “Corresponde al Estado garantizar el derecho a la salud de las personas, para lo cual tiene, entre otras, las siguientes responsabilidades: Garantizar a la población el acceso y disponibilidad de medicamentos de calidad a bajo costo, con énfasis en medicamentos genéricos en las presentaciones adecuadas, según la edad y la dotación oportuna, sin costo para el tratamiento del VIH-SIDA y enfermedades como hepatitis, dengue, tuberculosis, malaria y otras transmisibles que pongan en riesgo la salud colectiva”<sup>12</sup>.

La tuberculosis a nivel mundial es una de las pocas enfermedades existentes que tiene un tratamiento ya establecido para el control de la enfermedad. La recomendación actual de la OMS para todos los países es la indicación de 4 fármacos administrados en un periodo de 6 a 9 meses, de acuerdo con el siguiente esquema: isoniazida (H), rifampicina (R), etambutol (E) y pirazinamida (Z) durante 2 a 4 meses, y las dos primeras drogas en los 4 meses restantes<sup>4</sup>.

Aunque la enfermedad es tratable y curable, el mal uso y el poco cumplimiento del tratamiento antibiótico han generado resistencia, lo cual ha dado lugar a la aparición de la tuberculosis multirresistente, que es considerada en la actualidad como un problema de salud pública a nivel mundial. Además, el diagnóstico de la tuberculosis presenta cierta dificultad ya que para obtener el resultado de un cultivo hay que esperar 8 semanas de incubación<sup>13</sup>.

El presente trabajo aborda información sobre el cultivo y demás métodos diagnósticos de la TB pulmonar, además de las diferentes pruebas de susceptibilidad para descartar las multidrogoresistencia. Es importante conocer estos aspectos sobre el bacilo de Koch, pues es de vital importancia para llegar a un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno en pacientes vulnerables como aquellos con bajos recursos económicos, hacinamiento, minorías étnicas, migrantes, individuos con alguna comorbilidad como VIH y la Diabetes Mellitus. Así de esta forma se corta la cadena epidemiológica y se le brinda al paciente un mejor control clínico y epidemiológico.

El objetivo principal que tiene el trabajo es investigar sobre el cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar, mediante revisión bibliográfica describiéndolo en 2 acápite:

- Describir las pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, a través de la recopilación de información bibliográfica.
- Comparar el uso del cultivo del bacilo de Koch con otros métodos de diagnóstico.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

El *Mycobacterium tuberculosis* o bacilo de Koch, fue descubierto hace más de un siglo, en 1882, por el premio Nobel de Medicina que le da nombre, Robert Koch, agente causante de la tuberculosis<sup>10</sup>.

El bacilo de Koch tiene forma recta en los tejidos con un aspecto fino las cuales tienen un tamaño de  $0.4 \times 3 \mu\text{m}$ , presentándose de formas cocoides y filamentosas en medios artificiales. Aerobios, con una pared celular abundante en lípidos que le confiere una superficie hidrofóbica lo cual le permite ser resistente a la decoloración, desinfectantes, antibióticos antibacterianos frecuentes, detergentes y además no teñirse con la tinción de Gram; debidos a estas características han recibido el nombre de bacilos ácido-alcohol resistentes, pues solamente pueden colorearse con Ziehl-Neelsen (Anexo 1)<sup>14,15</sup>.

### **Tuberculosis Pulmonar**

#### **Patogenia**

Una persona con TB pulmonar expulsa al bacilo mediante las gotas o microgotas de Flügge (menos de  $25 \mu\text{m}$  de diámetro) a través de la tos, estornudo o simplemente hablar hasta en voz baja y al ser inhaladas por otro individuo pueden llegar hasta los alvéolos en dependencia de su sistema inmunitario. Este comienza a liberar citocinas y linfocinas estimulando a monocitos y macrófagos. Dentro del segundo tipo de célula las micobacterias comienzan a multiplicarse y en ocasiones son destruidas por los mismos, pero en otras sobreviven y luego aparecen en los pulmones (Anexo 2), después de alrededor de 2 meses de la exposición, las lesiones propias de la infección<sup>14</sup>.

#### **Histopatología**

La aparición o inicio y el avance de las lesiones, así como su curación o evolución, se ven afectadas directamente por la cantidad de micobacterias presentes en el inóculo y su posterior reproducción, así como del tipo de huésped<sup>14</sup>.

Existen dos tipos de lesiones a nivel pulmonar:

- ✓ Tipo exudativo: durante este periodo la prueba a la tuberculina se hace positiva. Esta lesión es caracterizada por presentar reacciones inflamatorias agudas con la presencia de

líquido edematoso, células polimorfonucleares (PMN) acompañadas de monocitos alrededor del bacilo TB. Por lo tanto, la lesión afecta principalmente al tejido pulmonar parecido a la neumonía bacteriana. De aquí puede cursar de tres formas una desaparecer por reabsorción de la totalidad del exudado, producir necrosis del tejido masiva o pasar al otro tipo de lesión que es productiva<sup>14</sup>.

✓ Tipo productivo: se presenta como granuloma crónico formado por tres regiones: una zona central con células gigantes multinucleadas conteniendo bacilos tuberculosos, seguida de una media con presencia de células epitelioides pálidas que en ocasiones se organizan en forma radiada y por último una periférica con fibroblastos, monocitos y linfocitos. Posteriormente se evidencia la presencia de tejido fibroso circundante alrededor de la necrosis caseosa o también llamado tubérculo caseoso. Estos pueden romperse y descargar su contenido hacia los bronquios quedando una cavidad que luego se cura por calcificación o fibrosis<sup>14</sup>.

### **Propagación del microorganismo y sitios intracelulares de proliferación**

El bacilo TB se propaga dentro del huésped por diseminación directa, a través de vasos linfáticos, sistema circulatorio, bronquios y el tracto gastrointestinal. En la infección primaria, éste se propaga desde el sitio inicial a los ganglios linfáticos regionales mediante los vasos linfáticos. Los microorganismos se propagan más al ingresar al torrente sanguíneo, y por ende llegan a todos los órganos. Cuando un tubérculo o un ganglio linfático caseificado erosionan una vena puede producirse invasión a la sangre también y si vierte su contenido al bronquio es aspirado extendiéndose a otras partes de los pulmones o ser deglutido llegando al tracto digestivo<sup>14</sup>.

El microorganismo una vez establecido en los tejidos, se encuentran dentro de los monocitos, células reticuloendoteliales y las células gigantes. Este tipo de localización intracelular interfiere con la quimioterapia y contribuye a la persistencia de la micobacteria en el organismo<sup>14</sup>.

### **Primoinfección y Reactivación**

Comúnmente cuando el huésped tiene contacto por primera vez con el bacilo TB, se presenta una lesión exudativa aguda que se disemina rápidamente a vasos y ganglios linfáticos

regionales, la cual puede curar en corto tiempo o el ganglio linfático experimentar una caseificación masiva y terminar como una lesión de Ghon (calcificado) o también hacerse positiva la prueba de la tuberculina indicativa de una respuesta inmune celular<sup>14</sup>.

En la antigüedad la primoinfección solía manifestarse típicamente durante la niñez, sin embargo, en la actualidad, es más frecuente en adultos que carecen de exposición previa al patógeno, es decir, aquellos con una reactividad negativa a la prueba de la tuberculina en la infancia. Este microorganismo durante la primoinfección afecta el pulmón hacia la base, aunque lo puede hacer en cualquier segmento del parénquima pulmonar<sup>14</sup>.

La TB por reactivación se desencadena generalmente por la supervivencia de bacilos tuberculosos latentes presentes en la lesión primaria. Este tipo de tuberculosis se caracteriza por lesiones crónicas en el tejido, formación de tubérculos, caseificación y fibrosis. A diferencia de la tuberculosis primaria, la reactivación implica un mínimo compromiso de los ganglios linfáticos regionales y no se observa caseificación en ellos. Este fenómeno de reactivación, en su mayoría, se inicia en el ápice pulmonar, donde la tensión de oxígeno alcanza su punto máximo<sup>14</sup>.

### **Inmunidad**

Durante la fase inicial de la infección por el bacilo tuberculoso, el individuo desarrolla una respuesta inmunitaria de tipo celular que confiere resistencia al patógeno. Esta respuesta permite localizar, retrasar y limitar la replicación del bacilo, así como reducir su diseminación a través del sistema linfático. Esta protección se atribuye principalmente a la capacidad de los fagocitos mononucleares para ingerir y controlar la multiplicación de los microorganismos, e incluso eliminarlos<sup>14</sup>.

### **Manifestaciones Clínicas**

El bacilo de la tuberculosis puede afectar cualquier parte del cuerpo humano, lo que resulta en una variedad de síntomas clínicos que pueden ser muy diversos. En el cuadro clínico se puede incluir fatiga, debilidad, pérdida de peso, fiebre y sudores nocturnos. La afectación pulmonar (Anexo 2) es común y se manifiesta con tos crónica y en etapas avanzadas hemoptisis<sup>14</sup>.

La tuberculosis también puede afectar otros órganos, como el sistema nervioso central o las vías urinarias, incluso sin síntomas pulmonares evidentes. La diseminación a través del torrente sanguíneo puede provocar tuberculosis miliar, una forma grave de la enfermedad con lesiones en múltiples órganos y una alta mortalidad<sup>14</sup>.

### **Epidemiología**

Si bien la tuberculosis puede manifestarse en primates y en cobayas de laboratorio, el ser humano representa el único huésped natural conocido de esta enfermedad<sup>15</sup>.

Según el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la tuberculosis en 2023, resalta la significativa mejoría en los servicios de detección y manejo de la enfermedad a nivel global durante el año 2022. Se registró un incremento en el número de casos de tuberculosis a nivel mundial, alcanzando aproximadamente 10.6 millones de personas afectadas en este mismo año en comparación al 2021<sup>16</sup>.

Las regiones más afectadas fueron Asia Sudoriental (46%), África (23%) y el Pacífico Occidental (18%), con menor incidencia en el Mediterráneo Oriental (8,1%), las Américas (3,1%) y Europa (2,2%). India, Indonesia y Filipinas, que representaron más del 60% de la reducción mundial en 2021-2021, se recuperaron y superaron los niveles de 2019 en 2022<sup>16</sup>.

En el último informe anual del Ecuador según el Ministerio de Salud Pública en el 2018 reporta un total de 5960 casos en el país, durante este año prevaleciente la tuberculosis pulmonar con un porcentaje de 81.54% de los casos, sin tomar en cuenta las recaídas, fracasos, abandonos y otros. El 18.46% restantes se refleja en la TB extrapulmonar<sup>13</sup>.

Entre los casos nuevos, recaídas y antes tratados, Guayas está situado como una de las primeras provincias en portar esta enfermedad, con un total de 2946 casos confirmados, en segundo lugar 444 registrados en Pichincha, de manera que Chimborazo cuenta con 81 casos ocupando el decimocuarto lugar en la tabla de Dirección Nacional de Estrategias de Prevención y Control<sup>3</sup>.

## **Resistencia clínica**

En términos generales se habla de resistencia cuando el tratamiento pierde parcial o totalmente su eficacia. Desde un punto de vista clínico, el paciente no evoluciona hacia la curación con persistencia o reaparición de los síntomas<sup>17</sup>.

En los últimos años se ha visto la aparición y diseminación de cepas resistentes a múltiples fármacos. Así, se calcula que 480 000 personas desarrollaron una TB multirresistente (MDR-TB) al menos a la isoniacida y a la rifampicina a nivel mundial en el 2014, de los que alrededor del 9% tendrían una resistencia extendida (XDR-TB), al menos a uno de los fármacos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina o amikacina) y una fluoroquinolona, siendo notificado al menos un caso en 100 países<sup>17</sup>.

El hecho de tener una cepa resistente implica cambios en el tratamiento, tanto en el número y tipo de fármacos como en la duración de este. Además, la garantía de curación es menor y la posibilidad de efectos adversos y de secuelas funcionales aumenta<sup>17</sup>.

Para el diagnóstico de sospecha de un caso de tuberculosis con resistencia a los fármacos se tienen en cuenta los siguientes criterios<sup>17</sup>:

1. Persistencia de los síntomas clínicos a los dos meses de tratamiento correcto y continuo.
2. Recaída de la enfermedad poco después de finalizar el tratamiento.
3. Persistencia de cultivos positivos a los cuatro meses de tratamiento o baciloscopias positivas a los dos meses de tratamiento en los países de baja renta donde no se haga cultivo.
4. Historia previa de tuberculosis<sup>17</sup>.

## **Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis**

Para identificar el bacilo de Koch, se realiza principalmente la baciloscopia seguido del aislamiento mediante el cultivo. Se pueden usar otros métodos como radiología, pruebas de laboratorio, reacción de Tuberculina, historia clínica, pero se necesita confirmación de la presencia de *M. tuberculosis*<sup>18</sup>.

En individuos jóvenes con tos productiva, se procederá a la recolección de muestras de esputo, mientras que, en pacientes sometidos a intubación, se realizará un procedimiento de aspirado bronquial o lavado broncoalveolar<sup>19</sup>.

## **Muestras**

Las muestras abarcan una variedad de fluidos biológicos y tejidos, como esputo recién expulsado, líquidos pleurales, cefalorraquídeo o sinovial, solución de lavado gástrico, orina, sangre, además de material para biopsia<sup>14</sup>.

### **Muestras clínicas para la localización pulmonar**

**Muestras expectoración espontánea o esputo:** La muestra se considera óptima debido a su alto desempeño. En nuestro entorno clínico, se sugiere la obtención de dos muestras con fines diagnósticos: una durante la visita inicial (muestra inmediata) y otra en la mañana siguiente, con un volumen mínimo de 2 mL por muestra<sup>20</sup>.

El frasco destinado para la recolección de la muestra de esputo o expectoración debe ser de boca ancha con un diámetro de 50 mm, con una capacidad de 30 a 50 mL para que el paciente tenga la facilidad de depositar la muestra, además debe tener una tapa rosca de cierre hermético que evite derrames, secado y genere aerosoles al momento del transporte o al abrirlo dentro del laboratorio, debe ser de material polimérico translucido con altas resistencias a quiebres para permitir la visualización precisa de la muestra, facilitando la evaluación de su calidad<sup>20</sup>.

Toma de muestra:

Es crucial seleccionar un entorno bien ventilado y privado debido al alto riesgo de transmisión de *M. tuberculosis*. Se debe proporcionar al paciente un envase etiquetado con su nombre y número de identificación, junto con las instrucciones claras para la recolección de una muestra de esputo. Es importante escribir los datos en el envase, no en la tapa, para evitar errores, y utilizar rótulos que no se despeguen o lápiz indeleble<sup>20</sup>.

Se debe instruir al paciente sobre cómo obtener una muestra de esputo, utilizando términos comprensibles y específico con las siguientes instrucciones:

1. Inhale profundamente para llenar completamente los pulmones de aire.
2. Mantenga la respiración durante un breve período.
3. Con un esfuerzo de tos se debe expulsar el esputo, con el objetivo de movilizar las secreciones desde los pulmones.

4. Recoger el esputo en el recipiente designado, procurando que entre toda la muestra.
5. Realizar este proceso dos veces, depositando todas las secreciones en el mismo recipiente.
6. Por último, se debe limpiar el exterior del recipiente con un papel absorbente y lavarse las manos con agua y jabón<sup>20</sup>.

### **Métodos especiales para la obtención de la muestra**

Se debe priorizar la obtención de expectoración espontánea, ya que proporciona muestras de mayor calidad. No obstante, en situaciones en las cuales los pacientes no pueden expectorar, como es el caso de niños, pacientes psiquiátricos o de tercera edad, se pueden emplear métodos alternativos menos eficaces, como la inducción del esputo o el lavado gástrico. Estos procedimientos necesitan equipo especializado y medidas de bioseguridad adicionales, y deben ser realizados por personal capacitado<sup>20</sup>.

### **Secreción broncoalveolar o lavado broncoalveolar**

Previa a la obtención de la muestra, se recomienda realizar baciloscopias en al menos dos muestras espontáneas con el fin de detectar el bacilo sin recurrir a procedimientos invasivos y minimizar los riesgos asociados. La recolección de esta muestra está restringida a médicos especializados y se realiza mediante fibrobroncoscopia<sup>20</sup>.

### **Contenido gástrico destinado preferentemente a la investigación de tuberculosis pulmonar en niños**

La evaluación baciloscópica del lavado gástrico posee una eficacia relativa. Esto se debe a que, por un lado, en niños se encuentran lesiones con una baja carga bacteriana, lo que disminuye la probabilidad de detección. Además, existe la posibilidad de que la muestra contenga micobacterias ambientales provenientes de la ingesta de alimentos, lo que podría generar resultados falsos positivos. Este método se reserva exclusivamente para el diagnóstico y no para el monitoreo del tratamiento debido a su eficacia insignificante (Anexo3)<sup>20</sup>.

### **Baciloscopia**

Una forma rápida y sencilla de obtener un diagnóstico presuntivo de tuberculosis es la microscopia por fluorescencia con auramina-rodamina, la cual es un colorante más sensible

que la tinción de Ziehl-Neelsen que es la técnica más utilizada. Una baciloscopia negativa nunca descarta la enfermedad por lo que siempre debe de llegarse al cultivo donde se obtiene al bacilo para su identificación<sup>14</sup>.

### **Tinción de Ziehl Neelsen**

Busca detectar los bacilos ácido-alcohol resistentes, los cuales tienen la capacidad de resistir la decoloración de la fucsina y el alcohol-ácido. El colorante fucsina, ingresa a la bacteria mediante el fenol y el calor. Las micobacterias, debido a la alta proporción de ácidos micólicos (aproximadamente 60 %) en su pared celular, presentan una superficie externa hidrofóbica que les permite retener la fucsina en gran medida. En este proceso, los BAAR quedan coloreados de rojo sobre un fondo azul, que es proporcionado por el colorante de contraste, el azul de metileno<sup>20</sup>. Para el reporte de resultados verificar el Anexo 4.

### **Cultivo**

El cultivo es una técnica de mayor sensibilidad que la baciloscopia, considerada como prueba diagnóstica de referencia, aunque también requiere más tiempo y es más compleja, por lo que necesita ser realizada en laboratorios de mayor nivel con condiciones de infraestructura y equipamiento más exigentes y a costos más elevados<sup>21,22</sup>. Se realiza en medios sólidos a base de huevo: principalmente Lowenstein Jensen y en medios líquidos: Middlebrook 7H9, Middlebrook 7H10, entre otros<sup>23</sup>.

Los medios de cultivo sólidos muestran un retraso en el crecimiento de las micobacterias en comparación con los medios líquidos. Sin embargo, una vez que se observa el crecimiento, es posible distinguir las colonias con características de *M. tuberculosis*. Con experiencia, es factible determinar con precisión si se ha aislado el bacilo de la tuberculosis. Las colonias de *M. tuberculosis* suelen ser ásperas, carecen de pigmentación y están secas si se ha absorbido adecuadamente la humedad de la muestra y las soluciones empleadas en su procesamiento<sup>24</sup>.

Algunas colonias de *M. tuberculosis* que son resistentes a la isoniacida pueden mostrar una morfología más plana y lisa. En condiciones de alta humedad en el medio de cultivo, las colonias de cualquier micobacteria tienden a aparecer lisas. Por lo tanto, cuando las colonias se desarrollan lentamente, carecen de pigmentación, tienen una morfología lisa, son

pequeñas o presentan brillo, surge la incertidumbre sobre si lo aislado corresponde a una micobacteria ambiental (Anexo5)<sup>24</sup>.

## **Medios Sólidos**

### **Medio sólido Lowenstein-Jensen**

Tras una serie de modificaciones a partir de cultivos simples a base de suero bovino se crearon medios de cultivos idóneos para el aislamiento del bacilo tuberculoso, del cual se destaca principalmente el medio sólido Lowenstein Jensen, enriquecido con yema de huevo, en cuya composición se presenta, el verde de malaquita como un inhibidor del crecimiento de microorganismos que no sean micobacterias<sup>25</sup>, además la glicerina actúa como un estimulante del crecimiento del bacilo a excepción de *M. bovis* ya que será inhibido, para su aislamiento debe ser incubado en aerobiosis a una temperatura de 25 a 37 °C, observar el crecimiento del microorganismo hasta 8 semanas<sup>26</sup>.

Tras haber transcurrido el tiempo de incubación de los cultivos, se deben registrar las observaciones necesarias para su análisis, como el número de días a partir de los cuales se puede apreciar el crecimiento bacteriano (visibilidad de las colonias), generalmente ante un crecimiento rápido de colonias maduras el tiempo transcurrido es de 7 días<sup>27</sup>.

Sin embargo, los cultivos positivos son observables a partir de los 13 a 28 días de incubación, dependientemente del contenido del bacilo sembrado, mientras que un 3% de este tipo de microorganismo registran un crecimiento relativamente lento prolongándose hasta 40 días de incubación<sup>26</sup>.

Así mismo, la positividad influye de acuerdo con el nivel de pigmentación y morfología macroscópica del crecimiento del microorganismo en el medio, de modo que, ante un cultivo positivo las características morfológicas de las colonias son amarillentas, cremosas y rugosas el cual será confirmado mediante la coloración de Ziehl Neelsen a un extendido del mismo<sup>26</sup>.

La intensidad de la positividad debe ser registrada de acuerdo con los parámetros según las normas latinoamericanas para proporcionar una medida estandarizada de la cantidad de colonias presentes en la muestra (Anexo 6)<sup>26</sup>.

### **Middlebrook 7H10 Agar**

Middlebrook y Cohn mejoraron la fórmula del agar ácido oleico-albúmina y obtuvieron un crecimiento más rápido y abundante de la especie *Mycobacterium* en su medio designado como 7H10<sup>28</sup>.

Así mismo, se presenta Middlebrook and Cohn 7H10 Agar con una composición similar a Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol con la particularidad de que se adiciona verde de malaquita para la inhibición de bacterias que no pertenezcan a la especie de *Micobacterium*<sup>28</sup>.

La lectura debe ser efectuada de 5–7 días después de realizar la inoculación y hasta 8 semanas. Para una valorización del crecimiento y pigmentación en este medio se analiza según la intensidad de la positividad de las micobacterias (Anexo 7)<sup>28</sup>.

### **Medios Líquidos**

Como parte de los medios de cultivo líquidos Gardner Middlebrook desarrolló un medio más complejo y eficaz denominado Middlebrook en honor a su contribuyente en las fases de investigación y modificación del mismo, de naturaleza sintética cuya fuente de nitrógeno es la asparagina y su fuente de carbón el glicerol<sup>25</sup>.

### **Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol**

Se establecen medios suplementados como Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol, implicado en el crecimiento de micobacterias, compuesto por nutrientes como: ácido oleico, albumina, dextrosa y glicerol, este último al igual que en el medio sólido inhibe el desarrollo de *M. bovis*. El complejo de sales inorgánicas presentes en este medio proporciona un ambiente inocuo para el crecimiento del bacilo tuberculoso, pues el citrato sódico tras su conversión a ácido cítrico mantiene los cationes inorgánicos necesarios en la solución usada<sup>29</sup>.

Por otro lado, como factores de enriquecimiento se disponen el conjunto de elementos como: dextrosa, albumina bovina, cloruro sódico (aporta electrolitos) y catalasa, siendo esta última la encargada de proteger el desarrollo del microorganismo al destruir peróxidos tóxicos que resulten tóxicos para *Micobacterium*, al igual que la albumina bovina, en función de un

agente protector fija ácidos grasos libres neutralizando la toxicidad mencionada y analizar los cultivos después de 7, 14 y de ser necesario a los 21 días para evaluar el crecimiento y pigmentación<sup>29</sup>.

