

### Eficacia de la prueba de amplificación genética por reacción en cadena de polimerasa y del cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*, en muestras obtenidas por biopsia pleural con aguja, en pacientes con derrame pleural.

### *Efficacy of the genetic amplification test by polymerase chain reaction and culture of *Mycobacterium tuberculosis*, in samples obtained by pleural needle biopsy, in patients with pleural effusion.*

Oscar Neri Alquízar-Horna <sup>1,a</sup>, Luis Alberto Concepción-Urteaga <sup>1,b</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Medicina, Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

<sup>a</sup> Médico especialista en Neumología, Hospital Regional Docente de Trujillo, maestro en Medicina.

<sup>b</sup> Médico especialista en Neumología, Hospital Regional Docente de Trujillo, doctor en Medicina.

**Correspondencia:** Oscar Neri Alquízar Horna. ✉ oalquizar@unitru.edu.pe

**Recibido:** 02/04/2022

**Aceptado:** 15/06/2022

**Citar como:** Alquízar-Horna O, Concepción-Urteaga L. Eficacia de la prueba de amplificación genética por reacción en cadena de polimerasa y del cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*, en muestras obtenidas por biopsia pleural con aguja, en pacientes con derrame pleural. *Rev méd Trujillo*.2022;17(2):056-061. doi: <https://doi.org/10.17268/rmt.2022.v17i2.4566>

#### RESUMEN

**Objetivo:** comparar la eficacia de la prueba de ampliación genética por reacción en cadena de Polimerasa (PCR) y del cultivo para *M. tuberculosis* (Cultivo BK) en muestras de pleura parietal obtenidas por biopsia con aguja, en el diagnóstico de tuberculosis pleural. **Métodos:** se estudiaron 39 pacientes con derrame pleural exudativo linfocítico o mononuclear. A cada uno de ellos se le practicó una biopsia pleural con aguja de Abrams o de Cope y en las muestras obtenidas se realizó el estudio histopatológico, el cultivo para *M tuberculosis* y la PCR. Adicionalmente se realizaron otras pruebas diagnósticas y el seguimiento para determinar la respuesta al tratamiento y establecer el diagnóstico final, en base a criterios previamente establecidos. **Resultados:** Veinticinco pacientes cumplieron con los criterios. En veinte pacientes se diagnosticó Tuberculosis y en cuatro Cáncer. En un paciente se diagnosticó pleuritis crónica asociada a otro proceso. Para la prueba PCR la Sensibilidad fue 85%, la Especificidad 20%, el valor predictivo de la prueba positiva (VPP) fue 81%, el valor predictivo de la prueba negativa (VPN ) de 25% y la eficacia fue del 72%. Para el cultivo de *M. tuberculosis* la sensibilidad fue 45%, la especificidad, 100%; el VPP, 100%; el VPN fue 31.25% y la eficacia del 56%. **Conclusión:** La prueba de PCR es más eficaz que el cultivo BK, pero con una baja especificidad, algo inusual que dependería de la contaminación de la muestra.

**Palabras Clave:** *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculosis Pleural, Pruebas diagnósticas, Biopsia pleural con aguja, Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) (Fuente: DeCS BIREME).

#### SUMMARY

**Objective:** To compare the accuracy of the polymerase chain reaction (PCR) genetic expansion test and the culture for *M. tuberculosis* (BK culture) in parietal pleura samples obtained by pleural needle biopsy. **Methods:** 39 patients with lymphocytic or mononuclear exudative pleural effusion suspected of pleural tuberculosis were studied. A pleural biopsy with Abrams or Cope needle was performed on each of them and histopathological study, culture for *M tuberculosis* and PCR test were performed on the samples obtained. Additionally, other diagnostic tests and follow-up were performed to determine the response to treatment and establish the final diagnosis, based on previously established criteria. **Results:** Twenty-five patients met the criteria. Tuberculosis was diagnosed in twenty patients and four cancers. In one patient, chronic pleuritis associated with another process was diagnosed. For the PCR test the sensitivity was 85%, the specificity 20%, the predictive value of the positive test (PPV) was 81%, the predictive value of the negative test (NPV) of 25% and the efficacy was 72%. For the culture of *M. tuberculosis*, the sensitivity was 45%, the specificity, 100%; the PPV, 100%; the NPV was 31.25% and the accuracy was 56%. **Conclusion:** It is concluded that the PCR test is more accuracy than the BK culture, but with a low specificity, something unusual that would depend on the contamination of the sample.