### **Medio MODS**

El uso del medio de cultivo MODS es una variante del medio de cultivo tradicional Middlebrook 7H9 con la particularidad de que tiene suplementos de crecimiento del bacilo tuberculoso como glicerol, casitonina, ácido oleico, albumina, y catalasa (OADC) y una combinación de antibióticos como: polimixina B, anfotericina B, ácido nalidíxico, trimetoprima y azlocilina que reducen la contaminación del medio<sup>30</sup>.

Sin embargo, este tipo de método es poco usado debido a la complejidad y larga duración durante la preparación del OADC, además de aumentar el tiempo de espera por lo menos en 72 horas<sup>30</sup>.

### **BD BBL MGIT (Mycobacteria Growth Indicator)**

Del mismo modo a base de los componentes del caldo Middlebrook se ocupa un tubo indicador de crecimiento bacteriano BD BBL MGIT, el cual contiene suplementos de antibióticos SIRE (estreptomina, isoniazida, rifampicina y etambutol liofilizados), y un compuesto fluorescente en silicona ubicado en la zona inferior del tubo, el cual presenta sensibilidad al oxígeno disuelto en el caldo, de este modo, ante el crecimiento de los microorganismos y el consumo de oxígeno permite la fluorescencia del compuesto<sup>31</sup>.

Prácticamente este análisis se trata de una comparación de crecimiento de una cepa de *M. tuberculosis* en ausencia y presencia de antibióticos mencionados anteriormente, los cuales son leídos por un equipo de fluorescencia<sup>31</sup>.

El equipo usado mide la fluorescencia presente en el tubo ante la exposición a rayos de luz ultravioleta, cuya lectura es interpretada a base de algoritmos informáticos en el equipo, a partir del cual un resultado positivo se interpreta cuando se alcance un desarrollo bacteriano de aproximadamente  $10^5$ - $10^6$  UFC, o de caso contrario al no presentar ningún tipo de desarrollo bacteriano en un tiempo estimado de 42 días es registrado como negativo<sup>32</sup>.

## **Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos**

La historia de las pruebas de sensibilidad frente a *M. tuberculosis* surge paralela al desarrollo del tratamiento farmacológico específico de la tuberculosis, que se inicia con el descubrimiento de la estreptomina en 1944. La constatación del fracaso que suponían, a largo plazo, las monoterapias revelaron la repercusión que, de cara al control de esta enfermedad, iba a tener: 1) el desarrollo de resistencias por parte de *M. tuberculosis*; 2) la necesidad de disponer de métodos para poder detectarlas lo más precozmente posible; y 3) la eficacia de las estrategias de tratamiento combinado para combatir las. Razones por las cuales se acude a realizar este tipo de pruebas<sup>17</sup>.

## **Métodos convencionales**

### **Método de las proporciones**

Este método creado por Canetti y colaboradores, posteriormente adaptado, cuantifica la proporción de clones resistentes a cada fármaco analizado dentro de una población de bacilos de *M. tuberculosis* hallados en una muestra del paciente<sup>33</sup>.

En su forma más simplificada, se prueba una única concentración crítica de cada antibiótico. Esta concentración se elige de manera que permita prever con la mayor precisión posible la eficacia del fármaco cuando se administra en el tratamiento, según la evaluación clínica o las pruebas indirectas disponibles<sup>33</sup>.

Utilizando un inóculo estandarizado, se contrasta el crecimiento observado en medio de cultivo que contiene cada fármaco con el observado en medio libre de fármaco. Se clasifica el aislamiento como resistente si el porcentaje de clones que permanece viable ante la acción del fármaco es igual o superior al 1%<sup>33</sup>.

Para lograr un crecimiento adecuado de colonias para su posterior conteo, el inóculo se divide en dos diluciones. Cada dilución se siembra en medios de cultivo tanto sin fármacos (control) como con cada fármaco en evaluación. Se recomienda también añadir una tercera dilución exclusivamente en el medio sin fármacos. Esta tercera dilución facilita el conteo de colonias en caso de que el inóculo sea elevado, evitando así repeticiones innecesarias<sup>33</sup>.

Es crucial que el inóculo sea uniforme y que las diluciones y volúmenes sembrados sean precisos para garantizar la precisión de los cálculos realizados. Los medios con agar facilitan una visualización temprana y acelerada del crecimiento, lo que reduce el tiempo de incubación en comparación con los medios basados en huevos<sup>33</sup>.

### **Método de nitrato reductasa**

Una opción rentable para acelerar los resultados de la prueba de sensibilidad en medios a base de huevos implica la adición de nitrato de sodio o potasio. Un resultado positivo se observará tanto en el medio con fármaco como en el medio sin fármaco si el aislamiento es resistente al antibiótico, y únicamente en el medio sin fármaco si es sensible<sup>33</sup>.

Óptimamente, el procedimiento debe llevarse a cabo directamente con muestras recién recolectadas que resulten positivas para bacilos ácido-alcohol resistentes (BK), o tan pronto como se observe crecimiento en el cultivo primario. El uso de muestras o cultivos envejecidos puede ocasionar una disminución en la actividad enzimática, lo que dificultaría obtener resultados interpretables. En tales casos, donde no es viable contar colonias, la comparación se realiza a partir de la intensidad del color de la reacción<sup>33</sup>.

### **Pruebas moleculares**

#### **La prueba Xpert MTB/Rif**

Esta prueba recurre a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real y fue recomendada por la OMS desde el año 2010. Puede identificar simultáneamente la presencia de tuberculosis y resistencia a la rifampicina (MTB-RR). Esta prueba está indicada para utilizarse con muestras de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis (TB) que no hayan recibido tratamiento antituberculoso o que hayan recibido menos de 3 días de tratamiento<sup>34</sup>.

Consiste en un ensayo de diagnóstico in vitro de PCR automatizada, semicuantitativa y en tiempo real, para la detección de fragmentos de ADN del complejo *M. tuberculosis*, así como mutaciones ligadas a la resistencia de rifampicina (RIF), a partir de muestras de esputo o sedimentos de esputo concentrados, con una tecnología de sistema cerrado que disminuye el riesgo de contaminación<sup>35</sup>.

El Xpert MTB/RIF es una prueba PCR automatizada, en tiempo real que con la ayuda de la plataforma tecnológica GeneXpert (Cepheid, Sunnyvale, CA, United States) que reconoce en un solo paso el complejo *M. tuberculosis* y también la resistencia a la rifampicina en el lapso de un tiempo promedio de 2 h con mínima intervención de operarios. Dentro del cartucho acoplado se integran el procesamiento de la muestra, la amplificación y la detección<sup>36</sup>.

Esta prueba es mucho más sensible para el diagnóstico de TB. La sensibilidad del Xpert MTB/Rif en muestras pulmonares de adultos es de 88% para baciloscopia (+), 68% para baciloscopia (-) y 79% en pacientes VIH (+), con una especificidad de 99%. Para la detección de TB-RR su sensibilidad es de 95%, con una especificidad del 98%. En muestras pulmonares de niños su sensibilidad es de 66%, con la misma especificidad de 98%, permitiendo un diagnóstico rápido al ofrecer resultados en 2 horas<sup>37</sup>.

### **Xpert MTB/Rif Ultra**

Su lanzamiento fue en 2017 y la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo recomienda como reemplazo de la prueba Xpert®MTB/RIF en todos los entornos. Tiene el objetivo de aumentar aún más la sensibilidad. El ensayo Xpert MTB/RIF Ultra es una prueba de diagnóstico in vitro de PCR en tiempo real, anidada y semicuantitativa, para la detección de MTBc y de su resistencia molecular a RIF. Es una prueba de diagnóstico en pacientes que no hayan recibido tratamiento antituberculoso<sup>38,39</sup>.

Es una prueba que utiliza la misma plataforma tecnológica de GeneXpert que su predecesor Xpert MTB/RIF. Se basa en una PCR anidada, que presenta varias modificaciones de la PCR convencional, esta expande las secuencias del ADN en dos rondas con dos pares de iniciadores. En una primera fase, se hace una PCR con dos iniciadores externos que amplifica una región extensa del ADN que contiene la secuencia diana; luego, en una segunda fase, este producto de amplificación sirve de molde para una segunda PCR con dos iniciadores internos que amplifican una región interna más pequeña<sup>36</sup>.

La longitud del producto de amplificación de la segunda PCR será de menor tamaño que la de la primera; esta forma de amplificación mejora la sensibilidad y especificidad del examen, también presenta termociclados muchos más rápidos, con mejoras en la polimerasa utilizada

y una cámara para la reacción del ADN que ayuda a utilizar un mayor volumen (50 µL vs. 25 µL), por ende, esto hace que facilite el análisis con una mayor cantidad de material genético. Se logró disminuir el LOD (gold standard) para el diagnóstico, a 15,6 UFC, 8 veces menor que el de Xpert MTB/RIF, con resultados negativos reportados en aproximadamente 60 min y reportes de resistencia en cerca de 90 minutos<sup>36</sup>.

### **Xpert MTB/XDR**

La prueba GeneXpert MTB/XDR, es una prueba PCR en tiempo real utilizada para la identificación de ADN del complejo *M. tuberculosis* extremadamente resistente a fármacos (XDR) en muestras de esputo. Se lanzó en el 2020 Xpert®MTB XDR, para la detección simultánea de mutaciones asociadas con la resistencia a múltiples fármacos antituberculosos de primera y segunda línea o tuberculosis extremadamente resistente a fármacos es una prueba rápida de amplificación de ácidos nucleicos para la detección de la enfermedad y resistencia a los medicamentos<sup>35</sup>.

Esta prueba fue rediseñada para mejorar la cobertura de mutaciones para isoniazida (INH) y diferenciar la resistencia a INH de bajo nivel, a partir de resistencia de nivel superior, identificar la resistencia a la etionamida (ETH), distinguir entre niveles bajos y altos de resistencia a los FLQ e identificar la resistencia cruzada versus la resistencia individual a los SLID. También se ha mejorado la sensibilidad general del ensayo y se ha reducido el tiempo<sup>40</sup>.

### **Ensayos con Sondas en Línea (LPA)**

Las pruebas de amplificación de líneas de sonda (LPA, por sus siglas en inglés) son una serie de pruebas de ADN utilizadas para detectar cepas específicas del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y determinar su resistencia a los medicamentos antituberculosos. Estas pruebas utilizan tiras reactivas y se basan en la tecnología de hibridación inversa del ADN<sup>41</sup>.

Extracción del ADN: este procedimiento consiste en la extracción de material genético de aislamientos de TB en cultivo o directamente de muestras de pacientes. Amplificación mediante PCR múltiple: Se lleva a cabo la amplificación del ADN extraído utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple, lo que permite la generación de múltiples copias de regiones específicas del genoma de *M. tuberculosis*<sup>41</sup>.

Hibridación inversa: Tras la amplificación, se realiza la hibridación inversa, en la cual se hace reaccionar las tiras reactivas con los amplicones obtenidos durante la PCR. Estas tiras contienen sondas específicas que se unen a secuencias determinadas del ADN amplificado. La visualización de la unión (o falta de unión) entre los amplicones y las sondas permite detectar mutaciones asociadas a la resistencia a los fármacos antituberculosos mutaciones<sup>41</sup>.

### **Ensayos con sondas en línea Genotype®MDRTBplus**

Este método de diagnóstico emplea tiras reactivas que contienen regiones moleculares parciales de los genes adheridas sobre ellas, detectando así alteraciones de resistencia a la rifampicina y las principales alteraciones presentes en la resistencia a isoniazida<sup>37</sup>.

Esta técnica se basa en una *PCR* múltiple de punto final que genera diferentes productos de amplificación los cuales, mediante una hibridación reversa, reconocen en forma de bandas sobre la tira las mutaciones génicas más frecuentemente asociadas a la resistencia a isoniazida y rifampicina<sup>37</sup>.

Realizada a partir de muestra directa de esputo tiene una sensibilidad de 95,7% para rifampicina, 95,8% para isoniacida y 95,3% para TB-MDR. La misma prueba molecular a partir de cultivos tiene una sensibilidad de 100% para detectar resistencia a rifampicina, 97,5% para isoniazida y 96,9% para TB-MDR<sup>37</sup>.

### **Ensayos con sondas en línea Genoscholar TB-NTM+MDR**

Esta prueba LPA, no está implementada aún en el Instituto de Salud Pública, pero sirve para detectar resistencia a medicamentos como rifampicina e isoniacida que no solo identifica al Complejo *M. tuberculosis* sino también a otros tipos de micobacterias como *M. avium*, *M. Intracellulare* y *M. Kansasii*. Se puede utilizar en muestras directas de esputo o en cultivos positivos, con una sensibilidad de 98,9% para rifampicina y 61,6% para isoniacida, y una especificidad de 97,3% y 100% respectivamente<sup>37</sup>.

### **Ensayos con sondas en línea Genotype MTBDR sl**

Este es un método de LPA que funciona con la misma tecnología que *Genotype®MDRTB plus*, pero esta identifica las alteraciones más comunes asociadas a la resistencia de fármacos,

aminoglucósidos (AMG) y fluoroquinolonas (FQ), las dos familias de fármacos de segunda línea cuya resistencia determina la presencia de tuberculosis extensamente resistente (TB-XDR). La sensibilidad global para detectar la TB-XDR es cercana al 80% y se puede realizar desde muestra directa y cultivo positivos<sup>37</sup>.

### **Tratamiento**

El tratamiento primario de infecciones por micobacterias es la quimioterapia específica y los fármacos utilizados se encuentran en el Anexo 8. Se sabe que uno de cada 10 personas y uno de cada 10 bacilos de tuberculosis son mutantes espontáneos que son resistentes a la acción de antifímicos de primera línea. Si se utilizan los medicamentos solos es decir independientes, surgen con rapidez las cepas resistentes. Por esa razón, con los esquemas de combinación de fármacos, se obtienen índices de cura mayores del 95%<sup>14</sup>.

Los principales fármacos que se utilizan para combatir la tuberculosis son dos (antifímicos) la isoniazida y la rifampicina. Los otros son pirazinamida, etambutol y estreptomina. Los fármacos de segunda, tercera, cuarta y quinta línea son más tóxicos, menos eficaces o tienen ambas características, y se recurrirá a ellos sólo en circunstancias extremas (ineficacia terapéutica y resistencia a múltiples fármacos)<sup>14</sup>.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA**

### **Tipo de investigación**

El presente trabajo “Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar” fue una investigación de revisión bibliográfica caracterizada por tener un:

- **Enfoque:** cualitativo por que se buscó información de varias fuentes bibliográficas, obteniendo información sobre los medios de cultivo (solidos o líquidos) y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar.
- **Nivel:** descriptivo puesto que se presentó información recopilada de diferentes bases de datos científicas analizadas.
- **Diseño:** documental y no experimental debido a que el trabajo se enfocó en la búsqueda, análisis e interpretación de los datos e información obtenida a partir de la literatura consultada sin manipulación de variables.
- **Secuencia temporal:** el presente proyecto fue de corte transversal porque se llevó a cabo en un período de tiempo determinado y en un bloque único de resultados en artículos científicos desde el año 2014 al 2024.
- **Cronología de los hechos:** fue retrospectivo a partir de las publicaciones sobre el tema estudiado en las diferentes bases de datos bibliográficos.

### **Población**

Luego de aplicar los criterios de selección la población de estudio quedó establecida por 55 fuentes bibliográficas relacionadas con la temática de investigación y, además, publicadas en bases de datos bibliográficas como Pubmed, Scielo, Google libros, Elsevier, Manuales del MSP, OPS, OMS, Revista, Google Académico y de la biblioteca digital de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH) y otras. También se utilizaron operadores booleanos: AND, OR y NOT, los cuales que facilitaron la búsqueda de información específica y excluyeron investigaciones que no aportaban al desarrollo y avance de la investigación.

### **Muestra**

La muestra quedó conformada por 23 revisiones bibliográficas relacionadas con el cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar y

con una vigencia entre 5 y 10 años de ser publicadas y disponibles en las bases de datos seleccionadas, aplicando criterios de inclusión y exclusión.

### **Métodos de estudio**

Se aplicó el método teórico porque se realizó un análisis y síntesis de los artículos científicos, así como libros, manuales, sitios web de diferentes organizaciones internacionales que estén acorde a la temática de investigación.

### **Técnicas y procedimientos**

Técnica: Observación

Procedimiento: Se revisó todas las bases de datos bibliográficas reconocidas internacionalmente, para la recolección y tratamiento de la información descriptivamente.

### **Procesamiento Estadístico**

Se realizó mediante el análisis de contenidos e interpretación de los resultados obtenidos en las búsquedas bibliográficas con la triangulación de información.

### **Consideraciones Éticas**

No existen conflictos bioéticos porque la muestra no fue de origen biológico, en consecuencia, se respetó las normas éticas de la investigación científica. Los resultados científicos fueron empleados con fines no maleficentes.

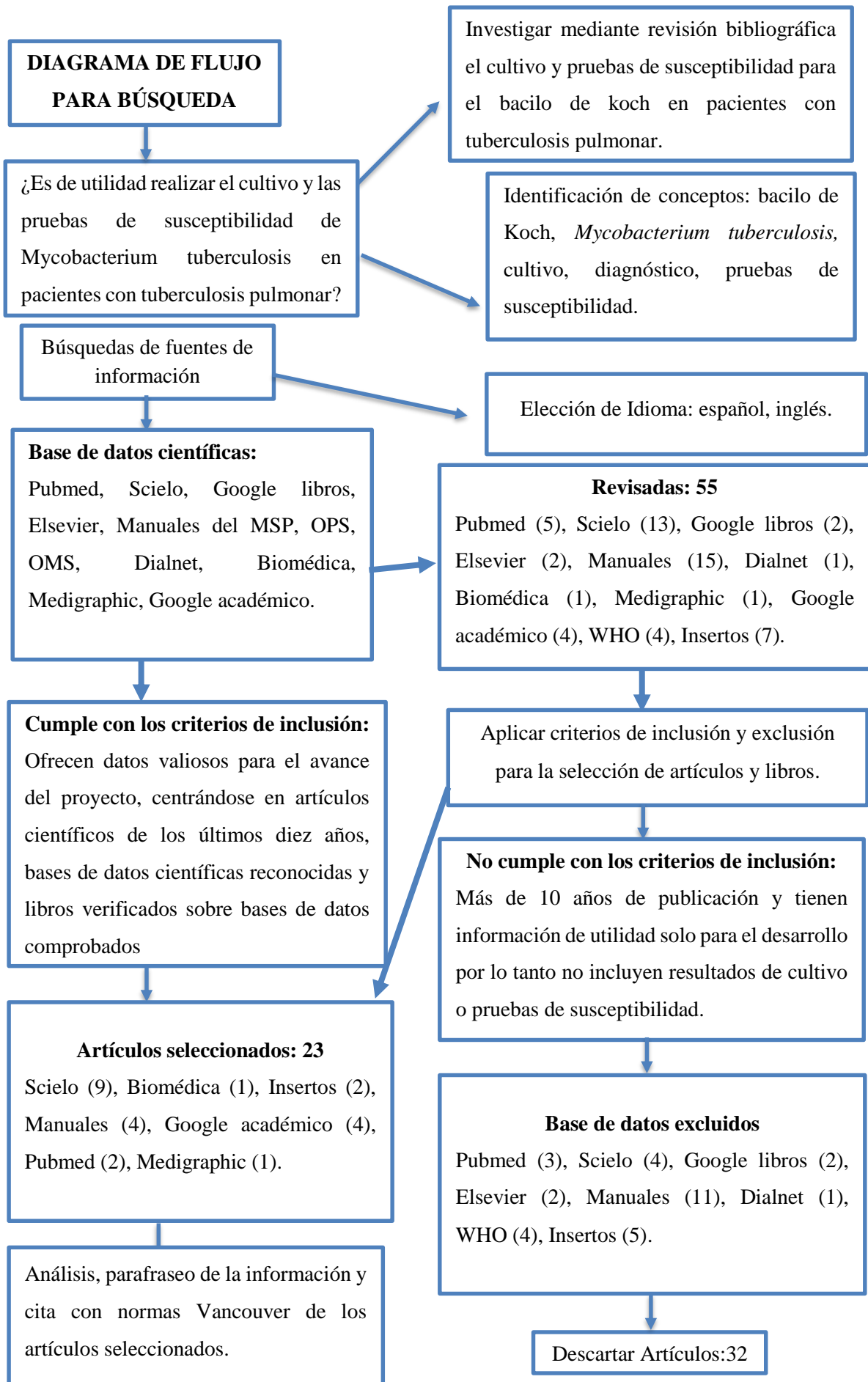
### **Criterios de inclusión y exclusión**

#### **Criterios de inclusión:**

- Artículos científicos publicados en bases científicas reconocidas.
- Artículos científicos publicados desde el 2014 hasta el 2024.
- Artículos y libros que contengan información concreta y directa acerca de las pruebas de susceptibilidad y cultivo de tuberculosis.
- Artículos científicos publicados en español e inglés.

#### **Criterios de exclusión:**

- Artículos científicos que estén publicados en otros idiomas que no sea el español o inglés.
- Artículos que requerían una orden de pago para acceder a la información completa.
- Libros o artículos que no brinden mucha información para el avance de la investigación.



## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Dentro de este capítulo se evidencia el análisis de resultados obtenidos a partir de distintos artículos científicos seleccionados de la base de datos, los cuales se enfatizaron en base a los objetivos específicos con respuesta al objetivo general planteado para darle respaldo a las variables mencionadas.

La muestra se determinó por 23 artículos revisados y analizados durante la investigación, lo cual se describe en dos acápites:

- Describir las pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, a través de la recopilación de información bibliográfica.
- Comparar el uso del cultivo del bacilo de Koch con otros métodos de diagnóstico.

En la tabla 1 se observa la descripción de pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, recopilada mediante información bibliográfica:

Tabla 1. Descripción de Pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch

Nº	Autores	Pruebas	Medicamentos antituberculosos	Susceptibilidad
1	Tuñez et al. <sup>42</sup>	Método de las proporciones (Pruebas convencionales)	<b>Primera línea:</b> Isoniazida Rifampicina Etambutol Estreptomina	En general (86%)
2	López et al. <sup>43</sup>	Método de nitrato reductasa (Pruebas convencionales)	<b>Primera línea:</b> Isoniazida Rifampicina Etambutol Estreptomina	Isoniazida (84,9%) Rifampicina (86,8%) Etambutol (58,8%) Estreptomina (54,5%)
3	González et al. <sup>44</sup>	Método de nitrato reductasa (Pruebas convencionales)	<b>Primera línea</b> Isoniazida Rifampicina Etambutol Estreptomina	Isoniazida (91 %) Rifampicina (92 %) Etambutol (68 %) Estreptomina (63%)
4	Agredo et al. <sup>34</sup>	Gene Xpert MTB/Rif (PCR- Pruebas moleculares)	<b>Primera línea</b> Isoniazida Rifampicina	Isoniazida (94,2 %) Rifampicina (78,8 %)

			Etambutol	Etambutol (25 %)
5	Estévez D. <sup>35</sup>	Gene Xpert MTB/Rif (PCR-Pruebas moleculares)	<b>Primera línea</b> Isoniazida Rifampicina	Ambos con un (95%)
6	Kay A. <sup>38</sup>	Gene Xpert MTB/Rif Ultra (PCR)	<b>Primera línea</b> Rifampicina	Rifampicina (75,3%)
7	Cao et al. <sup>40</sup>	Gene Xpert MTB/XDR (PCR)	<b>Primera línea</b> Etionamida Isoniazida	Etionamida (97,3%) Isoniazida (91,4%)
			<b>Segunda línea</b> Kanamicina Amicacina Capreomicina	Kanamicina (98,1%) Amicacina (99%) Capreomicina (70%)

			<b>Fluoroquinolonas</b> Ofloxacino Levofloxacino Moxifloxacino Gatifloxacino	En general (98,5%)
8	Arias et al. <sup>37</sup>	Ensayos con Sondas en Línea (LPA) <i>Genotype®MDRTBplus</i>	<b>Primera línea</b> Rifampicina Isoniacida	Rifampicina (95,7%) Isoniacida (95,8%)
		Ensayos con Sondas en Línea (LPA) <i>Genoscholar TB-NTM+MDR</i>	<b>Primera línea:</b> Isoniacida Rifampicina	Isoniacida (61,6%) Rifampicina (98,9%)
		Ensayos con Sondas en Línea (LPA) <i>Genotype MTBDR sl</i>	<b>Segunda línea</b> Amicacina Kanamicina	Es cercana al (80%)

			<b>Fluoroquinolonas:</b> Ciprofloxacino Ofloxacino Levofloxacino Moxifloxacino Gatifloxacino	
9	Símboli et al. <sup>45</sup>	Ensayos con Sondas en Línea (LPA)  <i>Genotype MTBDR sl</i>	<b>Segunda línea:</b> Amicacina Kanamicina	En general (86%)

**TB-NTM+MDR:** (Multi-resistencia a fármacos)

**MTB/XDR:** (Tuberculosis Extensamente Resistente)

**LPA:** Detección de resistencia a medicamentos de primera y segunda línea con sondas de ADN en tiras de nitrocelulosa.

## Discusión

La tuberculosis ha sido uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, puesto que no sólo se trata de saber si un paciente padece esta enfermedad mediante pruebas de diagnóstico, sino que también se deben realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, con el fin de identificar resistencia bacteriana a los medicamentos Cao et al.<sup>40</sup>

En muchas ocasiones la bacteria causante de esta afección respiratoria desarrolla mutaciones y puede adquirir resistencia a fármacos antituberculosos de primera, segunda línea y a las fluoroquinolonas. El tamizaje adecuado permite que el paciente pueda recibir un tratamiento eficaz, razón por la cual se han investigado varias pruebas según González et al.<sup>44</sup>

En la actualidad los métodos convencionales se han venido remplazando conforme avanza la tecnología, con el único objetivo de entregar resultados en el menor tiempo posible, es por eso por lo que en el presente trabajo de investigación se utilizaron fuentes bibliográficas antiguas para describir los métodos convencionales.

Tuñez et al.<sup>42</sup>, manifiestan que el método de las proporciones se puede realizar a partir de dos medios de cultivo sólidos como es el Löwenstein-Jensen o en el medio de base de agar 7H10, pero el más utilizado es el primero, por las características que presenta cada uno de estos como el tiempo de resultados y la sensibilidad que este presenta, con una susceptibilidad del (86%). Refieren, además que, a los mismos, se les puede agregar concentraciones específicas de antibióticos para realizar pruebas de susceptibilidad y resistencia a los antibióticos, pudiendo obtener resultados desde los 28 a 42 días.

López et al.<sup>43</sup> en su investigación realizada menciona que para identificar la susceptibilidad del bacilo de Koch a través del método de las proporciones y nitrato reductasa, se usan las mismas concentraciones de los antibióticos para la realización del antibiograma y para identificar la resistencia - sensibilidad a medicamentos antituberculosos: 0,2 µg/ml para isoniazida, 40 µg/ml para rifampicina, 2 µg/ml para etambutol y 4 µg/ml para estreptomina.

Este autor concuerda con Gonzales et al.<sup>44</sup> y Tuñez et al.<sup>42</sup>, en este tipo de concentraciones de los medicamentos. Por otra parte, estas técnicas sirven para verificar la resistencia a los antibióticos de primera línea.

Según González et al.<sup>44</sup>, cita que en el método de nitrato reductasa se utiliza de igual forma que el Löwenstein-Jensen, pero este tiene un grado más de complejidad, ya que se llega a utilizar el nitrato de potasio (1.000 µg/ml) para mejorar la técnica, trabajando con una escala de 1.0 McFarland y una dilución de 1:10 en agua destilada. Teniendo una sensibilidad y especificidad mayor al 90% y con una optimización del tiempo de 7 a 14 días para la interpretación de resultados, con susceptibilidad del 91% para Isoniazida y 92% a Rifampicina.

Símboli et al.<sup>45</sup> nos da a conocer que, gracias a los avances tecnológicos del siglo XXI, el área de salud se ha visto influenciada de una forma positiva en lo que es el diagnóstico y pruebas de susceptibilidad de TB pulmonar. Las pruebas moleculares son una de las más utilizadas en la actualidad.

Estas sirven para analizar la susceptibilidad antimicrobiana del bacilo de Koch. Presentan diferentes características muy importantes como es el tipo de muestra, sensibilidad, especificidad, tiempo de resultados y la resistencia a los diferentes tipos de medicamentos, siendo las pruebas más utilizadas la GeneXpert con sus diferentes modelos y los Ensayos con Sondas en Línea (LPA), de acuerdo a lo descrito por Arias et al.<sup>37</sup>

Agredo et al.<sup>34</sup>, mencionan que la prueba Xpert MTB/Rif se puede trabajar con muestras directas y cultivos ofreciendo resultados en un tiempo límite de 2 horas con una sensibilidad y especificidad que varía según el tipo de muestra. Esta prueba de susceptibilidad sólo va a identificar la resistencia a medicamentos de primera línea como la Isoniazida que obtuvieron un 94,2 %. Mientras Estévez D.<sup>35</sup>, en su investigación realizada con este mismo método logró obtener similar susceptibilidad a los fármacos antituberculosos (95%).

Sin embargo, Kay A.<sup>38</sup>, expone que el método Xpert MTB/Rif Ultra, no va a presentar grandes cambios en comparación con el Xpert MTB/Rif, en lo único que mejoró este método fue en el límite de detención de acuerdo con las unidades formadoras de colonias (UFC).

Cao et al.<sup>40</sup>, en el 2020, propone un nuevo método mejorado y más complejo que los anteriores, el Xpert MTB/XDR, que permite la detección de la resistencia antimicrobiana de fármacos de primera y segunda línea, así como las fluoroquinolonas con un tiempo para la

verificación de resultados en 90 minutos. Éste al igual que los anteriores tienen la facilidad para trabajar con muestras directas y cultivos, presentando una sensibilidad >94% y una especificidad del 100%, mucho mejor que los métodos anteriores.

Al igual, Arias et al.<sup>37</sup>, expresan que los métodos moleculares Genotype®MDRTBplus y Genoscholar TB-NTM+MDR, son pruebas muy utilizadas en la actualidad ya que, están diseñadas para trabajar diferentes tipos de muestras y también para la identificación de medicamentos antituberculosos de primera línea, permitiendo así la detección de resistencia a la rifampicina (R) y a la isoniazida (H), debido a que identifica mutaciones específicas en la región del gen *rpoB*, que abarca desde el codón 505 hasta el codón 533 en el primero y en el segundo fármaco en el promotor *inhA* (ubicado entre los nucleótidos -16 y -8 en dirección 5') y en regiones genómicas de *katG*, específicamente en el codón 315.

La prueba molecular Genotype MTBDR sl, referida por Símboli et al.<sup>45</sup> y Arias et al.<sup>37</sup>, se basa en identificar la susceptibilidad a medicamentos de segunda línea y fluoroquinolonas. Diseñada también detectar resistencia a antibióticos específicos de segunda línea utilizados en el tratamiento de la tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) y extensamente resistente a los medicamentos (TB-XDR), pero además identifica mutaciones genéticas en estos tipos de cepas.

En la tabla número 2 se presenta la comparación del uso del cultivo del bacilo de Koch con otros métodos de diagnóstico:

Tabla 2. Comparación del uso del cultivo con otros métodos de diagnóstico

N°	Autor	Método diagnóstico			Tiempo de respuesta	Sensibilidad	Especificidad
		Medios de cultivo	Baciloscopia	Pruebas Moleculares			
1	Salcedo et al. <sup>46</sup>	Medio de Löwenstein-Jensen (Cultivo sólido)			8 semanas  Cultivos positivos 13 a 28 días	100%	98,7%
		Medio MODS (Cultivo líquido)			7 a 14 días	100%	100%
2	Becton, Dickinson and Company <sup>28</sup>	Middlebrook 7H10 Agar (Cultivo sólido)			7 a 14 días hasta 21	82%	100%
3	Carrasco & Cols. <sup>47</sup>	Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol (Cultivo líquido)			5 a 7 días después de la inoculación  1 vez por semana	90%	90%

					durante un máximo de 8 semanas		
4	Fernández et al. <sup>48</sup>	Medio MODS (Cultivo líquido)			7 a 14 días	95%-98%	96%-100%
5	Bordón et al. <sup>32</sup>	BD BBL MGIT (Cultivo líquido con lectura automatizado por fluorescencia)			Detección rápida (<1h). Cultivos negativos hasta 42 días.	>95%	>95%.
6	Flores et al. <sup>49</sup> Jaramillo et al. <sup>50</sup>		Tinción Ziehl-Neelsen (Baciloscopia)		<2 horas	80%	97.5%
7	Macero et al. <sup>35</sup> Martínez et al. <sup>51</sup>			Xpert MTB/RIF Prueba molecular	<2 horas	95%	98%
8	Rodríguez et al. <sup>36</sup>			Xpert MTB/RIF Prueba molecular	<2 horas	97%-99%	100%

9	Rochem Biocare <sup>52</sup> Baquero et al. <sup>53</sup>			Xpert MTB/XDR (Extensamente resistente) Prueba molecular	<90 minutos	>85%	100%
10	Arias et al. <sup>37</sup>			Xpert MTB/Rif Ultra Prueba molecular	60 a 90 minutos	88%	96%
				Genotype®MDRTBplus (v 2.0) Prueba molecular- (LPA)	3 días	100%	100%
				Genoscholar TB- NTM+MDR (Multi- resistencia a fármacos) Prueba molecular- (LPA)	3 días	90,6%	100%

11	Hain Lifescience <sup>54</sup>			Xpert MTB/Rif Ultra Prueba molecular	60 a 90 minutos	88%	96%
12	Alvis et al. <sup>55</sup>			Genotype MTBDR s/ Prueba molecular-(LPA)	3 días	56%-100 %	21%-100 %

**MODS:** (Observación microscópica de la sensibilidad a los fármacos)

**TB-NTM+MDR:** (Multi-resistencia a fármacos) **MTB/XDR:** (Tuberculosis Extensamente Resistente)

**LPA:** Detección de resistencia a medicamentos de primera y segunda línea con sondas de ADN en tiras de nitrocelulosa.

## Discusión

Diagnosticar la tuberculosis es un gran desafío en el campo de la salud pública, lo cual ha llevado a desarrollar diferentes métodos para la determinación del bacilo de Koch, en el área de microbiología. El uso de cultivos ha sido considerado durante mucho tiempo como el estándar de oro en el diagnóstico de esta enfermedad por ser el más rentable y sensible, sin embargo, su principal limitación radica en el prolongado tiempo que se requiere para obtener resultados, lo que puede retrasar el inicio del tratamiento y aumentar el riesgo de transmisión de la enfermedad.

Otro método de diagnóstico para el *Mycobacterium tuberculosis* es la tinción de Ziehl-Neelsen, que proporciona resultados más rápidos que el cultivo, pero pueden ser menos sensibles, debido a limitaciones humanas, puesto que el conteo celular se debe realizar en al menos 100 campos. Sin embargo, las pruebas moleculares tienen mayor sensibilidad y especificidad, aunque su principal limitante son los costos elevados que presentan, pero a la vez son menos sensibles en muestras con una baja carga bacteriana<sup>50</sup>.

Para Flores et al.<sup>49</sup> y Jaramillo et al.<sup>50</sup>, la coloración de Ziehl-Neelsen en extendido o frotis presenta una sensibilidad del 80% siendo así la técnica menos apropiada, pero es recomendada por la OMS y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias en laboratorios que no pueden implementar pruebas moleculares debido al bajo costo para su implementación con una buena especificidad en nuestro medio y con un entrenamiento relativamente simple.

Por otro lado, Flores et al.<sup>49</sup>, afirman que una de las limitaciones de la baciloscopia es su baja sensibilidad en la detección, ya que exige una concentración mínima de bacilos por muestra de 5 000 a 10 000 bacilos/mL para obtener un diagnóstico positivo. Esta condición conlleva a que un porcentaje variable de casos de tuberculosis (entre 30-50 %) no sean bacilíferos, lo que implica que un resultado negativo en la baciloscopia no descarta la presencia de la enfermedad.

Así también, Salcedo et al.<sup>46</sup>, en su estudio concluyen que, el medio de cultivo sólido generalmente utilizado Lowenstein Jensen tiene una sensibilidad del 100% y especificidad de 98,7% con una limitación de tiempo de respuesta que puede requerir varias semanas, sin

embargo, Carrasco y cols.<sup>47</sup>, junto con Flores et al.<sup>49</sup>, indican que los cultivos en medio líquido tienen una sensibilidad más alta para el crecimiento de *M. tuberculosis* (positividad aumentada hasta un 20% más) y un reducido tiempo de detección (10-14 días con respecto a los sólidos que tardan 8 semanas).

En el estudio realizado por Salcedo et al.<sup>46</sup>, determinaron que al ser MODS un método de cultivo en medio líquido, tiene un crecimiento mucho más rápido que en Lowenstein Jensen. MODS es más rápido, sumamente sensible, efectivo y sobre todo más económico que el medio sólido; cabe destacar que ha sido reconocido como una prueba válida para el diagnóstico de TB por la OMS, además, sirve para determinar la sensibilidad a las drogas.

Fernández et al.<sup>47</sup> y Salcedo et al.<sup>45</sup>, determinan que el medio de cultivo líquido MODS presenta una sensibilidad (95-98%) y una especificidad (96-100%) mayor con respecto de los demás, pero el inconveniente que tiene es la tasa de contaminación que parece ser más alto en comparación con los sólidos. Por tal motivo la OMS recomienda su uso en paralelo para el aislamiento primario de micobacterias<sup>47</sup>.

Becton, Dickinson and Company<sup>29</sup>, Carrasco y cols.<sup>47</sup> dedujeron que los medios de Middlebrook rara vez se utilizan de manera rutinaria en países con recursos limitados debido a su alto costo; tiene una duración corta y una mayor tasa de contaminaciones al contener una concentración mínima de verde de malaquita. Además, junto a Fernández et al.<sup>47</sup> determinan que el almacenaje es delicado ya que un exceso de temperatura o exposición a la luz puede deteriorar el medio y estimular la producción de formaldehído que es tóxico para las micobacterias, por lo que su elección depende del propósito del cultivo.

Bordón et al.<sup>32</sup>, resaltan que el medio de cultivo líquido BD BBL MGIT tiene una capacidad de detectar cargas bacterianas más bajas en comparación con los sólidos, lo que resulta en una mayor tasa de detección en pacientes con infecciones de baja intensidad o con muestras clínicas escasas. Los sistemas automatizados de lectura de MGIT pueden realizar un seguimiento preciso del crecimiento bacteriano utilizando indicadores de fluorescencia, pero puede ser más costoso de implementar, así también, la disponibilidad de equipos especializados y personal capacitado puede ser un desafío en entornos con recursos limitados, lo que puede restringir su uso en ciertas regiones.

En contraste, otros investigadores, como Jaramillo et al.<sup>50</sup>, consideran que utilizando una técnica molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se puede obtener una sensibilidad del 95% y una especificidad del 98%, lo que significa que la tasa de resultados falsos positivos y negativos puede ser muy baja, destacando la rapidez junto a la especificidad en comparación con el cultivo que puede tardar semanas.

Desde el punto de vista de Arias et al.<sup>37</sup> *Xpert MTB/Rif* es mucho más sensible que la baciloscopia para el diagnóstico de la TB, pero su sensibilidad es menor que el cultivo tanto sólido como líquido, no obstante, la Organización Mundial de la Salud avala y recomienda para la detección de TB-RR (TB Resistencia a la RIF). Macero et al.<sup>35</sup> y Martínez et al.<sup>51</sup>, dentro de su investigación obtuvieron una sensibilidad y especificidad similar al estudio realizado por Rodríguez et al.<sup>36</sup>, concluyendo así que, en países con baja prevalencia de TB se podría esperar un beneficio económico, siempre y cuando la preocupación por los falsos negativos fuera realmente baja, en efecto se podrían disminuir los tratamientos anti-TB iniciados empíricamente.

En la prueba molecular *Xpert MTB/RIF Ultra* se han realizado ajustes para lograr bajar el límite de detección a 10 UFC/mL, un nivel que es similar o mejor que el del cultivo líquido según Arias et al.<sup>39</sup>. Mientras que Rodríguez et al.<sup>38</sup> y Baquero et al.<sup>53</sup>, establecen que, aunque no reemplazan al cultivo como técnica de referencia, tiene una sensibilidad próxima a éste, alta especificidad y permiten obtener resultados en poco período de tiempo (entre 60 y 90 minutos). Es la técnica más extendida, que permite detectar simultáneamente la resistencia a la rifampicina.

La (OMS) sugiere la utilización del *Xpert MTB/RIF* y *Xpert Ultra* como pruebas diagnósticas iniciales en adultos y niños que presenten signos y síntomas de esta enfermedad<sup>45</sup>.

Como plantea Baquero et al.<sup>53</sup>, en su investigación, la prueba de referencia para el estudio de la sensibilidad a los fármacos antituberculosos es el cultivo, sin embargo, se han desarrollado pruebas moleculares rápidas para la detección de mutaciones asociadas a

resistencia que tienen la gran ventaja de su rapidez, alta sensibilidad (90-97% si la baciloscopia es positiva, 67% si la baciloscopia es negativa) y especificidad (99%).

Los autores anteriormente mencionados junto a Arias et al.<sup>37</sup>, Rochem Biocare<sup>52</sup> y Hain Lifescience<sup>54</sup> refieren que además de Xpert® MTB/RIF Ultra, las técnicas más empleadas son aquellas que detectan mutaciones de resistencia a isoniazida y rifampicina como el Genotype® MTBDRplus o Genoscholar TB-NTM+MDR, y para fármacos de segunda línea, el Xpert® MTB/XDR o GenoType® MTBDRsl. Alvis et al.<sup>55</sup>, señalan que esta última prueba detecta las mutaciones más comunes en los genes *gyrA*, *rrs* y *embB*, relacionadas con la resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y etambutol. Sin embargo, es importante considerar las limitaciones, el mayor costo, la necesidad de equipos especializados y personal capacitado.

Por la situación de recursos limitados para algunos laboratorios, Baquero et al.<sup>53</sup>, afirma que el cultivo puede seguir siendo el método preferido debido a su menor costo y a la disponibilidad de una infraestructura básica.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados y los artículos revisados en la presente investigación se concluye lo siguiente:

1. Las pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, según la revisión bibliográfica realizada, que fueron usadas con mayor frecuencia son las de tipo molecular como la Gene Xpert MTB/Rif, Gene Xpert MTB/Rif Ultra, Gene Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDRTBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR* y la *Genotype MTBDR sl*. Estos han remplazados a los métodos convencionales debido a que se pueden trabajar diferentes tipos de muestras, pero además presentan una sensibilidad y especificidad muy alta y con un tiempo de detención máximo de 90 minutos lo que permite resultados más eficaces y rápidos que ayudan a implementar un tratamiento oportuno para pacientes con TB pulmonar.

2. En cuanto al uso de métodos diagnósticos para la Tuberculosis Pulmonar también se demostró que las pruebas moleculares (Xpert MTB/RIF, Xpert MTB/Rif ultra, Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDRTBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR*, *Genotype MTBDR sl*) fueron las más aplicadas, seguidas de los métodos convencionales: medios de cultivo líquidos (MODS, Middlebrook 9H7 y BD BBL MGIT) y sólidos (Lowenstein-Jensen y Middlebrook 7H10) y por último la tinción de Zhiel Neelsen que fue la menos empleada.

3. Los medios de cultivo líquidos son más útiles a diferencia de los sólidos, acortan el tiempo para la obtención de resultados con una sensibilidad y especificidad similar a una prueba molecular las cuales también aportan resultados confiables acortando indudablemente el tiempo de respuesta, para garantizar un diagnóstico preciso y oportuno, además del manejo efectivo de la enfermedad, pero al tratarse de un método que emplea técnicas de biología molecular presentan un costo muy elevado en comparación con los demás, por esta razón no todos los laboratorios pueden realizarlas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adigun R, Singh R. StatPearls [Online].; 2023 [cited 2023 diciembre 12]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441916/>.
2. Ortiz C, Aspiazu K, Pacheco K. Mycobacterium tuberculosis en muestras de pacientes pulmonares y extrapulmonares del Hospital Vicente Corral Moscoso. VIVE. Revista de Investigación en Salud. 2022 agosto; 5(14).
3. Ministerio de Salud Pública de Ecuador. MSP. [Online].; 2019 [cited 2023 diciembre 12]. Available from: [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/03/informe\\_anual\\_TB\\_2018UV.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/03/informe_anual_TB_2018UV.pdf).
4. Organización Panamericana de la Salud. Tuberculosis en las Américas. Informe regional 2021. OPS, editor. Washington; 2022.
5. Organización Mundial de la Salud. OMS. [Online].; 2023 [cited 2023 diciembre 13]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
6. Ministry of Health and Family Welfare. Coming Together to End TB Altogether Nueva Delhi; 2022.
7. Lestari T, Fuady A, Yani F, Putra W, Pradipta I, Chaidir L, et al. The development of the national tuberculosis research priority in Indonesia: A comprehensive mixed-method approach. PLOS ONE. 2023 febrero; 18(2).
8. Bernal D, Torres O, Colorado A, Sánchez H. Tuberculosis en México en tiempos de COVID-19: algunas reflexiones. Enfermedades emergentes. 2021; 20(3).
9. Renge. Edición médica. [Online].; 2023 [cited 2023 diciembre 16]. Available from: <https://www.edicionmedica.ec/secciones/salud-publica/con-la-pandemia-se-dejo-de-buscar-sintomaticos-y-los-casos-de-tuberculosis-aumentaron--100343>.
10. Bonilla W, Jaramillo J, Roca R, Borja M. Infección por Mycobacterium tuberculosis. Diagnóstico y tratamiento. reciMundo. 2021 noviembre; 5(1).
11. Viñuelas J, Asunción M, Samper S. Diagnóstico rápido de la tuberculosis. Detección de mecanismos de resistencia. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2017 octubre; 35(8).
12. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. MSP. [Online].; 2017 [cited 2023 diciembre 12]. Available from: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2017/03/LEY-ORG%C3%81NICA-DE-SALUD4.pdf>.
13. Peñata A, Holguín A, Atehortúa S, Vergara P, Castaño T, Bustamante J, et al. Evaluación de una prueba de biología molecular para la identificación de Mycobacterium

tuberculosis y sensibilidad a medicamentos de primera y segunda línea en un hospital de alta complejidad. Revista de la asociación Colombiana de infectología. 2017 junio; 21(4).

14. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25<sup>a</sup>.ed. México D.F: McGRAW-HILL interamericana editores, S.A. de C.V; 2011. ISBN: 978-607-15-0503-3

15. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 7th ed. Elsevier Health Sciences, Barcelona España; 2013.

16. Organización Mundial de la Salud. Regionales de la OMS. [Online].; 2023 [cited 2024 abril 23]. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/07-11-2023-tuberculosis-response-recovering-from-pandemic-but--accelerated-efforts-needed-to-meet-new-targets>.

17. Fernández de Vega F, Esteban J, González J, Palacios J. Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno, editors. Madrid; 2016.

18. Arévalo A, Alarcón H, Arévalo D. Métodos diagnósticos de Tuberculosis; lo convencional y los avances tecnológicos en el siglo XXI. Scielo. 2015; 21(1).

19. Fernando Baquero Artigaoterresa del rosal. Update on the diagnosis and treatment of tuberculosis. Anales de Pediatría. 2023 junio; 98(6).

20. Arias F, Gutiérrez R, Gallardo M, Moreno M, Muñoz I, Kohan K, et al. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Santiago de Chile; 2019 mayo.

21. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. "Enfermedades infecciosas | tuberculosis Guía para el equipo de Salud" Manual. 2nd ed. Argentina; 2015.

22. Alcaide F. Diagnóstico microbiológico actual de la tuberculosis. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 2017 agosto-septiembre; 35(7).

23. Ministerio de Salud de Bolivia. Manual de Normas Técnicas en Tuberculosis. Programa Nacional de Control de Tuberculosis y Lepra ed. La Paz; 2017.

24. Trabado C, Cordero E, Garita R, Brenes M. Manual de normas y procedimientos técnicos para el diagnóstico San José; 2016 diciembre.

25. Nieto Ramirez L. Estudios de la tuberculosis desde la Sucursal del Cielo. 1st ed. Cali: Editorial Universidad Icesi; 2021.

26. Britania S.A. Britanialab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225\\_inserito\\_es.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225_inserito_es.pdf).

27. Becton, Dickinson and Company. BdLab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from:

<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22832#:~:text=Lowenstein%2DJensen%20Medium%20se%20utiliza,tuberculosis%20y%20otras%20especies%20micobacterianas.&text=Lowenstein%20formul%C3%B3%20originalmente%20un%20medio,parcial%20de%20otras%20bacterias1%2C2>.

28. Becton, Dickinson and Company. BDLab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22863>.
29. Becton, Dickinson and Company. BDLab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22852>.
30. Rodríguez J, Alcántara R, Rodríguez J, Vargas J, Roncal E, Antiparra R, et al. Evaluation of three alternatives cost-effective culture media for Mycobacterium tuberculosis detection and drug susceptibility determination using the microscopic observation drug susceptibility (MODS) assay. Tuberculosis (Edinb). 2022 diciembre; 137(1).
31. Becton, Dickinson and Company. BDLab. [Online].; 2019 [cited 2024 enero 06]. Available from: [https://static.bd.com/documents/eifu/8008200\\_ZMG\\_A\\_RL\\_8008200\\_ES.pdf](https://static.bd.com/documents/eifu/8008200_ZMG_A_RL_8008200_ES.pdf).
32. Bordón A, Muñoz F, Oviedo J. Guía Técnica para el cultivo de Micobacterias en medio líquido. 1st ed. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública de Chile; 2018.
33. Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue. Guía técnica para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte 3 Pruebas de Sensibilidad. Primera ed. Lima: ORAS - CONHU; 2018.
34. Agredo F, Osorio L. Coverage and fidelity of the Xpert MTB/RIF™ implementation in a high-burden area for pulmonary tuberculosis in Colombia. Biomedica. 2020 diciembre; 40(4).
35. Macero C, Moreno X, Oliveira D. Prueba Xpert® MTB/RIF para el diagnóstico de Tuberculosis en el Instituto Médico La Floresta. Boletín Venezolano de Infectología. 2022 julio; 33(1).
36. Rodríguez D, Villamil L, Lasso J, Garzón J, Celis C. Xpert MTB/RIF Ultra: innovación en el diagnóstico de la tuberculosis. Universitas Medica. 2021 enero-diciembre; 62(1).
37. Arias F, Herrera T. Nuevos métodos para el diagnóstico de la tuberculosis. Revista Chilena de enfermedades respiratorias. Diciembre 2016; 32(4).

38. Kay A, Verkuijl S, Viney K, Brand A, Masini T, González L, et al. Xpert MTB/RIF Ultra assay for tuberculosis disease and rifampicinresistance in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2022;(9).
39. Jbara Chakhtoura S. Guía para el montaje y la interpretación de la prueba Xpert MTB/RIF ultra para el diagnóstico de la tuberculosis Tres Ríos; 2022.
40. Cao Y, Parmar H, Gaur RL, Lieu D, Raghunath S, Via N, et al. Xpert MTB/XDR: un ensayo reflejo de 10 colores adecuado para entornos de puntos de atención para detectar resistencia a isoniazida, fluoroquinolonas y fármacos inyectables de segunda línea directamente a partir de esputo positivo a *Mycobacterium tuberculo*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2021 febrero; 59(3).
41. Organización Panamericana de la Salud. Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 3: Diagnóstico. Métodos de diagnóstico Washington; 2020.
42. Pérez del Molino M, Tuñez V, García M, Lado F. Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis. *Medicina Integral*. 2002 marzo; 39(5).
43. López M, Álvarez C. Utilidad del ensayo de nitrato reductasa en la detección de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente en caso de recursos limitados. *Revista Biomedica*. 2011 marzo; 31(2).
44. González L, Sánchez R, Murcia MI. Utilidad de la prueba de la nitrato reductasa para la detección rápida de resistencia en *Mycobacterium tuberculosis*. *Biomédica*. 2014 agosto; 34(1).
45. Símboli N, González C. Diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Estado actual del conocimiento. *Revista Americana de Medicina Respiratoria*. 2022 septiembre; 22(3).
46. Salcedo I, Ceballos V, Guillén L, Pimentel R. Detección de *Micobacterium Tuberculosis* por Observación Microscópica y Susceptibilidad a las Drogas. *Revista Académica Biomédica Digital*. 2014 enero.
47. Carrasco G, Hasdeu S, cols. Solicitud de incorporación de nuevo equipamiento para diagnóstico microbiológico de la tuberculosis; 2019.
48. Fernández F, Moreno JE, Martín JG, Gutiérrez JJP. Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias. 55th ed. Madrid: SEIMC; 2016.
49. Flores AA, Ochoa MD, Sánchez A. Estrategias diagnósticas aplicadas en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2016; 54(1).

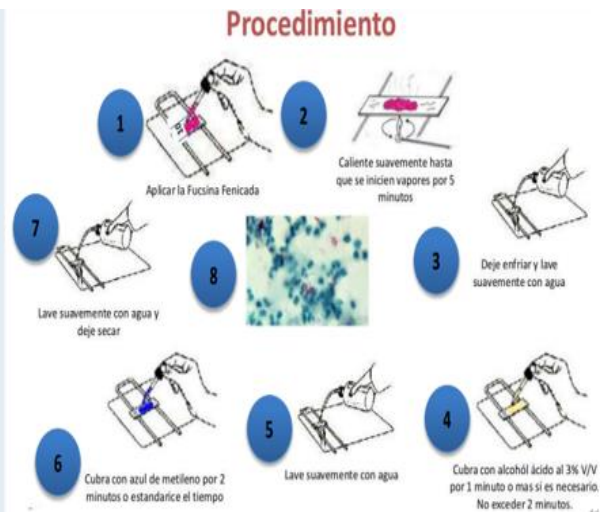
50. Jaramillo Grajales M, Torres Villa R, Pabón Gelves E, Marín Muñoz P, Barrientos Urdinola K, Montagut Ferizzola Y, et al. Diagnóstico de tuberculosis: desde lo tradicional hasta el desarrollo actual. *Medicina y Laboratorio*. 2015 agosto; 21(7-8).
51. Martínez TH, Muñoz FA, Lobos NR. MANUAL OPERATIVO Implementación del GeneXpert MTB/RIF en el Programa de Tuberculosis. 1st ed. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública de Chile; 2017.
52. Rochem Biocare S.A. anmat. [Online].; 2022 [cited 2024 enero 08]. Available from: <https://helena.anmat.gob.ar/uploads/pdfs/IF-2022-109707235-APN-INPM%20ANMAT.pdf?rnd=af5f40b8-6a88-4c8a-8070-fb2085201746>.
53. Baquero Artigao F, Del Rosal T, Falcón Neyra L, al e. Actualización del diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. *ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE PEDIATRÍA*. 2023 junio; 98(6).
54. Hain Lifescience. Hardwiesenstraße. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 08]. Available from: [https://www.hain-lifescience.de/include\\_datei/kundenmodule/packungsbeilage/download.php?id=936](https://www.hain-lifescience.de/include_datei/kundenmodule/packungsbeilage/download.php?id=936).
55. Alvis-Zakzuk NJ, Carrasquilla MdlÁ, Gómez VJ, Robledo, Alvis-Guzmán NR, Hernández JM. Precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente. *Revista del Instituto Nacional de Salud Biomédica*. 2017; 37(3).

# **ANEXOS**

## Anexo 1. Procedimiento para realizar la Tinción de Ziehl-Neelsen

### Tinción de Ziehl-Neelsen para acidorresistentes

- 1) Fijar la extensión con calor
- 2) Cubrir con carbolfucsina, calentar suavemente 5 min sobre la llama directa (o 20 min en baño María). No se permitirá que las extensiones hiervan o se sequen
- 3) Lavar con agua desionizada
- 4) Decolorar con una mezcla de ácido-alcohol al 3.0% (95% de etanol y 3.0% de ácido clorhídrico) hasta que persista un color rosa débil
- 5) Lavar con agua
- 6) Aplicar azul de metileno de Loeffler durante 1 min como tinción de contraste
- 7) Lavar con agua desionizada y dejar secar



**Fuente:** Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25<sup>a</sup>.ed.

<https://www.coursehero.com/file/73581174/PRACTICA-NO4-A-8docx-pdf/>

## Anexo 2. Tuberculosis Pulmonar causada por *M. tuberculosis*



**Fuente:** Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 7a ed. Saunders; 2013.

### Anexo 3. Resumen de muestras de origen pulmonar

MOMENTO, CONDICIONES DE RECOLECCIÓN, TIEMPO DE CONSERVACIÓN Y NÚMERO DE MUESTRAS NECESARIAS					
TIPO MUESTRA	Momento recolección	Condiciones recolección	Cantidad de muestra	Tiempo de conservación	Número de muestras necesarias
Expectoración espontánea	Se recomienda 1 inmediata y una matinal	Después de un esfuerzo de tos, en un espacio ventilado, en forma individual para evitar contaminación con los aerosoles que se producen al momento de toser	Mínimo 2mL por muestra	24-48 horas. Máximo 5 días a 4°C protegido de la luz	2
Expectoración inducida	Sin indicación	Maniobras kinésicas o nebulización laríngea	La cantidad que se puede recolectar	24-48 horas. Máximo 5 días a 4°C protegido de la luz	En lo posible 2
Lavado Bronco alveolar	Sin indicación	Procedimiento médico por fibrobronoscopia	La cantidad que se puede recolectar	Procesar inmediatamente. Máximo 4 horas a 4°C protegido de la luz	1
Contenido gástrico	Matinal en ayuna	Extracción del contenido gástrico	La cantidad que se puede recolectar	Procesar inmediatamente Máximo 4 horas a 4°C protegido de la luz	2

**Fuente:** Manual de Organización y Procedimientos del Programa Nacional de Control y Eliminación de la Tuberculosis, 2015, MINSAL.

### Anexo 4. Interpretación estandarizada de la baciloscopia

Resultado del examen microscópico	Informe
No se encuentran BAAR en los 100 campos observados	No se observan bacilos ácido alcohol resistentes
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados	Nº exacto de bacilos en 100 campos
Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

**Fuente:** Manual de Organización y Procedimientos del Programa Nacional de Control y Eliminación de la Tuberculosis, 2015, MINSAL.

**Anexo 5.** Micobacteria ambiental - *Mycobacterium tuberculosis*



**Fuente:** <https://www3.paho.org/spanish/AD/DPC/CD/tb-labs-cultivo.pdf>

**Anexo 6.** Intensidad de la positividad de micobacterias en medio Lowenstein-Jensen

Morfología macroscópica	Resultado
Colonias confluentes	Positivo (+++)
Colonias separadas	Positivo (++)
Presencia de 20-100 colonias	Positivo (+)
Menor a 20 colonias	Positivo (Informar el recuento)
Ausencia de colonias	Negativo
Desarrollo en la 1ª semana de incubación	Cultivo contaminado

**Fuente:** [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225\\_inserto\\_es.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225_inserto_es.pdf)

**Anexo 7.** Intensidad y pigmentación de la positividad de micobacterias en medio Middlebrook and Cohn 7H10 Agar

<b>Morfología macroscópica</b>	<b>Resultado</b>
Colonias confluentes (>500)	Positivo (++++)
Colonias casi confluentes (200-500)	Positivo (+++)
Presencia de 100-200 colonias	Positivo (++)
Presencia de 50-20 colonias	Positivo (+)
Menos de 50 colonias	Positivo (Informar recuento real)
Ausencia de colonias	Negativo
<b>Pigmentación de las colonias en medio Middlebrook</b>	
<b>Coloración</b>	<b>Resultado</b>
Blanco, crema/beige	No cromógeno (NC)
Limón, amarillo, naranja, rojo	Cromógeno (Ch)

**Fuente:** <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22863>

**Anexo 8.** Grupo de fármacos utilizados en el tratamiento de la Tuberculosis

<b>GRUPO</b>	<b>CLASIFICACIÓN</b>	<b>FÁRMACO</b>
Grupo I	Primera Línea	Isoniacida, rifampicina, etambutol, pirazinamida
Grupo II	Fluoroquinolonas	Ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina
Grupo III	Inyectables	Kanamicina, amikacina, capreomicina, estreptomina
Grupo IV	Agentes bacteriostáticos orales	Cicloserina/terizidona, etionamida/protionamida, ácido paraminosalicílico
Grupo V	Fármacos de eficacia en estudio	Clofazimina, linezolid, amoxicilina/clavulanato, carbapenems (imipenem-

		cilastatin y meropenem), INH en altas dosis, bedaquilina* y delamanid*
--	--	--

**Fuente:**

[https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52261/9789275321874\\_eng.pdf?sequence=1  
&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52261/9789275321874_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

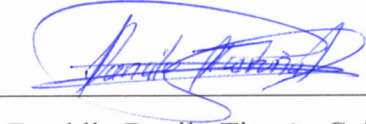
## DECLARATORIA DE AUTORÍA

Yo, **Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón**, con cédula de ciudadanía **0202034476** y **Franklin Danilo Tituaña Cujano** con cédula de ciudadanía **1850547926**, autores del trabajo de investigación titulado: **Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de nuestra entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 23 de mayo del 2024.

  
Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón  
C.I: 0202034476

  
Franklin Danilo Tituaña Cujano  
C.I: 1850547926

## **DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR**

Quien suscribe, Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez catedrática adscrita a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar bajo la autoría de Jacquelin Fernanda Tapia Alarcon y Franklin Danilo Tituaña Cujano; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 21 días del mes de mayo de 2024.



---

Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez

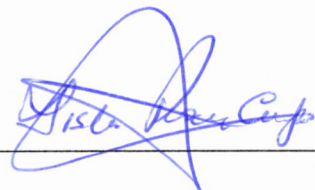
Cédula: 1757161482

## CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

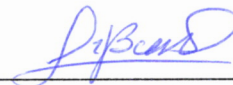
Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar**, presentado por Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón, con cédula de ciudadanía 0202034476 y Franklin Danilo Tituaña Cujano con cédula de ciudadanía 1850547926, bajo la tutoría de Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 23 días del mes de mayo de 2024.

MsC. Yisela Carolina Ramos Campi  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Mgs. Elena Margarita Brito Sanaguano  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**





# CERTIFICACIÓN

Nosotros, **TAPIA ALARCON JACQUELIN FERNANDA** con CC: **0202034476** y **TITUAÑA CUJANO FRANKLIN DANILO** con CC: **1850547926**, estudiantes de la Carrera **LABORATORIO CLÍNICO**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; han trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**CULTIVO Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL BACILO DE KOCH EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR**", cumple con el **9%**, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURNITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 21 de mayo de 2024

Dra. María del Carmen Cordovéz Martínez  
**TUTORA**

## **DEDICATORIA**

Quiero dedicarle esta tesis a mi Familia y a Dios por ser mi pilar fundamental en esta trayectoria. A mis padres Galo Tapia y Lucia Alarcón por todo el esfuerzo y sacrificio que hicieron para apoyarme durante este largo camino. A mis hermanos, especialmente a Gabriela Tapia y a mi compañero fiel que ya no está con nosotros, pero siempre me dedicaron su tiempo y sobre todo su amor infinito, gracias.

*Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón*

A Dios por guiarme en cada paso que doy, por darme fuerzas y sabiduría para poder cumplir mis sueños y metas que me he propuesto, a mis padres y a mi enamorada Yadira Amaguaya que han el pilar fundamental y razón de mi vida que me han apoyado en el transcurso de este camino, y darles gracias por todo su amor confianza y apoyo incondicional para poder seguir creciendo de forma personal y profesional en mi vida. Gracias.

*Franklin Danilo Tituaña Cujano*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a Dios por el día a día. A toda mi familia y amigos que han sido un apoyo fundamental en esta travesía que gracias a sus buenos consejos hoy estoy culminando esta etapa. A la Universidad Nacional de Chimborazo por permitirme ser una estudiante, que aproveché de los conocimientos impartidos por sus docentes y permitirme cumplir la meta de ser una laboratorista. A nuestra tutora María del Carmen Cordovéz que fue parte de este proyecto de investigación, a través de las enseñanzas y constante dedicación que mantuvo.

*Jacquelin Fernanda Tapia Alarcón*

Agradecer a mi Dios por permitirme llegar a cumplir mi sueño anhelado, a mis padres Mario Tituaña y Leonor Cujano por su apoyo incondicional durante mi etapa de estudios, quienes me inculcaron valores y siempre me estuvieron brindando palabras de aliento para seguir adelante en cada paso que doy y a toda mi familia por su comprensión quienes estuvieron hasta llegar a cumplir mi sueño profesional. Un gran agradecimiento especial a mis docentes y tutora María del Carmen Cordovéz por su colaboración para terminar este trabajo de investigación.

*Franklin Danilo Tituaña Cujano*

## ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	12
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	17
Tuberculosis Pulmonar.....	17
Patogenia.....	17
Histopatología.....	17
Propagación del microorganismo y sitios intracelulares de proliferación.....	18
Primoinfección y Reactivación.....	18
Inmunidad.....	19
Manifestaciones Clínicas.....	19
Epidemiología.....	20
Resistencia clínica.....	21
Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis.....	21
Tratamiento.....	33
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	34
Tipo de investigación.....	34
Población.....	34
Muestra.....	34
Métodos de estudio.....	35
Técnicas y procedimientos.....	35
Criterios de inclusión y exclusión.....	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54
ANEXOS.....	59

## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Descripción de Pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch..... 38

Tabla 2. Comparación del uso del cultivo con otros métodos de diagnóstico..... 45

## RESUMEN

La tuberculosis es una infección pulmonar y extrapulmonar, ocasionada por el *Mycobacterium tuberculosis*. Considerada una de las primeras causas de muerte en el mundo, pese a que es enfermedad tratable y curable. Esta investigación se realizó mediante revisión bibliográfica, con el propósito de recopilar información científica sobre el cultivo y las pruebas de susceptibilidad de esta micobacteria. El presente trabajo se trata de un estudio de tipo descriptivo, documental y no experimental, retrospectivo, donde se revisaron 55 artículos científicos, seleccionando 23, mediante los criterios de inclusión y exclusión. La información fue buscada en bases de datos como Pubmed, Scielo, Google libros, Elsevier, Manuales del MSP, OPS, OMS, Dialnet, Biomédica, Medigraphic y Google académico. Con el análisis y discusión de diferentes autores se les dio respuesta a los objetivos propuestos, demostrándose como pruebas de susceptibilidad más empleadas: Gene Xpert MTB/Rif, Gene Xpert MTB/Rif Ultra, Gene Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDRTBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR* y la *Genotype MTBDR sl*. En cuanto a métodos diagnósticos para la Tuberculosis Pulmonar fueron usados el Xpert MTB/RIF y ULTRA, Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDRTBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR*, *Genotype MTBDR sl*, seguidos de los convencionales: medios de cultivos (sólidos o líquidos) y la tinción de Zhiel Neelsen. Concluyendo que tanto para el aislamiento como para la sensibilidad y resistencia del bacilo tuberculoso fueron aplicadas con mayor frecuencia las técnicas de biología molecular, dejando atrás métodos tradicionales, pues presentan una sensibilidad y especificidad alta, con resultados rápidos ayudando a implementar tratamientos oportunos para los pacientes con TB pulmonar, evitando la aparición de cepas multirresistentes.

**Palabras claves:** bacilo de Koch, tuberculosis, diagnóstico, susceptibilidad, sensibilidad.

## ABSTRACT

Tuberculosis is a pulmonary and extrapulmonary infection caused by *Mycobacterium tuberculosis*. It is considered one of the leading causes of death in the world, although it is a treatable and curable disease. This research was carried out by means of a bibliographic review, with the purpose of gathering scientific information on the culture and susceptibility tests of this mycobacterium. The present work is a descriptive, documentary and non-experimental, retrospective study, where 55 scientific articles were reviewed, selecting 23, by means of inclusion and exclusion criteria. The information was searched in databases such as Pubmed, Scielo, Google Books, Elsevier, MSP Manuals, PAHO, WHO, Dialnet, Biomedica, Medigraphic and Google Scholar. The analysis and discussion of different authors provided answers to the proposed objectives, demonstrating the most used susceptibility tests: Gene Xpert MTB/Rif, Gene Xpert MTB/Rif Ultra, Gene Xpert MTB/XDR, Genotype®MDRTBplus, Genoscholar TBNTM+MDR and Genotype MTBDR sl. As for diagnostic methods for pulmonary tuberculosis, Xpert MTB/RIF and ULTRA, Xpert MTB/XDR, Genotype®MDRTBplus, Genoscholar TB-NTM+MDR, Genotype MTBDR sl were used, followed by conventional methods: culture media (solid or liquid) and Zhiel Neelsen staining. In conclusion, molecular biology techniques were applied more frequently for the isolation, sensitivity and resistance of the tubercle bacillus, leaving behind traditional methods, because they present high sensitivity and specificity, with fast results, helping to implement timely treatments for patients with pulmonary TB, avoiding the appearance of multidrug-resistant strains.

**Key words:** Koch bacillus, tuberculosis, diagnosis, susceptibility, sensitivity.



Firmado electrónicamente por:  
JHON JAIRO INCA  
GUERRERO

Reviewed by:

M.Ed. Jhon Inca Guerrero.

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 0604136572

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El *Mycobacterium tuberculosis* causa Tuberculosis pulmonar (TB) y extrapulmonar. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la misma es una infección que data desde la antigüedad, capaz de provocar daños no sólo a nivel del aparato respiratorio, sino también en un segundo momento, en el tracto gastrointestinal (GI), linforreticular, piel, sistema nervioso central, musculoesquelético, reproductivo e hígado<sup>1</sup>.