**Key words:** Diagnostic tests, *M. Tuberculosis*, Pleural needle biopsy, Polymerase chain reaction (PCR) (Source: MeSH).

## INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es la enfermedad infecciosa causada por una micobacteria del complejo *Mycobacterium Tuberculosis* [1]. El complejo *M. Tuberculosis* incluye a *M. tuberculosis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. Bovis*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi* y *M. orygis* [2-7]. *M. tuberculosis* es la causa principal de la enfermedad en el hombre [1].

La Organización Mundial de la Salud (WHO/OMS) en el informe mundial de Tuberculosis del 2020 al reportar sobre la situación de la epidemia de tuberculosis en el año 2019 estima que 10 millones personas enfermaron de tuberculosis y que murieron 1,2 millones de personas VIH negativas y 208,000 personas VIH positivas. De las personas que desarrollaron TB en 2019, los hombres  $\geq 15$  años representaron el 56%, las mujeres  $\geq 15$  años el 32% y los niños  $< 15$  años, de ambos sexos, el 12%. Entre todos los afectados, el 8,2% eran personas que vivían con el VIH. La mayoría de los casos están en las regiones de Asia sudoriental, África y el Pacífico occidental. Dos tercios de los casos se ubican en 8 países: India, Indonesia, China, Filipinas, Pakistán, Nigeria, Bangladesh y Sudáfrica. Los países de América más afectados son Haití, Guyana, Ecuador, Perú y Bolivia [8].

Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis. (DPCTB) del Ministerio de Salud del Perú, reportó que el año 2019, la tasa de morbilidad fue 101,4 x 100,000 habitantes, la tasa de incidencia de Tuberculosis fue 88,4 x 100,000 hab. y la tasa de incidencia de Tuberculosis Pulmonar Frotis Positivo (TBP-FP) fue 50,6 x 100,000 hab. El 59,48% de los casos corresponde a Lima y Callao y del resto de las regiones del país La Libertad, Loreto, Arequipa, Ica y Junín, son las que reportan el mayor número de casos. La tasa de mortalidad es 4,42 x 100,000 hab [9].

La tuberculosis afecta principalmente a los pulmones, tanto por ser la puerta de entrada, como por ser el órgano final más frecuentemente afectado y la fuente de contagio y diseminación; pero, debido a la diseminación hematogena a partir de los focos primarios o de reactivación, puede afectar a cualquier estructura del organismo [1,5]. Cuando existen lesiones tuberculosas no pulmonares sin compromiso evidente de los pulmones, se las denomina tuberculosis extrapulmonar e incluye a la tuberculosis miliar y pleural [1,10,11].

La tuberculosis extrapulmonar representa del 10 al 25% de los casos de tuberculosis. Su frecuencia tiende a incrementarse, por el aumento de los pacientes en estado de inmunosupresión, especialmente el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y la mayor probabilidad de diagnosticarla, en la actualidad [10-15]. La tuberculosis pleural la más frecuente de las formas extrapulmonares, con el 15% de todas ellas y el 5% de todas las formas de TB [10-15].

La tuberculosis pleural o pleuritis tuberculosa es la afectación de la pleural visceral y parietal por el bacilo de la tuberculosis. La inflamación que se produce, con exudación y formación de derrame pleural, es una manifestación de hipersensibilidad retardada, por la entrada del bacilo o de sus componentes proteicos (tubérculo-proteína) en la cavidad pleural [10,14]. Usualmente es debida a focos subpleurales, que al crecer toman contacto con la pleura, pudiendo incluso romperse en la cavidad pleural. También puede producirse como consecuencia de una diseminación hematogena y por contaminación directa de la pared torácica [10,12,15].

El aislamiento del bacilo de Koch es fundamental para el diagnóstico de Tuberculosis en cualquiera de sus formas, pero no siempre se logra por su poca accesibilidad en ciertas

localizaciones, escasa cantidad de bacilos, su baja sensibilidad y el tiempo de demora del crecimiento (4 a 8 semanas). El diagnóstico de la Tuberculosis pleural y las otras formas de tuberculosis extrapulmonar requiere de la realización de diversos procedimientos que tienen en general baja sensibilidad y especificidad y a menudo es necesaria la realización de todos ellos, porque son complementarios y no excluyentes. La toracocentesis y la biopsia pleural con aguja son dos de los procedimientos más importantes en afecciones de la pleura que cursan con derrame pleural ya que permiten realizar diferentes tipos de estudios en el líquido pleural y en la pleura parietal [10-15]. Los cultivos de líquido pleural son positivos en menos del 40 %; en cambio la sensibilidad es más del 90%, con la combinación de pruebas en la biopsia pleural, examen histopatológico, tinción y cultivo [10].