La vía de transmisión de esta enfermedad es la respiratoria, mediante estornudos, tos o al momento de hablar, a través de las microgotas de Flügge, que contienen los bacilos tuberculosos. Estos llegan mediante el flujo aéreo hasta los alveolos, donde son captados por células de defensa como los macrófagos que los fagocitan y destruyen, ayudando a evitar su propagación en el organismo. Por otro lado, algunos sobrepasan esta barrera e ingresan en el torrente sanguíneo y ganglios linfáticos por lo que se activan los mecanismos de inmunidad celular para evitar su propagación<sup>2</sup>.

El 87% de los casos de tuberculosis es de tipo pulmonar, donde la inflamación granulomatosa necrosante es la principal patología que se presenta. Comúnmente afecta a personas que presentan algún factor de riesgo tanto intrínseco como extrínseco que puede acarrear la enfermedad, tales como, condiciones de hacinamiento, inmigrantes de países con una alta prevalencia de tuberculosis, menores de edad, trabajadores de la salud, así como aquellas alteraciones de salud en individuos inmunocomprometidos, fundamentalmente los VIH positivos<sup>3</sup>.

El riesgo de contraer tuberculosis está determinado por diversos factores sociales, socioeconómicos de la población e individuales. El programa de enfermedades infecciosas de la OMS, ha documentado el consumo de tabaco, drogas o alcohol como factores que dañan la salud de las personas y aumentan sus posibilidades de contraer TB<sup>4</sup>.

Según la OMS en el 2022, el mayor número de nuevos casos de TB pulmonar se produjo en la región de Asia Sudoriental (46%), seguida de África (23%) y el Pacífico Occidental (18%), es decir, alrededor del 87% se concentra en estas regiones geográficas. Refiere, además, que la mayor incidencia de la enfermedad se encuentra en Bangladesh, China,

Nigeria, Pakistán Filipinas, India, Indonesia y la República Democrática del Congo. En este mismo período 1,3 millones de personas fallecieron por esta causa, considerada la segunda enfermedad que ha causado más muertes a nivel mundial después del COVID 19 y del VIH-SIDA<sup>5</sup>.

En la India, el Programa Nacional de Eliminación de la Tuberculosis (PNET) informó que este país representa la mayor carga mundial con un 19% durante 2021. Con un total de 1.933.381 casos reportados. Este incremento puede atribuirse a diversos factores, como limitaciones en el acceso a la atención médica, diagnósticos tardíos, resistencia a los fármacos y la influencia de la pandemia de COVID-19, que podría haber obstaculizado la búsqueda y detección temprana de casos de TB<sup>6</sup>.

Indonesia tiene la segunda incidencia de TB más alta del mundo y representa el 8,5% de la carga mundial a pesar de los enormes esfuerzos realizados en las últimas dos décadas. Se enfrentó a un importante inconveniente en la detección de este tipo de infección por la COVID 19, pero en el 2020, la detección de casos infectados se redujo un 30% y sólo aumentó un 12% en 2021. Estos datos reflejan un subregistro de enfermos y fallecimientos por esta patología, siendo una de las principales enfermedades infecciosas de este país, afectando a todos los grupos de etarios, fundamentalmente a la población en edad productiva (15-54 años)<sup>7</sup>.

En el 2020 la tuberculosis seguía siendo un problema de salud pública en Estados Unidos, se estima que hay 291 000 casos de diversas formas de la enfermedad. La Covid-19 revierte los avances en la Estrategia Fin de la Tuberculosis, en este año murieron 3 000 personas más a causa de la enfermedad pulmonar que en 2019 y la incidencia aumentó ligeramente<sup>4</sup>.

En las Américas, según la Organización Mundial de la Salud, se evidenciaron avances en la introducción y expansión de las pruebas moleculares rápidas. Se diagnosticaron 4 007 casos de Tuberculosis resistente a la rifampicina o multirresistente (TB-RR/MDR). También en gran parte de la población estudiada se identificó que las cepas con resistencia a las fluoroquinolonas disminuyeron al 29%. Así mismo, se diagnosticaron 210 pacientes con esta enfermedad extensamente resistente (TB-XDR) en 14 países<sup>4</sup>.

En esta región, en el 2020, el 24% de los casos notificados correspondían a personas con diabetes. En 26 países que se notificó esta comorbilidad, los porcentajes más elevados corresponden a México (28%), Guatemala (23%), Estados Unidos de América (23%) y Puerto Rico (22%)<sup>4</sup>.

Por otro lado, América Latina tiene un estimado de 29 000 nuevos casos de tuberculosis en personas con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (10%) y 27 000 muertes por esta enfermedad pulmonar, de las cuales el 29% son personas infectadas por VIH. El 80% de las personas infectadas por TB/VIH se encuentran en Brasil, México, Colombia, Haití, Perú, República Dominicana y Venezuela<sup>4</sup>.

La OMS, refiere que, en el 2020 el 3% de la carga mundial de tuberculosis (9,8 millones) se ubicaba en las Américas, con una incidencia de 29 por cada 100 000 habitantes. Se estimó, además, que 89% de los casos de TB se encontraban en 13 países, siendo la incidencia más alta en Brasil, Perú y México. Por otro lado, 16 países concentran las tasas más bajas; la mayoría están en el Caribe y entre ellos destacan Costa Rica, Bahamas y Curazao<sup>4</sup>.

En México, según datos de la OMS para 2019, hubo entre 23 000 y 37 000 casos nuevos de TB, con un intervalo de 23 por cada 100 000 habitantes. Según cifras oficiales del Programa Nacional de Tuberculosis (PNT) de la Secretaría de Salud de México (SSA) (institución encargada de realizar la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad), se registraron 22 285 personas con este tipo de afección pulmonar (80%), el 28,2% se asociaron a diabetes y un 8,2% a VIH/SIDA, reportándose en hombres el 63% de los casos y 37% en mujeres<sup>8</sup>.

Referente a lo anterior, la mayoría de los pacientes con este tipo de infección se encontraban entre 20 - 64 años y menos del 5% de 0 - 14 años. A los 22 285 casos nuevos, deben sumarse otros 2 163: 746 de reingresos (aquellos que, habiendo iniciado tratamiento de al menos un mes, lo interrumpen sin indicación médica y después retoman el tratamiento anti-tuberculosis), 1156 de recaídas y 261 enfermos nuevos), lo que da un total de 24 448 personas con *Mycobacterium tuberculosis*<sup>8</sup>.

En términos de mortalidad, la Secretaría de Salud (SSA) de México registró en 2017, alrededor de 2006 muertes por tuberculosis (1,6 por 100 000 habitantes). Mientras que la

OMS estimó que el número de muertes para 2019 fue de 2560 (tasa de 2,0 casos por 100 000 habitantes), de los cuales 760 vivían con VIH. Respecto a la tasa de letalidad (número de muertes estimadas/incidencia estimada), la OMS estima que ronda el 9%, con un intervalo del 7 - 11%<sup>8</sup>.

De acuerdo con el boletín anual Tuberculosis 2018 emitido por el Ministerio de Salud de Ecuador, en la Coordinación Zonal de Salud 3 se registró un total de 263 casos confirmados de tuberculosis, de los cuales 81 corresponden a la provincia de Chimborazo, 92 de Cotopaxi, 73 de Tungurahua y por último se identificaron 17 en Pastaza<sup>3</sup>.

En Ecuador, en el 2022, se notificaron 6 872 pacientes con TB, un 11% de coinfección TB-VIH (764 del total de casos), un 2% en menores de 5 años (147 niños) y 890 (13%) en población privada de la libertad. De ellos, se informó la existencia de 465 TB drogoresistente<sup>9</sup>.

Esta enfermedad se registra como una de las 10 primeras causas de mortalidad a nivel mundial; se estima que al menos una tercera parte de la población está infectada por *M. tuberculosis* y un 10% desarrollará la enfermedad en forma activa. La mayoría de los pacientes que presentan una infección tuberculosa tienen síntomas como tos con expectoración purulenta, hemoptisis, pérdida de peso, fiebre o sudores nocturnos<sup>10</sup>.

El *M. tuberculosis* es un bacilo ácido alcohol resistente, que en muchas ocasiones es adquirido por individuos con un sistema inmunológico competente y no desarrollan la enfermedad, presentando entonces, una infección latente que en una situación de supresión inmunológica si puede activarse el microorganismo y desencadenar la tuberculosis<sup>11</sup>.

Dentro de la Ley Orgánica de Salud del Ecuador en el Artículo 9, se menciona que “Corresponde al Estado garantizar el derecho a la salud de las personas, para lo cual tiene, entre otras, las siguientes responsabilidades: Garantizar a la población el acceso y disponibilidad de medicamentos de calidad a bajo costo, con énfasis en medicamentos genéricos en las presentaciones adecuadas, según la edad y la dotación oportuna, sin costo para el tratamiento del VIH-SIDA y enfermedades como hepatitis, dengue, tuberculosis, malaria y otras transmisibles que pongan en riesgo la salud colectiva”<sup>12</sup>.

La tuberculosis a nivel mundial es una de las pocas enfermedades existentes que tiene un tratamiento ya establecido para el control de la enfermedad. La recomendación actual de la OMS para todos los países es la indicación de 4 fármacos administrados en un periodo de 6 a 9 meses, de acuerdo con el siguiente esquema: isoniazida (H), rifampicina (R), etambutol (E) y pirazinamida (Z) durante 2 a 4 meses, y las dos primeras drogas en los 4 meses restantes<sup>4</sup>.

Aunque la enfermedad es tratable y curable, el mal uso y el poco cumplimiento del tratamiento antibiótico han generado resistencia, lo cual ha dado lugar a la aparición de la tuberculosis multirresistente, que es considerada en la actualidad como un problema de salud pública a nivel mundial. Además, el diagnóstico de la tuberculosis presenta cierta dificultad ya que para obtener el resultado de un cultivo hay que esperar 8 semanas de incubación<sup>13</sup>.

El presente trabajo aborda información sobre el cultivo y demás métodos diagnósticos de la TB pulmonar, además de las diferentes pruebas de susceptibilidad para descartar las multidrogoresistencia. Es importante conocer estos aspectos sobre el bacilo de Koch, pues es de vital importancia para llegar a un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno en pacientes vulnerables como aquellos con bajos recursos económicos, hacinamiento, minorías étnicas, migrantes, individuos con alguna comorbilidad como VIH y la Diabetes Mellitus. Así de esta forma se corta la cadena epidemiológica y se le brinda al paciente un mejor control clínico y epidemiológico.

El objetivo principal que tiene el trabajo es investigar sobre el cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar, mediante revisión bibliográfica describiéndolo en 2 acápites:

- Describir las pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, a través de la recopilación de información bibliográfica.
- Comparar el uso del cultivo del bacilo de Koch con otros métodos de diagnóstico.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

El *Mycobacterium tuberculosis* o bacilo de Koch, fue descubierto hace más de un siglo, en 1882, por el premio Nobel de Medicina que le da nombre, Robert Koch, agente causante de la tuberculosis<sup>10</sup>.

El bacilo de Koch tiene forma recta en los tejidos con un aspecto fino las cuales tienen un tamaño de  $0.4 \times 3 \mu\text{m}$ , presentándose de formas cocoides y filamentosas en medios artificiales. Aerobios, con una pared celular abundante en lípidos que le confiere una superficie hidrofóbica lo cual le permite ser resistente a la decoloración, desinfectantes, antibióticos antibacterianos frecuentes, detergentes y además no teñirse con la tinción de Gram; debidos a estas características han recibido el nombre de bacilos ácido-alcohol resistentes, pues solamente pueden colorearse con Ziehl-Neelsen (Anexo 1)<sup>14,15</sup>.

### **Tuberculosis Pulmonar**

#### **Patogenia**

Una persona con TB pulmonar expulsa al bacilo mediante las gotas o microgotas de Flügge (menos de  $25 \mu\text{m}$  de diámetro) a través de la tos, estornudo o simplemente hablar hasta en voz baja y al ser inhaladas por otro individuo pueden llegar hasta los alvéolos en dependencia de su sistema inmunitario. Este comienza a liberar citocinas y linfocinas estimulando a monocitos y macrófagos. Dentro del segundo tipo de célula las micobacterias comienzan a multiplicarse y en ocasiones son destruidas por los mismos, pero en otras sobreviven y luego aparecen en los pulmones (Anexo 2), después de alrededor de 2 meses de la exposición, las lesiones propias de la infección<sup>14</sup>.

#### **Histopatología**

La aparición o inicio y el avance de las lesiones, así como su curación o evolución, se ven afectadas directamente por la cantidad de micobacterias presentes en el inóculo y su posterior reproducción, así como del tipo de huésped<sup>14</sup>.

Existen dos tipos de lesiones a nivel pulmonar:

- ✓ Tipo exudativo: durante este periodo la prueba a la tuberculina se hace positiva. Esta lesión es caracterizada por presentar reacciones inflamatorias agudas con la presencia de

líquido edematoso, células polimorfonucleares (PMN) acompañadas de monocitos alrededor del bacilo TB. Por lo tanto, la lesión afecta principalmente al tejido pulmonar parecido a la neumonía bacteriana. De aquí puede cursar de tres formas una desaparecer por reabsorción de la totalidad del exudado, producir necrosis del tejido masiva o pasar al otro tipo de lesión que es productiva<sup>14</sup>.

✓ Tipo productivo: se presenta como granuloma crónico formado por tres regiones: una zona central con células gigantes multinucleadas conteniendo bacilos tuberculosos, seguida de una media con presencia de células epitelioides pálidas que en ocasiones se organizan en forma radiada y por último una periférica con fibroblastos, monocitos y linfocitos. Posteriormente se evidencia la presencia de tejido fibroso circundante alrededor de la necrosis caseosa o también llamado tubérculo caseoso. Estos pueden romperse y descargar su contenido hacia los bronquios quedando una cavidad que luego se cura por calcificación o fibrosis<sup>14</sup>.

### **Propagación del microorganismo y sitios intracelulares de proliferación**

El bacilo TB se propaga dentro del huésped por diseminación directa, a través de vasos linfáticos, sistema circulatorio, bronquios y el tracto gastrointestinal. En la infección primaria, éste se propaga desde el sitio inicial a los ganglios linfáticos regionales mediante los vasos linfáticos. Los microorganismos se propagan más al ingresar al torrente sanguíneo, y por ende llegan a todos los órganos. Cuando un tubérculo o un ganglio linfático caseificado erosionan una vena puede producirse invasión a la sangre también y si vierte su contenido al bronquio es aspirado extendiéndose a otras partes de los pulmones o ser deglutido llegando al tracto digestivo<sup>14</sup>.

El microorganismo una vez establecido en los tejidos, se encuentran dentro de los monocitos, células reticuloendoteliales y las células gigantes. Este tipo de localización intracelular interfiere con la quimioterapia y contribuye a la persistencia de la micobacteria en el organismo<sup>14</sup>.

### **Primoinfección y Reactivación**

Comúnmente cuando el huésped tiene contacto por primera vez con el bacilo TB, se presenta una lesión exudativa aguda que se disemina rápidamente a vasos y ganglios linfáticos

regionales, la cual puede curar en corto tiempo o el ganglio linfático experimentar una caseificación masiva y terminar como una lesión de Ghon (calcificado) o también hacerse positiva la prueba de la tuberculina indicativa de una respuesta inmune celular<sup>14</sup>.

En la antigüedad la primoinfección solía manifestarse típicamente durante la niñez, sin embargo, en la actualidad, es más frecuente en adultos que carecen de exposición previa al patógeno, es decir, aquellos con una reactividad negativa a la prueba de la tuberculina en la infancia. Este microorganismo durante la primoinfección afecta el pulmón hacia la base, aunque lo puede hacer en cualquier segmento del parénquima pulmonar<sup>14</sup>.

La TB por reactivación se desencadena generalmente por la supervivencia de bacilos tuberculosos latentes presentes en la lesión primaria. Este tipo de tuberculosis se caracteriza por lesiones crónicas en el tejido, formación de tubérculos, caseificación y fibrosis. A diferencia de la tuberculosis primaria, la reactivación implica un mínimo compromiso de los ganglios linfáticos regionales y no se observa caseificación en ellos. Este fenómeno de reactivación, en su mayoría, se inicia en el ápice pulmonar, donde la tensión de oxígeno alcanza su punto máximo<sup>14</sup>.

### **Inmunidad**

Durante la fase inicial de la infección por el bacilo tuberculoso, el individuo desarrolla una respuesta inmunitaria de tipo celular que confiere resistencia al patógeno. Esta respuesta permite localizar, retrasar y limitar la replicación del bacilo, así como reducir su diseminación a través del sistema linfático. Esta protección se atribuye principalmente a la capacidad de los fagocitos mononucleares para ingerir y controlar la multiplicación de los microorganismos, e incluso eliminarlos<sup>14</sup>.

### **Manifestaciones Clínicas**

El bacilo de la tuberculosis puede afectar cualquier parte del cuerpo humano, lo que resulta en una variedad de síntomas clínicos que pueden ser muy diversos. En el cuadro clínico se puede incluir fatiga, debilidad, pérdida de peso, fiebre y sudores nocturnos. La afectación pulmonar (Anexo 2) es común y se manifiesta con tos crónica y en etapas avanzadas hemoptisis<sup>14</sup>.

La tuberculosis también puede afectar otros órganos, como el sistema nervioso central o las vías urinarias, incluso sin síntomas pulmonares evidentes. La diseminación a través del torrente sanguíneo puede provocar tuberculosis miliar, una forma grave de la enfermedad con lesiones en múltiples órganos y una alta mortalidad<sup>14</sup>.

### **Epidemiología**

Si bien la tuberculosis puede manifestarse en primates y en cobayas de laboratorio, el ser humano representa el único huésped natural conocido de esta enfermedad<sup>15</sup>.

Según el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la tuberculosis en 2023, resalta la significativa mejoría en los servicios de detección y manejo de la enfermedad a nivel global durante el año 2022. Se registró un incremento en el número de casos de tuberculosis a nivel mundial, alcanzando aproximadamente 10.6 millones de personas afectadas en este mismo año en comparación al 2021<sup>16</sup>.

Las regiones más afectadas fueron Asia Sudoriental (46%), África (23%) y el Pacífico Occidental (18%), con menor incidencia en el Mediterráneo Oriental (8,1%), las Américas (3,1%) y Europa (2,2%). India, Indonesia y Filipinas, que representaron más del 60% de la reducción mundial en 2021-2021, se recuperaron y superaron los niveles de 2019 en 2022<sup>16</sup>.

En el último informe anual del Ecuador según el Ministerio de Salud Pública en el 2018 reporta un total de 5960 casos en el país, durante este año prevaleciente la tuberculosis pulmonar con un porcentaje de 81.54% de los casos, sin tomar en cuenta las recaídas, fracasos, abandonos y otros. El 18.46% restantes se refleja en la TB extrapulmonar<sup>13</sup>.

Entre los casos nuevos, recaídas y antes tratados, Guayas está situado como una de las primeras provincias en portar esta enfermedad, con un total de 2946 casos confirmados, en segundo lugar 444 registrados en Pichincha, de manera que Chimborazo cuenta con 81 casos ocupando el decimocuarto lugar en la tabla de Dirección Nacional de Estrategias de Prevención y Control<sup>3</sup>.

## **Resistencia clínica**

En términos generales se habla de resistencia cuando el tratamiento pierde parcial o totalmente su eficacia. Desde un punto de vista clínico, el paciente no evoluciona hacia la curación con persistencia o reaparición de los síntomas<sup>17</sup>.

En los últimos años se ha visto la aparición y diseminación de cepas resistentes a múltiples fármacos. Así, se calcula que 480 000 personas desarrollaron una TB multirresistente (MDR-TB) al menos a la isoniacida y a la rifampicina a nivel mundial en el 2014, de los que alrededor del 9% tendrían una resistencia extendida (XDR-TB), al menos a uno de los fármacos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina o amikacina) y una fluoroquinolona, siendo notificado al menos un caso en 100 países<sup>17</sup>.

El hecho de tener una cepa resistente implica cambios en el tratamiento, tanto en el número y tipo de fármacos como en la duración de este. Además, la garantía de curación es menor y la posibilidad de efectos adversos y de secuelas funcionales aumenta<sup>17</sup>.

Para el diagnóstico de sospecha de un caso de tuberculosis con resistencia a los fármacos se tienen en cuenta los siguientes criterios<sup>17</sup>:

1. Persistencia de los síntomas clínicos a los dos meses de tratamiento correcto y continuo.
2. Recaída de la enfermedad poco después de finalizar el tratamiento.
3. Persistencia de cultivos positivos a los cuatro meses de tratamiento o baciloscopias positivas a los dos meses de tratamiento en los países de baja renta donde no se haga cultivo.
4. Historia previa de tuberculosis<sup>17</sup>.

## **Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis**

Para identificar el bacilo de Koch, se realiza principalmente la baciloscopia seguido del aislamiento mediante el cultivo. Se pueden usar otros métodos como radiología, pruebas de laboratorio, reacción de Tuberculina, historia clínica, pero se necesita confirmación de la presencia de *M. tuberculosis*<sup>18</sup>.

En individuos jóvenes con tos productiva, se procederá a la recolección de muestras de esputo, mientras que, en pacientes sometidos a intubación, se realizará un procedimiento de aspirado bronquial o lavado broncoalveolar<sup>19</sup>.

## **Muestras**

Las muestras abarcan una variedad de fluidos biológicos y tejidos, como esputo recién expulsado, líquidos pleurales, cefalorraquídeo o sinovial, solución de lavado gástrico, orina, sangre, además de material para biopsia<sup>14</sup>.

### **Muestras clínicas para la localización pulmonar**

**Muestras expectoración espontánea o esputo:** La muestra se considera óptima debido a su alto desempeño. En nuestro entorno clínico, se sugiere la obtención de dos muestras con fines diagnósticos: una durante la visita inicial (muestra inmediata) y otra en la mañana siguiente, con un volumen mínimo de 2 mL por muestra<sup>20</sup>.

El frasco destinado para la recolección de la muestra de esputo o expectoración debe ser de boca ancha con un diámetro de 50 mm, con una capacidad de 30 a 50 mL para que el paciente tenga la facilidad de depositar la muestra, además debe tener una tapa rosca de cierre hermético que evite derrames, secado y genere aerosoles al momento del transporte o al abrirlo dentro del laboratorio, debe ser de material polimérico translucido con altas resistencias a quiebres para permitir la visualización precisa de la muestra, facilitando la evaluación de su calidad<sup>20</sup>.

Toma de muestra:

Es crucial seleccionar un entorno bien ventilado y privado debido al alto riesgo de transmisión de *M. tuberculosis*. Se debe proporcionar al paciente un envase etiquetado con su nombre y número de identificación, junto con las instrucciones claras para la recolección de una muestra de esputo. Es importante escribir los datos en el envase, no en la tapa, para evitar errores, y utilizar rótulos que no se despeguen o lápiz indeleble<sup>20</sup>.

Se debe instruir al paciente sobre cómo obtener una muestra de esputo, utilizando términos comprensibles y específico con las siguientes instrucciones:

1. Inhale profundamente para llenar completamente los pulmones de aire.
2. Mantenga la respiración durante un breve período.
3. Con un esfuerzo de tos se debe expulsar el esputo, con el objetivo de movilizar las secreciones desde los pulmones.

4. Recoger el esputo en el recipiente designado, procurando que entre toda la muestra.
5. Realizar este proceso dos veces, depositando todas las secreciones en el mismo recipiente.
6. Por último, se debe limpiar el exterior del recipiente con un papel absorbente y lavarse las manos con agua y jabón<sup>20</sup>.

### **Métodos especiales para la obtención de la muestra**

Se debe priorizar la obtención de expectoración espontánea, ya que proporciona muestras de mayor calidad. No obstante, en situaciones en las cuales los pacientes no pueden expectorar, como es el caso de niños, pacientes psiquiátricos o de tercera edad, se pueden emplear métodos alternativos menos eficaces, como la inducción del esputo o el lavado gástrico. Estos procedimientos necesitan equipo especializado y medidas de bioseguridad adicionales, y deben ser realizados por personal capacitado<sup>20</sup>.

### **Secreción broncoalveolar o lavado broncoalveolar**

Previa a la obtención de la muestra, se recomienda realizar baciloscopias en al menos dos muestras espontáneas con el fin de detectar el bacilo sin recurrir a procedimientos invasivos y minimizar los riesgos asociados. La recolección de esta muestra está restringida a médicos especializados y se realiza mediante fibrobroncoscopia<sup>20</sup>.

### **Contenido gástrico destinado preferentemente a la investigación de tuberculosis pulmonar en niños**

La evaluación baciloscópica del lavado gástrico posee una eficacia relativa. Esto se debe a que, por un lado, en niños se encuentran lesiones con una baja carga bacteriana, lo que disminuye la probabilidad de detección. Además, existe la posibilidad de que la muestra contenga micobacterias ambientales provenientes de la ingesta de alimentos, lo que podría generar resultados falsos positivos. Este método se reserva exclusivamente para el diagnóstico y no para el monitoreo del tratamiento debido a su eficacia insignificante (Anexo3)<sup>20</sup>.

### **Baciloscopia**

Una forma rápida y sencilla de obtener un diagnóstico presuntivo de tuberculosis es la microscopia por fluorescencia con auramina-rodamina, la cual es un colorante más sensible

que la tinción de Ziehl-Neelsen que es la técnica más utilizada. Una baciloscopia negativa nunca descarta la enfermedad por lo que siempre debe de llegarse al cultivo donde se obtiene al bacilo para su identificación<sup>14</sup>.

### **Tinción de Ziehl Neelsen**

Busca detectar los bacilos ácido-alcohol resistentes, los cuales tienen la capacidad de resistir la decoloración de la fucsina y el alcohol-ácido. El colorante fucsina, ingresa a la bacteria mediante el fenol y el calor. Las micobacterias, debido a la alta proporción de ácidos micólicos (aproximadamente 60 %) en su pared celular, presentan una superficie externa hidrofóbica que les permite retener la fucsina en gran medida. En este proceso, los BAAR quedan coloreados de rojo sobre un fondo azul, que es proporcionado por el colorante de contraste, el azul de metileno<sup>20</sup>. Para el reporte de resultados verificar el Anexo 4.

### **Cultivo**

El cultivo es una técnica de mayor sensibilidad que la baciloscopia, considerada como prueba diagnóstica de referencia, aunque también requiere más tiempo y es más compleja, por lo que necesita ser realizada en laboratorios de mayor nivel con condiciones de infraestructura y equipamiento más exigentes y a costos más elevados<sup>21,22</sup>. Se realiza en medios sólidos a base de huevo: principalmente Lowenstein Jensen y en medios líquidos: Middlebrook 7H9, Middlebrook 7H10, entre otros<sup>23</sup>.

Los medios de cultivo sólidos muestran un retraso en el crecimiento de las micobacterias en comparación con los medios líquidos. Sin embargo, una vez que se observa el crecimiento, es posible distinguir las colonias con características de *M. tuberculosis*. Con experiencia, es factible determinar con precisión si se ha aislado el bacilo de la tuberculosis. Las colonias de *M. tuberculosis* suelen ser ásperas, carecen de pigmentación y están secas si se ha absorbido adecuadamente la humedad de la muestra y las soluciones empleadas en su procesamiento<sup>24</sup>.

Algunas colonias de *M. tuberculosis* que son resistentes a la isoniacida pueden mostrar una morfología más plana y lisa. En condiciones de alta humedad en el medio de cultivo, las colonias de cualquier micobacteria tienden a aparecer lisas. Por lo tanto, cuando las colonias se desarrollan lentamente, carecen de pigmentación, tienen una morfología lisa, son

pequeñas o presentan brillo, surge la incertidumbre sobre si lo aislado corresponde a una micobacteria ambiental (Anexo5)<sup>24</sup>.

## **Medios Sólidos**

### **Medio sólido Lowenstein-Jensen**

Tras una serie de modificaciones a partir de cultivos simples a base de suero bovino se crearon medios de cultivos idóneos para el aislamiento del bacilo tuberculoso, del cual se destaca principalmente el medio sólido Lowenstein Jensen, enriquecido con yema de huevo, en cuya composición se presenta, el verde de malaquita como un inhibidor del crecimiento de microorganismos que no sean micobacterias<sup>25</sup>, además la glicerina actúa como un estimulante del crecimiento del bacilo a excepción de *M. bovis* ya que será inhibido, para su aislamiento debe ser incubado en aerobiosis a una temperatura de 25 a 37 °C, observar el crecimiento del microorganismo hasta 8 semanas<sup>26</sup>.

Tras haber transcurrido el tiempo de incubación de los cultivos, se deben registrar las observaciones necesarias para su análisis, como el número de días a partir de los cuales se puede apreciar el crecimiento bacteriano (visibilidad de las colonias), generalmente ante un crecimiento rápido de colonias maduras el tiempo transcurrido es de 7 días<sup>27</sup>.

Sin embargo, los cultivos positivos son observables a partir de los 13 a 28 días de incubación, dependientemente del contenido del bacilo sembrado, mientras que un 3% de este tipo de microorganismo registran un crecimiento relativamente lento prolongándose hasta 40 días de incubación<sup>26</sup>.

Así mismo, la positividad influye de acuerdo con el nivel de pigmentación y morfología macroscópica del crecimiento del microorganismo en el medio, de modo que, ante un cultivo positivo las características morfológicas de las colonias son amarillentas, cremosas y rugosas el cual será confirmado mediante la coloración de Ziehl Neelsen a un extendido del mismo<sup>26</sup>.

La intensidad de la positividad debe ser registrada de acuerdo con los parámetros según las normas latinoamericanas para proporcionar una medida estandarizada de la cantidad de colonias presentes en la muestra (Anexo 6)<sup>26</sup>.

### **Middlebrook 7H10 Agar**

Middlebrook y Cohn mejoraron la fórmula del agar ácido oleico-albúmina y obtuvieron un crecimiento más rápido y abundante de la especie *Mycobacterium* en su medio designado como 7H10<sup>28</sup>.

Así mismo, se presenta Middlebrook and Cohn 7H10 Agar con una composición similar a Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol con la particularidad de que se adiciona verde de malaquita para la inhibición de bacterias que no pertenezcan a la especie de *Micobacterium*<sup>28</sup>.

La lectura debe ser efectuada de 5–7 días después de realizar la inoculación y hasta 8 semanas. Para una valorización del crecimiento y pigmentación en este medio se analiza según la intensidad de la positividad de las micobacterias (Anexo 7)<sup>28</sup>.

### **Medios Líquidos**

Como parte de los medios de cultivo líquidos Gardner Middlebrook desarrolló un medio más complejo y eficaz denominado Middlebrook en honor a su contribuyente en las fases de investigación y modificación del mismo, de naturaleza sintética cuya fuente de nitrógeno es la asparagina y su fuente de carbón el glicerol<sup>25</sup>.

### **Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol**

Se establecen medios suplementados como Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol, implicado en el crecimiento de micobacterias, compuesto por nutrientes como: ácido oleico, albumina, dextrosa y glicerol, este último al igual que en el medio sólido inhibe el desarrollo de *M. bovis*. El complejo de sales inorgánicas presentes en este medio proporciona un ambiente inocuo para el crecimiento del bacilo tuberculoso, pues el citrato sódico tras su conversión a ácido cítrico mantiene los cationes inorgánicos necesarios en la solución usada<sup>29</sup>.

Por otro lado, como factores de enriquecimiento se disponen el conjunto de elementos como: dextrosa, albumina bovina, cloruro sódico (aporta electrolitos) y catalasa, siendo esta última la encargada de proteger el desarrollo del microorganismo al destruir peróxidos tóxicos que resulten tóxicos para *Micobacterium*, al igual que la albumina bovina, en función de un

agente protector fija ácidos grasos libres neutralizando la toxicidad mencionada y analizar los cultivos después de 7, 14 y de ser necesario a los 21 días para evaluar el crecimiento y pigmentación<sup>29</sup>.

### **Medio MODS**

El uso del medio de cultivo MODS es una variante del medio de cultivo tradicional Middlebrook 7H9 con la particularidad de que tiene suplementos de crecimiento del bacilo tuberculoso como glicerol, casitonina, ácido oleico, albumina, y catalasa (OADC) y una combinación de antibióticos como: polimixina B, anfotericina B, ácido nalidíxico, trimetoprima y azlocilina que reducen la contaminación del medio<sup>30</sup>.

Sin embargo, este tipo de método es poco usado debido a la complejidad y larga duración durante la preparación del OADC, además de aumentar el tiempo de espera por lo menos en 72 horas<sup>30</sup>.

### **BD BBL MGIT (Mycobacteria Growth Indicator)**

Del mismo modo a base de los componentes del caldo Middlebrook se ocupa un tubo indicador de crecimiento bacteriano BD BBL MGIT, el cual contiene suplementos de antibióticos SIRE (estreptomina, isoniazida, rifampicina y etambutol liofilizados), y un compuesto fluorescente en silicona ubicado en la zona inferior del tubo, el cual presenta sensibilidad al oxígeno disuelto en el caldo, de este modo, ante el crecimiento de los microorganismos y el consumo de oxígeno permite la fluorescencia del compuesto<sup>31</sup>.

Prácticamente este análisis se trata de una comparación de crecimiento de una cepa de *M. tuberculosis* en ausencia y presencia de antibióticos mencionados anteriormente, los cuales son leídos por un equipo de fluorescencia<sup>31</sup>.

El equipo usado mide la fluorescencia presente en el tubo ante la exposición a rayos de luz ultravioleta, cuya lectura es interpretada a base de algoritmos informáticos en el equipo, a partir del cual un resultado positivo se interpreta cuando se alcance un desarrollo bacteriano de aproximadamente  $10^5$ - $10^6$  UFC, o de caso contrario al no presentar ningún tipo de desarrollo bacteriano en un tiempo estimado de 42 días es registrado como negativo<sup>32</sup>.

## **Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos**

La historia de las pruebas de sensibilidad frente a *M. tuberculosis* surge paralela al desarrollo del tratamiento farmacológico específico de la tuberculosis, que se inicia con el descubrimiento de la estreptomina en 1944. La constatación del fracaso que suponían, a largo plazo, las monoterapias revelaron la repercusión que, de cara al control de esta enfermedad, iba a tener: 1) el desarrollo de resistencias por parte de *M. tuberculosis*; 2) la necesidad de disponer de métodos para poder detectarlas lo más precozmente posible; y 3) la eficacia de las estrategias de tratamiento combinado para combatirlas. Razones por las cuales se acude a realizar este tipo de pruebas<sup>17</sup>.

## **Métodos convencionales**

### **Método de las proporciones**

Este método creado por Canetti y colaboradores, posteriormente adaptado, cuantifica la proporción de clones resistentes a cada fármaco analizado dentro de una población de bacilos de *M. tuberculosis* hallados en una muestra del paciente<sup>33</sup>.

En su forma más simplificada, se prueba una única concentración crítica de cada antibiótico. Esta concentración se elige de manera que permita prever con la mayor precisión posible la eficacia del fármaco cuando se administra en el tratamiento, según la evaluación clínica o las pruebas indirectas disponibles<sup>33</sup>.

Utilizando un inóculo estandarizado, se contrasta el crecimiento observado en medio de cultivo que contiene cada fármaco con el observado en medio libre de fármaco. Se clasifica el aislamiento como resistente si el porcentaje de clones que permanece viable ante la acción del fármaco es igual o superior al 1%<sup>33</sup>.

Para lograr un crecimiento adecuado de colonias para su posterior conteo, el inóculo se divide en dos diluciones. Cada dilución se siembra en medios de cultivo tanto sin fármacos (control) como con cada fármaco en evaluación. Se recomienda también añadir una tercera dilución exclusivamente en el medio sin fármacos. Esta tercera dilución facilita el conteo de colonias en caso de que el inóculo sea elevado, evitando así repeticiones innecesarias<sup>33</sup>.

Es crucial que el inóculo sea uniforme y que las diluciones y volúmenes sembrados sean precisos para garantizar la precisión de los cálculos realizados. Los medios con agar facilitan una visualización temprana y acelerada del crecimiento, lo que reduce el tiempo de incubación en comparación con los medios basados en huevos<sup>33</sup>.

### **Método de nitrato reductasa**

Una opción rentable para acelerar los resultados de la prueba de sensibilidad en medios a base de huevos implica la adición de nitrato de sodio o potasio. Un resultado positivo se observará tanto en el medio con fármaco como en el medio sin fármaco si el aislamiento es resistente al antibiótico, y únicamente en el medio sin fármaco si es sensible<sup>33</sup>.

Óptimamente, el procedimiento debe llevarse a cabo directamente con muestras recién recolectadas que resulten positivas para bacilos ácido-alcohol resistentes (BK), o tan pronto como se observe crecimiento en el cultivo primario. El uso de muestras o cultivos envejecidos puede ocasionar una disminución en la actividad enzimática, lo que dificultaría obtener resultados interpretables. En tales casos, donde no es viable contar colonias, la comparación se realiza a partir de la intensidad del color de la reacción<sup>33</sup>.

### **Pruebas moleculares**

#### **La prueba Xpert MTB/Rif**

Esta prueba recurre a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real y fue recomendada por la OMS desde el año 2010. Puede identificar simultáneamente la presencia de tuberculosis y resistencia a la rifampicina (MTB-RR). Esta prueba está indicada para utilizarse con muestras de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis (TB) que no hayan recibido tratamiento antituberculoso o que hayan recibido menos de 3 días de tratamiento<sup>34</sup>.

Consiste en un ensayo de diagnóstico in vitro de PCR automatizada, semicuantitativa y en tiempo real, para la detección de fragmentos de ADN del complejo *M. tuberculosis*, así como mutaciones ligadas a la resistencia de rifampicina (RIF), a partir de muestras de esputo o sedimentos de esputo concentrados, con una tecnología de sistema cerrado que disminuye el riesgo de contaminación<sup>35</sup>.

El Xpert MTB/RIF es una prueba PCR automatizada, en tiempo real que con la ayuda de la plataforma tecnológica GeneXpert (Cepheid, Sunnyvale, CA, United States) que reconoce en un solo paso el complejo *M. tuberculosis* y también la resistencia a la rifampicina en el lapso de un tiempo promedio de 2 h con mínima intervención de operarios. Dentro del cartucho acoplado se integran el procesamiento de la muestra, la amplificación y la detección<sup>36</sup>.

Esta prueba es mucho más sensible para el diagnóstico de TB. La sensibilidad del Xpert MTB/Rif en muestras pulmonares de adultos es de 88% para baciloscopia (+), 68% para baciloscopia (-) y 79% en pacientes VIH (+), con una especificidad de 99%. Para la detección de TB-RR su sensibilidad es de 95%, con una especificidad del 98%. En muestras pulmonares de niños su sensibilidad es de 66%, con la misma especificidad de 98%, permitiendo un diagnóstico rápido al ofrecer resultados en 2 horas<sup>37</sup>.

### **Xpert MTB/Rif Ultra**

Su lanzamiento fue en 2017 y la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo recomienda como reemplazo de la prueba Xpert®MTB/RIF en todos los entornos. Tiene el objetivo de aumentar aún más la sensibilidad. El ensayo Xpert MTB/RIF Ultra es una prueba de diagnóstico in vitro de PCR en tiempo real, anidada y semicuantitativa, para la detección de MTBc y de su resistencia molecular a RIF. Es una prueba de diagnóstico en pacientes que no hayan recibido tratamiento antituberculoso<sup>38,39</sup>.

Es una prueba que utiliza la misma plataforma tecnológica de GeneXpert que su predecesor Xpert MTB/RIF. Se basa en una PCR anidada, que presenta varias modificaciones de la PCR convencional, esta expande las secuencias del ADN en dos rondas con dos pares de iniciadores. En una primera fase, se hace una PCR con dos iniciadores externos que amplifica una región extensa del ADN que contiene la secuencia diana; luego, en una segunda fase, este producto de amplificación sirve de molde para una segunda PCR con dos iniciadores internos que amplifican una región interna más pequeña<sup>36</sup>.

La longitud del producto de amplificación de la segunda PCR será de menor tamaño que la de la primera; esta forma de amplificación mejora la sensibilidad y especificidad del examen, también presenta termociclados muchos más rápidos, con mejoras en la polimerasa utilizada

y una cámara para la reacción del ADN que ayuda a utilizar un mayor volumen (50 µL vs. 25 µL), por ende, esto hace que facilite el análisis con una mayor cantidad de material genético. Se logró disminuir el LOD (gold standard) para el diagnóstico, a 15,6 UFC, 8 veces menor que el de Xpert MTB/RIF, con resultados negativos reportados en aproximadamente 60 min y reportes de resistencia en cerca de 90 minutos<sup>36</sup>.

### **Xpert MTB/XDR**

La prueba GeneXpert MTB/XDR, es una prueba PCR en tiempo real utilizada para la identificación de ADN del complejo *M. tuberculosis* extremadamente resistente a fármacos (XDR) en muestras de esputo. Se lanzó en el 2020 Xpert®MTB XDR, para la detección simultánea de mutaciones asociadas con la resistencia a múltiples fármacos antituberculosos de primera y segunda línea o tuberculosis extremadamente resistente a fármacos es una prueba rápida de amplificación de ácidos nucleicos para la detección de la enfermedad y resistencia a los medicamentos<sup>35</sup>.

Esta prueba fue rediseñada para mejorar la cobertura de mutaciones para isoniazida (INH) y diferenciar la resistencia a INH de bajo nivel, a partir de resistencia de nivel superior, identificar la resistencia a la etionamida (ETH), distinguir entre niveles bajos y altos de resistencia a los FLQ e identificar la resistencia cruzada versus la resistencia individual a los SLID. También se ha mejorado la sensibilidad general del ensayo y se ha reducido el tiempo<sup>40</sup>.

### **Ensayos con Sondas en Línea (LPA)**

Las pruebas de amplificación de líneas de sonda (LPA, por sus siglas en inglés) son una serie de pruebas de ADN utilizadas para detectar cepas específicas del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y determinar su resistencia a los medicamentos antituberculosos. Estas pruebas utilizan tiras reactivas y se basan en la tecnología de hibridación inversa del ADN<sup>41</sup>.

Extracción del ADN: este procedimiento consiste en la extracción de material genético de aislamientos de TB en cultivo o directamente de muestras de pacientes. Amplificación mediante PCR múltiple: Se lleva a cabo la amplificación del ADN extraído utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple, lo que permite la generación de múltiples copias de regiones específicas del genoma de *M. tuberculosis*<sup>41</sup>.

Hibridación inversa: Tras la amplificación, se realiza la hibridación inversa, en la cual se hace reaccionar las tiras reactivas con los amplicones obtenidos durante la PCR. Estas tiras contienen sondas específicas que se unen a secuencias determinadas del ADN amplificado. La visualización de la unión (o falta de unión) entre los amplicones y las sondas permite detectar mutaciones asociadas a la resistencia a los fármacos antituberculosos mutaciones<sup>41</sup>.

### **Ensayos con sondas en línea Genotype®MDRTBplus**

Este método de diagnóstico emplea tiras reactivas que contienen regiones moleculares parciales de los genes adheridas sobre ellas, detectando así alteraciones de resistencia a la rifampicina y las principales alteraciones presentes en la resistencia a isoniazida<sup>37</sup>.

Esta técnica se basa en una *PCR* múltiple de punto final que genera diferentes productos de amplificación los cuales, mediante una hibridación reversa, reconocen en forma de bandas sobre la tira las mutaciones génicas más frecuentemente asociadas a la resistencia a isoniazida y rifampicina<sup>37</sup>.

Realizada a partir de muestra directa de esputo tiene una sensibilidad de 95,7% para rifampicina, 95,8% para isoniacida y 95,3% para TB-MDR. La misma prueba molecular a partir de cultivos tiene una sensibilidad de 100% para detectar resistencia a rifampicina, 97,5% para isoniazida y 96,9% para TB-MDR<sup>37</sup>.

### **Ensayos con sondas en línea Genoscholar TB-NTM+MDR**

Esta prueba LPA, no está implementada aún en el Instituto de Salud Pública, pero sirve para detectar resistencia a medicamentos como rifampicina e isoniacida que no solo identifica al Complejo *M. tuberculosis* sino también a otros tipos de micobacterias como *M. avium*, *M. Intracellulare* y *M. Kansasii*. Se puede utilizar en muestras directas de esputo o en cultivos positivos, con una sensibilidad de 98,9% para rifampicina y 61,6% para isoniacida, y una especificidad de 97,3% y 100% respectivamente<sup>37</sup>.

### **Ensayos con sondas en línea Genotype MTBDR sl**

Este es un método de LPA que funciona con la misma tecnología que *Genotype®MDRTB plus*, pero esta identifica las alteraciones más comunes asociadas a la resistencia de fármacos,

aminoglucósidos (AMG) y fluoroquinolonas (FQ), las dos familias de fármacos de segunda línea cuya resistencia determina la presencia de tuberculosis extensamente resistente (TB-XDR). La sensibilidad global para detectar la TB-XDR es cercana al 80% y se puede realizar desde muestra directa y cultivo positivos<sup>37</sup>.

### **Tratamiento**

El tratamiento primario de infecciones por micobacterias es la quimioterapia específica y los fármacos utilizados se encuentran en el Anexo 8. Se sabe que uno de cada 10 personas y uno de cada 10 bacilos de tuberculosis son mutantes espontáneos que son resistentes a la acción de antifímicos de primera línea. Si se utilizan los medicamentos solos es decir independientes, surgen con rapidez las cepas resistentes. Por esa razón, con los esquemas de combinación de fármacos, se obtienen índices de cura mayores del 95%<sup>14</sup>.

Los principales fármacos que se utilizan para combatir la tuberculosis son dos (antifímicos) la isoniazida y la rifampicina. Los otros son pirazinamida, etambutol y estreptomina. Los fármacos de segunda, tercera, cuarta y quinta línea son más tóxicos, menos eficaces o tienen ambas características, y se recurrirá a ellos sólo en circunstancias extremas (ineficacia terapéutica y resistencia a múltiples fármacos)<sup>14</sup>.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA**

### **Tipo de investigación**

El presente trabajo “Cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar” fue una investigación de revisión bibliográfica caracterizada por tener un:

- **Enfoque:** cualitativo por que se buscó información de varias fuentes bibliográficas, obteniendo información sobre los medios de cultivo (solidos o líquidos) y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar.
- **Nivel:** descriptivo puesto que se presentó información recopilada de diferentes bases de datos científicas analizadas.
- **Diseño:** documental y no experimental debido a que el trabajo se enfocó en la búsqueda, análisis e interpretación de los datos e información obtenida a partir de la literatura consultada sin manipulación de variables.
- **Secuencia temporal:** el presente proyecto fue de corte transversal porque se llevó a cabo en un período de tiempo determinado y en un bloque único de resultados en artículos científicos desde el año 2014 al 2024.
- **Cronología de los hechos:** fue retrospectivo a partir de las publicaciones sobre el tema estudiado en las diferentes bases de datos bibliográficos.

### **Población**

Luego de aplicar los criterios de selección la población de estudio quedó establecida por 55 fuentes bibliográficas relacionadas con la temática de investigación y, además, publicadas en bases de datos bibliográficas como Pubmed, Scielo, Google libros, Elsevier, Manuales del MSP, OPS, OMS, Revista, Google Académico y de la biblioteca digital de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH) y otras. También se utilizaron operadores booleanos: AND, OR y NOT, los cuales que facilitaron la búsqueda de información específica y excluyeron investigaciones que no aportaban al desarrollo y avance de la investigación.

### **Muestra**

La muestra quedó conformada por 23 revisiones bibliográficas relacionadas con el cultivo y pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch en pacientes con tuberculosis pulmonar y

con una vigencia entre 5 y 10 años de ser publicadas y disponibles en las bases de datos seleccionadas, aplicando criterios de inclusión y exclusión.

### **Métodos de estudio**

Se aplicó el método teórico porque se realizó un análisis y síntesis de los artículos científicos, así como libros, manuales, sitios web de diferentes organizaciones internacionales que estén acorde a la temática de investigación.

### **Técnicas y procedimientos**

Técnica: Observación

Procedimiento: Se revisó todas las bases de datos bibliográficas reconocidas internacionalmente, para la recolección y tratamiento de la información descriptivamente.

### **Procesamiento Estadístico**

Se realizó mediante el análisis de contenidos e interpretación de los resultados obtenidos en las búsquedas bibliográficas con la triangulación de información.

### **Consideraciones Éticas**

No existen conflictos bioéticos porque la muestra no fue de origen biológico, en consecuencia, se respetó las normas éticas de la investigación científica. Los resultados científicos fueron empleados con fines no maleficentes.

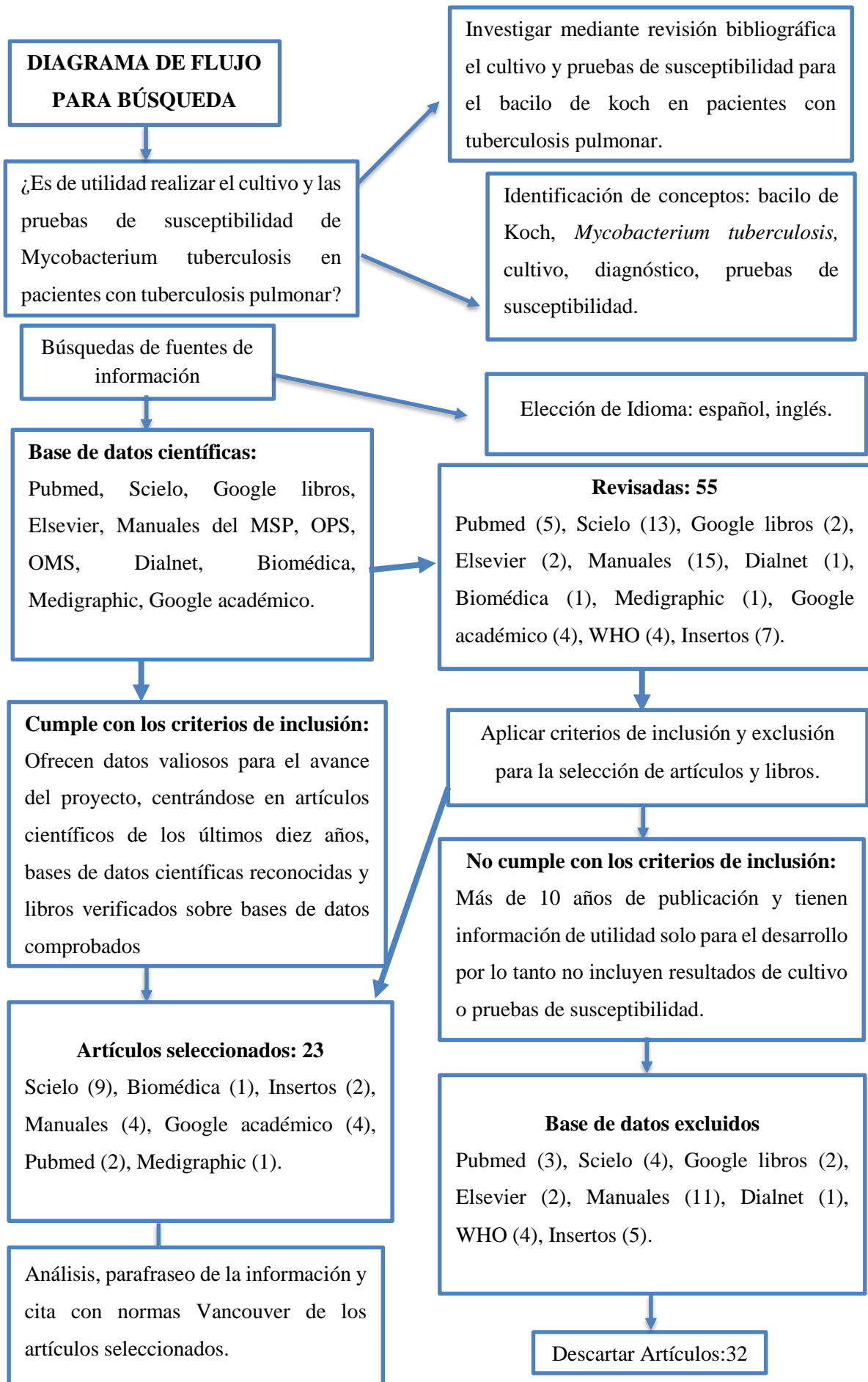
### **Criterios de inclusión y exclusión**

#### **Criterios de inclusión:**

- Artículos científicos publicados en bases científicas reconocidas.
- Artículos científicos publicados desde el 2014 hasta el 2024.
- Artículos y libros que contengan información concreta y directa acerca de las pruebas de susceptibilidad y cultivo de tuberculosis.
- Artículos científicos publicados en español e inglés.

#### **Criterios de exclusión:**

- Artículos científicos que estén publicados en otros idiomas que no sea el español o inglés.
- Artículos que requerían una orden de pago para acceder a la información completa.
- Libros o artículos que no brinden mucha información para el avance de la investigación.



## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Dentro de este capítulo se evidencia el análisis de resultados obtenidos a partir de distintos artículos científicos seleccionados de la base de datos, los cuales se enfatizaron en base a los objetivos específicos con respuesta al objetivo general planteado para darle respaldo a las variables mencionadas.

La muestra se determinó por 23 artículos revisados y analizados durante la investigación, lo cual se describe en dos acápites:

- Describir las pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, a través de la recopilación de información bibliográfica.
- Comparar el uso del cultivo del bacilo de Koch con otros métodos de diagnóstico.

En la tabla 1 se observa la descripción de pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, recopilada mediante información bibliográfica:

Tabla 1. Descripción de Pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch

Nº	Autores	Pruebas	Medicamentos antituberculosos	Susceptibilidad
1	Tuñez et al. <sup>42</sup>	Método de las proporciones (Pruebas convencionales)	<b>Primera línea:</b> Isoniazida Rifampicina Etambutol Estreptomina	En general (86%)
2	López et al. <sup>43</sup>	Método de nitrato reductasa (Pruebas convencionales)	<b>Primera línea:</b> Isoniazida Rifampicina Etambutol Estreptomina	Isoniazida (84,9%) Rifampicina (86,8%) Etambutol (58,8%) Estreptomina (54,5%)
3	González et al. <sup>44</sup>	Método de nitrato reductasa (Pruebas convencionales)	<b>Primera línea</b> Isoniazida Rifampicina Etambutol Estreptomina	Isoniazida (91 %) Rifampicina (92 %) Etambutol (68 %) Estreptomina (63%)
4	Agredo et al. <sup>34</sup>	Gene Xpert MTB/Rif (PCR- Pruebas moleculares)	<b>Primera línea</b> Isoniazida Rifampicina	Isoniazida (94,2 %) Rifampicina (78,8 %)

			Etambutol	Etambutol (25 %)
5	Estévez D. <sup>35</sup>	Gene Xpert MTB/Rif (PCR-Pruebas moleculares)	<b>Primera línea</b> Isoniazida Rifampicina	Ambos con un (95%)
6	Kay A. <sup>38</sup>	Gene Xpert MTB/Rif Ultra (PCR)	<b>Primera línea</b> Rifampicina	Rifampicina (75,3%)
7	Cao et al. <sup>40</sup>	Gene Xpert MTB/XDR (PCR)	<b>Primera línea</b> Etionamida Isoniazida	Etionamida (97,3%) Isoniazida (91,4%)
			<b>Segunda línea</b> Kanamicina Amicacina Capreomicina	Kanamicina (98,1%) Amicacina (99%) Capreomicina (70%)

			<b>Fluoroquinolonas</b> Ofloxacino Levofloxacino Moxifloxacino Gatifloxacino	En general (98,5%)
8	Arias et al. <sup>37</sup>	Ensayos con Sondas en Línea (LPA) <i>Genotype®MDRTBplus</i>	<b>Primera línea</b> Rifampicina Isoniacida	Rifampicina (95,7%) Isoniacida (95,8%)
		Ensayos con Sondas en Línea (LPA) <i>Genoscholar TB-NTM+MDR</i>	<b>Primera línea:</b> Isoniacida Rifampicina	Isoniacida (61,6%) Rifampicina (98,9%)
		Ensayos con Sondas en Línea (LPA) <i>Genotype MTBDR sl</i>	<b>Segunda línea</b> Amicacina Kanamicina	Es cercana al (80%)

			<b>Fluoroquinolonas:</b> Ciprofloxacino Ofloxacino Levofloxacino Moxifloxacino Gatifloxacino	
9	Símboli et al. <sup>45</sup>	Ensayos con Sondas en Línea (LPA)  <i>Genotype MTBDR sl</i>	<b>Segunda línea:</b> Amicacina Kanamicina	En general (86%)

**TB-NTM+MDR:** (Multi-resistencia a fármacos)

**MTB/XDR:** (Tuberculosis Extensamente Resistente)

**LPA:** Detección de resistencia a medicamentos de primera y segunda línea con sondas de ADN en tiras de nitrocelulosa.

## Discusión

La tuberculosis ha sido uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, puesto que no sólo se trata de saber si un paciente padece esta enfermedad mediante pruebas de diagnóstico, sino que también se deben realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, con el fin de identificar resistencia bacteriana a los medicamentos Cao et al.<sup>40</sup>

En muchas ocasiones la bacteria causante de esta afección respiratoria desarrolla mutaciones y puede adquirir resistencia a fármacos antituberculosos de primera, segunda línea y a las fluoroquinolonas. El tamizaje adecuado permite que el paciente pueda recibir un tratamiento eficaz, razón por la cual se han investigado varias pruebas según González et al.<sup>44</sup>

En la actualidad los métodos convencionales se han venido remplazando conforme avanza la tecnología, con el único objetivo de entregar resultados en el menor tiempo posible, es por eso por lo que en el presente trabajo de investigación se utilizaron fuentes bibliográficas antiguas para describir los métodos convencionales.

Tuñez et al.<sup>42</sup>, manifiestan que el método de las proporciones se puede realizar a partir de dos medios de cultivo sólidos como es el Löwenstein-Jensen o en el medio de base de agar 7H10, pero el más utilizado es el primero, por las características que presenta cada uno de estos como el tiempo de resultados y la sensibilidad que este presenta, con una susceptibilidad del (86%). Refieren, además que, a los mismos, se les puede agregar concentraciones específicas de antibióticos para realizar pruebas de susceptibilidad y resistencia a los antibióticos, pudiendo obtener resultados desde los 28 a 42 días.

López et al.<sup>43</sup> en su investigación realizada menciona que para identificar la susceptibilidad del bacilo de Koch a través del método de las proporciones y nitrato reductasa, se usan las mismas concentraciones de los antibióticos para la realización del antibiograma y para identificar la resistencia - sensibilidad a medicamentos antituberculosos: 0,2 µg/ml para isoniazida, 40 µg/ml para rifampicina, 2 µg/ml para etambutol y 4 µg/ml para estreptomina.

Este autor concuerda con Gonzales et al.<sup>44</sup> y Tuñez et al.<sup>42</sup>, en este tipo de concentraciones de los medicamentos. Por otra parte, estas técnicas sirven para verificar la resistencia a los antibióticos de primera línea.

Según González et al.<sup>44</sup>, cita que en el método de nitrato reductasa se utiliza de igual forma que el Löwenstein-Jensen, pero este tiene un grado más de complejidad, ya que se llega a utilizar el nitrato de potasio (1.000 µg/ml) para mejorar la técnica, trabajando con una escala de 1.0 McFarland y una dilución de 1:10 en agua destilada. Teniendo una sensibilidad y especificidad mayor al 90% y con una optimización del tiempo de 7 a 14 días para la interpretación de resultados, con susceptibilidad del 91% para Isoniazida y 92% a Rifampicina.

Símboli et al.<sup>45</sup> nos da a conocer que, gracias a los avances tecnológicos del siglo XXI, el área de salud se ha visto influenciada de una forma positiva en lo que es el diagnóstico y pruebas de susceptibilidad de TB pulmonar. Las pruebas moleculares son una de las más utilizadas en la actualidad.

Estas sirven para analizar la susceptibilidad antimicrobiana del bacilo de Koch. Presentan diferentes características muy importantes como es el tipo de muestra, sensibilidad, especificidad, tiempo de resultados y la resistencia a los diferentes tipos de medicamentos, siendo las pruebas más utilizadas la GeneXpert con sus diferentes modelos y los Ensayos con Sondas en Línea (LPA), de acuerdo a lo descrito por Arias et al.<sup>37</sup>

Agredo et al.<sup>34</sup>, mencionan que la prueba Xpert MTB/Rif se puede trabajar con muestras directas y cultivos ofreciendo resultados en un tiempo límite de 2 horas con una sensibilidad y especificidad que varía según el tipo de muestra. Esta prueba de susceptibilidad sólo va a identificar la resistencia a medicamentos de primera línea como la Isoniazida que obtuvieron un 94,2 %. Mientras Estévez D.<sup>35</sup>, en su investigación realizada con este mismo método logró obtener similar susceptibilidad a los fármacos antituberculosos (95%).

Sin embargo, Kay A.<sup>38</sup>, expone que el método Xpert MTB/Rif Ultra, no va a presentar grandes cambios en comparación con el Xpert MTB/Rif, en lo único que mejoró este método fue en el límite de detención de acuerdo con las unidades formadoras de colonias (UFC).

Cao et al.<sup>40</sup>, en el 2020, propone un nuevo método mejorado y más complejo que los anteriores, el Xpert MTB/XDR, que permite la detección de la resistencia antimicrobiana de fármacos de primera y segunda línea, así como las fluoroquinolonas con un tiempo para la

verificación de resultados en 90 minutos. Éste al igual que los anteriores tienen la facilidad para trabajar con muestras directas y cultivos, presentando una sensibilidad >94% y una especificidad del 100%, mucho mejor que los métodos anteriores.

Al igual, Arias et al.<sup>37</sup>, expresan que los métodos moleculares Genotype®MDRTBplus y Genoscholar TB-NTM+MDR, son pruebas muy utilizadas en la actualidad ya que, están diseñadas para trabajar diferentes tipos de muestras y también para la identificación de medicamentos antituberculosos de primera línea, permitiendo así la detección de resistencia a la rifampicina (R) y a la isoniazida (H), debido a que identifica mutaciones específicas en la región del gen *rpoB*, que abarca desde el codón 505 hasta el codón 533 en el primero y en el segundo fármaco en el promotor *inhA* (ubicado entre los nucleótidos -16 y -8 en dirección 5') y en regiones genómicas de *katG*, específicamente en el codón 315.

La prueba molecular Genotype MTBDR sl, referida por Símboli et al.<sup>45</sup> y Arias et al.<sup>37</sup>, se basa en identificar la susceptibilidad a medicamentos de segunda línea y fluoroquinolonas. Diseñada también detectar resistencia a antibióticos específicos de segunda línea utilizados en el tratamiento de la tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) y extensamente resistente a los medicamentos (TB-XDR), pero además identifica mutaciones genéticas en estos tipos de cepas.

En la tabla número 2 se presenta la comparación del uso del cultivo del bacilo de Koch con otros métodos de diagnóstico:

Tabla 2. Comparación del uso del cultivo con otros métodos de diagnóstico

N°	Autor	Método diagnóstico			Tiempo de respuesta	Sensibilidad	Especificidad
		Medios de cultivo	Baciloscopia	Pruebas Moleculares			
1	Salcedo et al. <sup>46</sup>	Medio de Löwenstein-Jensen (Cultivo sólido)			8 semanas  Cultivos positivos 13 a 28 días	100%	98,7%
		Medio MODS (Cultivo líquido)			7 a 14 días	100%	100%
2	Becton, Dickinson and Company <sup>28</sup>	Middlebrook 7H10 Agar (Cultivo sólido)			7 a 14 días hasta 21	82%	100%
3	Carrasco & Cols. <sup>47</sup>	Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol (Cultivo líquido)			5 a 7 días después de la inoculación  1 vez por semana	90%	90%

					durante un máximo de 8 semanas		
4	Fernández et al. <sup>48</sup>	Medio MODS (Cultivo líquido)			7 a 14 días	95%-98%	96%-100%
5	Bordón et al. <sup>32</sup>	BD BBL MGIT (Cultivo líquido con lectura automatizado por fluorescencia)			Detección rápida (<1h). Cultivos negativos hasta 42 días.	>95%	>95%.
6	Flores et al. <sup>49</sup> Jaramillo et al. <sup>50</sup>		Tinción Ziehl-Neelsen (Baciloscopia)		<2 horas	80%	97.5%
7	Macero et al. <sup>35</sup> Martínez et al. <sup>51</sup>			Xpert MTB/RIF Prueba molecular	<2 horas	95%	98%
8	Rodríguez et al. <sup>36</sup>			Xpert MTB/RIF Prueba molecular	<2 horas	97%-99%	100%

9	Rochem Biocare <sup>52</sup> Baquero et al. <sup>53</sup>			Xpert MTB/XDR (Extensamente resistente) Prueba molecular	<90 minutos	>85%	100%
10	Arias et al. <sup>37</sup>			Xpert MTB/Rif Ultra Prueba molecular	60 a 90 minutos	88%	96%
				Genotype®MDRTBplus (v 2.0) Prueba molecular- (LPA)	3 días	100%	100%
				Genoscholar TB- NTM+MDR (Multi- resistencia a fármacos) Prueba molecular- (LPA)	3 días	90,6%	100%

11	Hain Lifescience <sup>54</sup>			Xpert MTB/Rif Ultra Prueba molecular	60 a 90 minutos	88%	96%
12	Alvis et al. <sup>55</sup>			Genotype MTBDR s/ Prueba molecular-(LPA)	3 días	56%-100 %	21%-100 %

**MODS:** (Observación microscópica de la sensibilidad a los fármacos)

**TB-NTM+MDR:** (Multi-resistencia a fármacos) **MTB/XDR:** (Tuberculosis Extensamente Resistente)

**LPA:** Detección de resistencia a medicamentos de primera y segunda línea con sondas de ADN en tiras de nitrocelulosa.

## Discusión

Diagnosticar la tuberculosis es un gran desafío en el campo de la salud pública, lo cual ha llevado a desarrollar diferentes métodos para la determinación del bacilo de Koch, en el área de microbiología. El uso de cultivos ha sido considerado durante mucho tiempo como el estándar de oro en el diagnóstico de esta enfermedad por ser el más rentable y sensible, sin embargo, su principal limitación radica en el prolongado tiempo que se requiere para obtener resultados, lo que puede retrasar el inicio del tratamiento y aumentar el riesgo de transmisión de la enfermedad.

Otro método de diagnóstico para el *Mycobacterium tuberculosis* es la tinción de Ziehl-Neelsen, que proporciona resultados más rápidos que el cultivo, pero pueden ser menos sensibles, debido a limitaciones humanas, puesto que el conteo celular se debe realizar en al menos 100 campos. Sin embargo, las pruebas moleculares tienen mayor sensibilidad y especificidad, aunque su principal limitante son los costos elevados que presentan, pero a la vez son menos sensibles en muestras con una baja carga bacteriana<sup>50</sup>.

Para Flores et al.<sup>49</sup> y Jaramillo et al.<sup>50</sup>, la coloración de Ziehl-Neelsen en extendido o frotis presenta una sensibilidad del 80% siendo así la técnica menos apropiada, pero es recomendada por la OMS y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias en laboratorios que no pueden implementar pruebas moleculares debido al bajo costo para su implementación con una buena especificidad en nuestro medio y con un entrenamiento relativamente simple.

Por otro lado, Flores et al.<sup>49</sup>, afirman que una de las limitaciones de la baciloscopia es su baja sensibilidad en la detección, ya que exige una concentración mínima de bacilos por muestra de 5 000 a 10 000 bacilos/mL para obtener un diagnóstico positivo. Esta condición conlleva a que un porcentaje variable de casos de tuberculosis (entre 30-50 %) no sean bacilíferos, lo que implica que un resultado negativo en la baciloscopia no descarta la presencia de la enfermedad.

Así también, Salcedo et al.<sup>46</sup>, en su estudio concluyen que, el medio de cultivo sólido generalmente utilizado Lowenstein Jensen tiene una sensibilidad del 100% y especificidad de 98,7% con una limitación de tiempo de respuesta que puede requerir varias semanas, sin

embargo, Carrasco y cols.<sup>47</sup>, junto con Flores et al.<sup>49</sup>, indican que los cultivos en medio líquido tienen una sensibilidad más alta para el crecimiento de *M. tuberculosis* (positividad aumentada hasta un 20% más) y un reducido tiempo de detección (10-14 días con respecto a los sólidos que tardan 8 semanas).

En el estudio realizado por Salcedo et al.<sup>46</sup>, determinaron que al ser MODS un método de cultivo en medio líquido, tiene un crecimiento mucho más rápido que en Lowenstein Jensen. MODS es más rápido, sumamente sensible, efectivo y sobre todo más económico que el medio sólido; cabe destacar que ha sido reconocido como una prueba válida para el diagnóstico de TB por la OMS, además, sirve para determinar la sensibilidad a las drogas.

Fernández et al.<sup>47</sup> y Salcedo et al.<sup>45</sup>, determinan que el medio de cultivo líquido MODS presenta una sensibilidad (95-98%) y una especificidad (96-100%) mayor con respecto de los demás, pero el inconveniente que tiene es la tasa de contaminación que parece ser más alto en comparación con los sólidos. Por tal motivo la OMS recomienda su uso en paralelo para el aislamiento primario de micobacterias<sup>47</sup>.

Becton, Dickinson and Company<sup>29</sup>, Carrasco y cols.<sup>47</sup> dedujeron que los medios de Middlebrook rara vez se utilizan de manera rutinaria en países con recursos limitados debido a su alto costo; tiene una duración corta y una mayor tasa de contaminaciones al contener una concentración mínima de verde de malaquita. Además, junto a Fernández et al.<sup>47</sup> determinan que el almacenaje es delicado ya que un exceso de temperatura o exposición a la luz puede deteriorar el medio y estimular la producción de formaldehído que es tóxico para las micobacterias, por lo que su elección depende del propósito del cultivo.

Bordón et al.<sup>32</sup>, resaltan que el medio de cultivo líquido BD BBL MGIT tiene una capacidad de detectar cargas bacterianas más bajas en comparación con los sólidos, lo que resulta en una mayor tasa de detección en pacientes con infecciones de baja intensidad o con muestras clínicas escasas. Los sistemas automatizados de lectura de MGIT pueden realizar un seguimiento preciso del crecimiento bacteriano utilizando indicadores de fluorescencia, pero puede ser más costoso de implementar, así también, la disponibilidad de equipos especializados y personal capacitado puede ser un desafío en entornos con recursos limitados, lo que puede restringir su uso en ciertas regiones.

En contraste, otros investigadores, como Jaramillo et al.<sup>50</sup>, consideran que utilizando una técnica molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se puede obtener una sensibilidad del 95% y una especificidad del 98%, lo que significa que la tasa de resultados falsos positivos y negativos puede ser muy baja, destacando la rapidez junto a la especificidad en comparación con el cultivo que puede tardar semanas.

Desde el punto de vista de Arias et al.<sup>37</sup> *Xpert MTB/Rif* es mucho más sensible que la baciloscopia para el diagnóstico de la TB, pero su sensibilidad es menor que el cultivo tanto sólido como líquido, no obstante, la Organización Mundial de la Salud avala y recomienda para la detección de TB-RR (TB Resistencia a la RIF). Macero et al.<sup>35</sup> y Martínez et al.<sup>51</sup>, dentro de su investigación obtuvieron una sensibilidad y especificidad similar al estudio realizado por Rodríguez et al.<sup>36</sup>, concluyendo así que, en países con baja prevalencia de TB se podría esperar un beneficio económico, siempre y cuando la preocupación por los falsos negativos fuera realmente baja, en efecto se podrían disminuir los tratamientos anti-TB iniciados empíricamente.

En la prueba molecular *Xpert MTB/RIF Ultra* se han realizado ajustes para lograr bajar el límite de detección a 10 UFC/mL, un nivel que es similar o mejor que el del cultivo líquido según Arias et al.<sup>39</sup>. Mientras que Rodríguez et al.<sup>38</sup> y Baquero et al.<sup>53</sup>, establecen que, aunque no reemplazan al cultivo como técnica de referencia, tiene una sensibilidad próxima a éste, alta especificidad y permiten obtener resultados en poco período de tiempo (entre 60 y 90 minutos). Es la técnica más extendida, que permite detectar simultáneamente la resistencia a la rifampicina.

La (OMS) sugiere la utilización del *Xpert MTB/RIF* y *Xpert Ultra* como pruebas diagnósticas iniciales en adultos y niños que presenten signos y síntomas de esta enfermedad<sup>45</sup>.

Como plantea Baquero et al.<sup>53</sup>, en su investigación, la prueba de referencia para el estudio de la sensibilidad a los fármacos antituberculosos es el cultivo, sin embargo, se han desarrollado pruebas moleculares rápidas para la detección de mutaciones asociadas a

resistencia que tienen la gran ventaja de su rapidez, alta sensibilidad (90-97% si la baciloscopia es positiva, 67% si la baciloscopia es negativa) y especificidad (99%).

Los autores anteriormente mencionados junto a Arias et al.<sup>37</sup>, Roche Biocare<sup>52</sup> y Hain Lifescience<sup>54</sup> refieren que además de Xpert® MTB/RIF Ultra, las técnicas más empleadas son aquellas que detectan mutaciones de resistencia a isoniazida y rifampicina como el Genotype® MTBDRplus o Genoscholar TB-NTM+MDR, y para fármacos de segunda línea, el Xpert® MTB/XDR o GenoType® MTBDRsl. Alvis et al.<sup>55</sup>, señalan que esta última prueba detecta las mutaciones más comunes en los genes *gyrA*, *rrs* y *embB*, relacionadas con la resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y etambutol. Sin embargo, es importante considerar las limitaciones, el mayor costo, la necesidad de equipos especializados y personal capacitado.

Por la situación de recursos limitados para algunos laboratorios, Baquero et al.<sup>53</sup>, afirma que el cultivo puede seguir siendo el método preferido debido a su menor costo y a la disponibilidad de una infraestructura básica.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados y los artículos revisados en la presente investigación se concluye lo siguiente:

1. Las pruebas de susceptibilidad para el bacilo de Koch, según la revisión bibliográfica realizada, que fueron usadas con mayor frecuencia son las de tipo molecular como la Gene Xpert MTB/Rif, Gene Xpert MTB/Rif Ultra, Gene Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDR TBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR* y la *Genotype MTBDR sl*. Estos han remplazados a los métodos convencionales debido a que se pueden trabajar diferentes tipos de muestras, pero además presentan una sensibilidad y especificidad muy alta y con un tiempo de detención máximo de 90 minutos lo que permite resultados más eficaces y rápidos que ayudan a implementar un tratamiento oportuno para pacientes con TB pulmonar.

2. En cuanto al uso de métodos diagnósticos para la Tuberculosis Pulmonar también se demostró que las pruebas moleculares (Xpert MTB/RIF, Xpert MTB/Rif ultra, Xpert MTB/XDR, *Genotype®MDR TBplus*, *Genoscholar TB-NTM+MDR*, *Genotype MTBDR sl*) fueron las más aplicadas, seguidas de los métodos convencionales: medios de cultivo líquidos (MODS, Middlebrook 9H7 y BD BBL MGIT) y sólidos (Lowenstein-Jensen y Middlebrook 7H10) y por último la tinción de Zhiel Neelsen que fue la menos empleada.

3. Los medios de cultivo líquidos son más útiles a diferencia de los sólidos, acortan el tiempo para la obtención de resultados con una sensibilidad y especificidad similar a una prueba molecular las cuales también aportan resultados confiables acortando indudablemente el tiempo de respuesta, para garantizar un diagnóstico preciso y oportuno, además del manejo efectivo de la enfermedad, pero al tratarse de un método que emplea técnicas de biología molecular presentan un costo muy elevado en comparación con los demás, por esta razón no todos los laboratorios pueden realizarlas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adigun R, Singh R. StatPearls [Online].; 2023 [cited 2023 diciembre 12]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441916/>.
2. Ortiz C, Aspiazu K, Pacheco K. Mycobacterium tuberculosis en muestras de pacientes pulmonares y extrapulmonares del Hospital Vicente Corral Moscoso. VIVE. Revista de Investigación en Salud. 2022 agosto; 5(14).
3. Ministerio de Salud Pública de Ecuador. MSP. [Online].; 2019 [cited 2023 diciembre 12]. Available from: [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/03/informe\\_anual\\_TB\\_2018UV.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/03/informe_anual_TB_2018UV.pdf).
4. Organización Panamericana de la Salud. Tuberculosis en las Américas. Informe regional 2021. OPS, editor. Washington; 2022.
5. Organización Mundial de la Salud. OMS. [Online].; 2023 [cited 2023 diciembre 13]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
6. Ministry of Health and Family Welfare. Coming Together to End TB Altogether Nueva Delhi; 2022.
7. Lestari T, Fuady A, Yani F, Putra W, Pradipta I, Chaidir L, et al. The development of the national tuberculosis research priority in Indonesia: A comprehensive mixed-method approach. PLOS ONE. 2023 febrero; 18(2).
8. Bernal D, Torres O, Colorado A, Sánchez H. Tuberculosis en México en tiempos de COVID-19: algunas reflexiones. Enfermedades emergentes. 2021; 20(3).
9. Renge. Edición médica. [Online].; 2023 [cited 2023 diciembre 16]. Available from: <https://www.edicionmedica.ec/secciones/salud-publica/con-la-pandemia-se-dejo-de-buscar-sintomaticos-y-los-casos-de-tuberculosis-aumentaron--100343>.
10. Bonilla W, Jaramillo J, Roca R, Borja M. Infección por Mycobacterium tuberculosis. Diagnóstico y tratamiento. reciMundo. 2021 noviembre; 5(1).
11. Viñuelas J, Asunción M, Samper S. Diagnóstico rápido de la tuberculosis. Detección de mecanismos de resistencia. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2017 octubre; 35(8).
12. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. MSP. [Online].; 2017 [cited 2023 diciembre 12]. Available from: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2017/03/LEY-ORG%C3%81NICA-DE-SALUD4.pdf>.
13. Peñata A, Holguín A, Atehortúa S, Vergara P, Castaño T, Bustamante J, et al. Evaluación de una prueba de biología molecular para la identificación de Mycobacterium

tuberculosis y sensibilidad a medicamentos de primera y segunda línea en un hospital de alta complejidad. Revista de la asociación Colombiana de infectología. 2017 junio; 21(4).

14. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25<sup>a</sup>.ed. México D.F: McGRAW-HILL interamericana editores, S.A. de C.V; 2011. ISBN: 978-607-15-0503-3

15. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 7th ed. Elsevier Health Sciences, Barcelona España; 2013.

16. Organización Mundial de la Salud. Regionales de la OMS. [Online].; 2023 [cited 2024 abril 23]. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/07-11-2023-tuberculosis-response-recovering-from-pandemic-but--accelerated-efforts-needed-to-meet-new-targets>.

17. Fernández de Vega F, Esteban J, González J, Palacios J. Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno, editors. Madrid; 2016.

18. Arévalo A, Alarcón H, Arévalo D. Métodos diagnósticos de Tuberculosis; lo convencional y los avances tecnológicos en el siglo XXI. Scielo. 2015; 21(1).

19. Fernando Baquero Artigaoterresa del rosal. Update on the diagnosis and treatment of tuberculosis. Anales de Pediatría. 2023 junio; 98(6).

20. Arias F, Gutiérrez R, Gallardo M, Moreno M, Muñoz I, Kohan K, et al. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Santiago de Chile; 2019 mayo.

21. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. "Enfermedades infecciosas | tuberculosis Guía para el equipo de Salud" Manual. 2nd ed. Argentina; 2015.

22. Alcaide F. Diagnóstico microbiológico actual de la tuberculosis. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 2017 agosto-septiembre; 35(7).

23. Ministerio de Salud de Bolivia. Manual de Normas Técnicas en Tuberculosis. Programa Nacional de Control de Tuberculosis y Lepra ed. La Paz; 2017.

24. Trabado C, Cordero E, Garita R, Brenes M. Manual de normas y procedimientos técnicos para el diagnóstico San José; 2016 diciembre.

25. Nieto Ramirez L. Estudios de la tuberculosis desde la Sucursal del Cielo. 1st ed. Cali: Editorial Universidad Icesi; 2021.

26. Britania S.A. Britanialab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225\\_inserito\\_es.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225_inserito_es.pdf).

27. Becton, Dickinson and Company. BdLab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from:

<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22832#:~:text=Lowenstein%2DJensen%20Medium%20se%20utiliza,tuberculosis%20y%20otras%20especies%20micobacterianas.&text=Lowenstein%20formul%C3%B3%20originalmente%20un%20medio,parcial%20de%20otras%20bacterias1%2C2>.

28. Becton, Dickinson and Company. BDLab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22863>.
29. Becton, Dickinson and Company. BDLab. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 06]. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22852>.
30. Rodríguez J, Alcántara R, Rodríguez J, Vargas J, Roncal E, Antiparra R, et al. Evaluation of three alternatives cost-effective culture media for Mycobacterium tuberculosis detection and drug susceptibility determination using the microscopic observation drug susceptibility (MODS) assay. Tuberculosis (Edinb). 2022 diciembre; 137(1).
31. Becton, Dickinson and Company. BDLab. [Online].; 2019 [cited 2024 enero 06]. Available from: [https://static.bd.com/documents/eifu/8008200\\_ZMG\\_A\\_RL\\_8008200\\_ES.pdf](https://static.bd.com/documents/eifu/8008200_ZMG_A_RL_8008200_ES.pdf).
32. Bordón A, Muñoz F, Oviedo J. Guía Técnica para el cultivo de Micobacterias en medio líquido. 1st ed. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública de Chile; 2018.
33. Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue. Guía técnica para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte 3 Pruebas de Sensibilidad. Primera ed. Lima: ORAS - CONHU; 2018.
34. Agredo F, Osorio L. Coverage and fidelity of the Xpert MTB/RIF™ implementation in a high-burden area for pulmonary tuberculosis in Colombia. Biomedica. 2020 diciembre; 40(4).
35. Macero C, Moreno X, Oliveira D. Prueba Xpert® MTB/RIF para el diagnóstico de Tuberculosis en el Instituto Médico La Floresta. Boletín Venezolano de Infectología. 2022 julio; 33(1).
36. Rodríguez D, Villamil L, Lasso J, Garzón J, Celis C. Xpert MTB/RIF Ultra: innovación en el diagnóstico de la tuberculosis. Universitas Medica. 2021 enero-diciembre; 62(1).
37. Arias F, Herrera T. Nuevos métodos para el diagnóstico de la tuberculosis. Revista Chilena de enfermedades respiratorias. Diciembre 2016; 32(4).

38. Kay A, Verkuijl S, Viney K, Brand A, Masini T, González L, et al. Xpert MTB/RIF Ultra assay for tuberculosis disease and rifampicinresistance in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2022;(9).
39. Jbara Chakhtoura S. Guía para el montaje y la interpretación de la prueba Xpert MTB/RIF ultra para el diagnóstico de la tuberculosis Tres Ríos; 2022.
40. Cao Y, Parmar H, Gaur RL, Lieu D, Raghunath S, Via N, et al. Xpert MTB/XDR: un ensayo reflejo de 10 colores adecuado para entornos de puntos de atención para detectar resistencia a isoniazida, fluoroquinolonas y fármacos inyectables de segunda línea directamente a partir de esputo positivo a *Mycobacterium tuberculo*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2021 febrero; 59(3).
41. Organización Panamericana de la Salud. Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 3: Diagnóstico. Métodos de diagnóstico Washington; 2020.
42. Pérez del Molino M, Tuñez V, García M, Lado F. Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis. *Medicina Integral*. 2002 marzo; 39(5).
43. López M, Álvarez C. Utilidad del ensayo de nitrato reductasa en la detección de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente en caso de recursos limitados. *Revista Biomedica*. 2011 marzo; 31(2).
44. González L, Sánchez R, Murcia MI. Utilidad de la prueba de la nitrato reductasa para la detección rápida de resistencia en *Mycobacterium tuberculosis*. *Biomédica*. 2014 agosto; 34(1).
45. Símboli N, González C. Diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Estado actual del conocimiento. *Revista Americana de Medicina Respiratoria*. 2022 septiembre; 22(3).
46. Salcedo I, Ceballos V, Guillén L, Pimentel R. Detección de *Micobacterium Tuberculosis* por Observación Microscópica y Susceptibilidad a las Drogas. *Revista Académica Biomédica Digital*. 2014 enero.
47. Carrasco G, Hasdeu S, cols. Solicitud de incorporación de nuevo equipamiento para diagnóstico microbiológico de la tuberculosis; 2019.
48. Fernández F, Moreno JE, Martín JG, Gutiérrez JJP. Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias. 55th ed. Madrid: SEIMC; 2016.
49. Flores AA, Ochoa MD, Sánchez A. Estrategias diagnósticas aplicadas en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2016; 54(1).

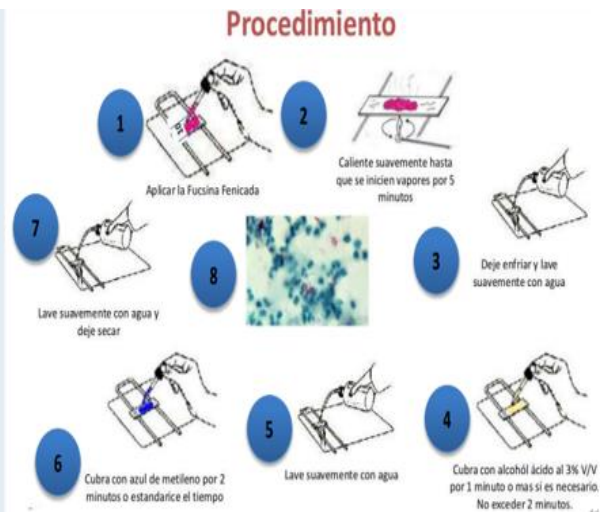
50. Jaramillo Grajales M, Torres Villa R, Pabón Gelves E, Marín Muñoz P, Barrientos Urdinola K, Montagut Ferizzola Y, et al. Diagnóstico de tuberculosis: desde lo tradicional hasta el desarrollo actual. *Medicina y Laboratorio*. 2015 agosto; 21(7-8).
51. Martínez TH, Muñoz FA, Lobos NR. MANUAL OPERATIVO Implementación del GeneXpert MTB/RIF en el Programa de Tuberculosis. 1st ed. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública de Chile; 2017.
52. Rochem Biocare S.A. anmat. [Online].; 2022 [cited 2024 enero 08]. Available from: <https://helena.anmat.gob.ar/uploads/pdfs/IF-2022-109707235-APN-INPM%20ANMAT.pdf?rnd=af5f40b8-6a88-4c8a-8070-fb2085201746>.
53. Baquero Artigao F, Del Rosal T, Falcón Neyra L, al e. Actualización del diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. *ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE PEDIATRÍA*. 2023 junio; 98(6).
54. Hain Lifescience. Hardwiesenstraße. [Online].; 2015 [cited 2024 enero 08]. Available from: [https://www.hain-lifescience.de/include\\_datei/kundenmodule/packungsbeilage/download.php?id=936](https://www.hain-lifescience.de/include_datei/kundenmodule/packungsbeilage/download.php?id=936).
55. Alvis-Zakzuk NJ, Carrasquilla MdlÁ, Gómez VJ, Robledo, Alvis-Guzmán NR, Hernández JM. Precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente. *Revista del Instituto Nacional de Salud Biomédica*. 2017; 37(3).

# **ANEXOS**

## Anexo 1. Procedimiento para realizar la Tinción de Ziehl-Neelsen

### Tinción de Ziehl-Neelsen para acidorresistentes

- 1) Fijar la extensión con calor
- 2) Cubrir con carbolfucsina, calentar suavemente 5 min sobre la llama directa (o 20 min en baño María). No se permitirá que las extensiones hiervan o se sequen
- 3) Lavar con agua desionizada
- 4) Decolorar con una mezcla de ácido-alcohol al 3.0% (95% de etanol y 3.0% de ácido clorhídrico) hasta que persista un color rosa débil
- 5) Lavar con agua
- 6) Aplicar azul de metileno de Loeffler durante 1 min como tinción de contraste
- 7) Lavar con agua desionizada y dejar secar



**Fuente:** Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25<sup>a</sup>.ed.

<https://www.coursehero.com/file/73581174/PRACTICA-NO4-A-8docx-pdf/>

## Anexo 2. Tuberculosis Pulmonar causada por *M. tuberculosis*



**Fuente:** Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 7a ed. Saunders; 2013.

### Anexo 3. Resumen de muestras de origen pulmonar

MOMENTO, CONDICIONES DE RECOLECCIÓN, TIEMPO DE CONSERVACIÓN Y NÚMERO DE MUESTRAS NECESARIAS					
TIPO MUESTRA	Momento recolección	Condiciones recolección	Cantidad de muestra	Tiempo de conservación	Número de muestras necesarias
Expectoración espontánea	Se recomienda 1 inmediata y una matinal	Después de un esfuerzo de tos, en un espacio ventilado, en forma individual para evitar contaminación con los aerosoles que se producen al momento de toser	Mínimo 2mL por muestra	24-48 horas. Máximo 5 días a 4°C protegido de la luz	2
Expectoración inducida	Sin indicación	Maniobras kinésicas o nebulización laríngea	La cantidad que se puede recolectar	24-48 horas. Máximo 5 días a 4°C protegido de la luz	En lo posible 2
Lavado Bronco alveolar	Sin indicación	Procedimiento médico por fibrobronoscopia	La cantidad que se puede recolectar	Procesar inmediatamente. Máximo 4 horas a 4°C protegido de la luz	1
Contenido gástrico	Matinal en ayuna	Extracción del contenido gástrico	La cantidad que se puede recolectar	Procesar inmediatamente Máximo 4 horas a 4°C protegido de la luz	2

**Fuente:** Manual de Organización y Procedimientos del Programa Nacional de Control y Eliminación de la Tuberculosis, 2015, MINSAL.

### Anexo 4. Interpretación estandarizada de la baciloscopia

Resultado del examen microscópico	Informe
No se encuentran BAAR en los 100 campos observados	No se observan bacilos ácido alcohol resistentes
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados	Nº exacto de bacilos en 100 campos
Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

**Fuente:** Manual de Organización y Procedimientos del Programa Nacional de Control y Eliminación de la Tuberculosis, 2015, MINSAL.

**Anexo 5.** Micobacteria ambiental - *Mycobacterium tuberculosis*



**Fuente:** <https://www3.paho.org/spanish/AD/DPC/CD/tb-labs-cultivo.pdf>

**Anexo 6.** Intensidad de la positividad de micobacterias en medio Lowenstein-Jensen

Morfología macroscópica	Resultado
Colonias confluentes	Positivo (+++)
Colonias separadas	Positivo (++)
Presencia de 20-100 colonias	Positivo (+)
Menor a 20 colonias	Positivo (Informar el recuento)
Ausencia de colonias	Negativo
Desarrollo en la 1ª semana de incubación	Cultivo contaminado

**Fuente:** [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225\\_inserto\\_es.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225_inserto_es.pdf)

**Anexo 7.** Intensidad y pigmentación de la positividad de micobacterias en medio Middlebrook and Cohn 7H10 Agar

<b>Morfología macroscópica</b>	<b>Resultado</b>
Colonias confluentes (>500)	Positivo (++++)
Colonias casi confluentes (200-500)	Positivo (+++)
Presencia de 100-200 colonias	Positivo (++)
Presencia de 50-20 colonias	Positivo (+)
Menos de 50 colonias	Positivo (Informar recuento real)
Ausencia de colonias	Negativo
<b>Pigmentación de las colonias en medio Middlebrook</b>	
<b>Coloración</b>	<b>Resultado</b>
Blanco, crema/beige	No cromógeno (NC)
Limón, amarillo, naranja, rojo	Cromógeno (Ch)

**Fuente:** <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22863>

**Anexo 8.** Grupo de fármacos utilizados en el tratamiento de la Tuberculosis

<b>GRUPO</b>	<b>CLASIFICACIÓN</b>	<b>FÁRMACO</b>
Grupo I	Primera Línea	Isoniacida, rifampicina, etambutol, pirazinamida
Grupo II	Fluoroquinolonas	Ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina
Grupo III	Inyectables	Kanamicina, amikacina, capreomicina, estreptomina
Grupo IV	Agentes bacteriostáticos orales	Cicloserina/terizidona, etionamida/protionamida, ácido paraminosalicílico
Grupo V	Fármacos de eficacia en estudio	Clofazimina, linezolid, amoxicilina/clavulanato, carbapenems (imipenem-

		cilastatin y meropenem), INH en altas dosis, bedaquilina* y delamanid*
--	--	--

**Fuente:**

[https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52261/9789275321874\\_eng.pdf?sequence=1  
&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52261/9789275321874_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y)