En la búsqueda de mejores pruebas diagnósticas se viene investigando la utilidad de pruebas de identificación de los ácidos nucleicos, usando métodos de amplificación genética (MAG) como la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la reacción en cadena de la ligasa (LCR) y otras técnicas relacionadas [16-27]. Han sido aprobadas para su uso en el laboratorio la prueba AMTDT (Gen-Probe), la cual se basa en la amplificación enzimática del RNA ribosómico, AMPLICOR (*Mycobacterium tuberculosis* PCR test, Roche Diagnostic Sytems) que amplifica el DNA mediante la PCR y el LCx (LCR *Mycobacterium tuberculosis* assay, Abbott Laboratories), que amplifica utilizando la reacción de la ligasa [23].

La ampliación del ADN, mediante la PCR, la más usada de las tres mencionadas antes, sintetiza enzimáticamente a millones de copias de un fragmento pequeño pero específico de ADN. Es un método que permite detectar una cantidad tan pequeña como 10–100 bacterias de una muestra de esputo y se realiza en un tiempo de 24 horas y tiene una especificidad del 100% [21].

Estudios realizados, han mostrado que la técnica tiene una sensibilidad del 50 al 100 % y especificidad del 100% [21]. La FDA aprobó a las pruebas Gen-Probe MTD y Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* test para ser usadas en la identificación de *M. tuberculosis* en muestras respiratorias con resultado de baciloscopia positiva. Tras el procesamiento del esputo, dan un resultado entre 5 y 7 horas. La sensibilidad de estas pruebas, usando como patrón de oro el cultivo, es aproximadamente del 95% si la baciloscopia positiva; pero sólo del 50 por ciento, si es negativa. La especificidad es mayor del 95% tanto si la baciloscopia es positiva o negativa [23].

Las ventajas de la PCR para *M. tuberculosis* respecto a los métodos ya existentes son la mayor sensibilidad respecto a la baciloscopia y la rapidez en comparación con los cultivos en medios sólidos y líquidos. El poco incremento de la sensibilidad respecto a los cultivos sumado a los inconvenientes asociados a la implementación de la técnica incluido el costo, ha motivado que muchos expertos argumenten en contra de su incorporación a la práctica en reemplazo de los métodos convencionales [19-25]. Actualmente su utilización está sólo aprobada para muestras respiratorias con baciloscopia positiva, pero consideramos que podría ser útil en otras situaciones.

En la tuberculosis pleural, donde las muestras son paucibacilares, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sería muy útil para el diagnóstico. Las investigaciones en las que hicieron la prueba de PCR en el líquido pleural reportan una sensibilidad entre el 42 y el 81% [12]. Esto motivó que muchos autores como Moreno R y col [15], Mitarai S y cols

[19], Kato M y cols [20], Nagesh BS y cols [21], Moon JW y cols [22] desaconsejaron y desalentaron su uso; pero posteriormente ha sido realizada en muestras de tejidos extrapulmonares con gran sensibilidad y especificidad [28,29]. Barrón y cols, en un estudio realizado en Lima, aplicando PCR al tejido pleural fijado en parafina reporta una sensibilidad de 96.7% [30].

Así como el cultivo de la pleura mejora grandemente la recuperación del *M. tuberculosis* con relación al cultivo del líquido pleural, debería ocurrir lo mismo con la pruebas de amplificación de ADN. Por la naturaleza de la prueba, de amplificar pequeñas cantidades de ADN, que habría en mayor cantidad en la pleura se esperaría que la prueba de PCR tenga mayor sensibilidad y valor predictivo negativo y por lo tanto mayor eficacia y exactitud que el cultivo para *M. tuberculosis*, realizado de la misma muestra. En el presente trabajo de investigación científica nos proponemos estudiar este tema, planteándonos el problema enunciado a continuación.

**Problema:** ¿Tiene la prueba de amplificación de ácidos nucleicos de *Mycobacterium tuberculosis* con la técnica de la reacción en cadena de la Polimerasa mayor eficacia que el cultivo del *Mycobacterium tuberculosis* de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja, en los pacientes con tuberculosis pleural?

**Hipótesis:** La prueba de amplificación de ácidos nucleicos de *Mycobacterium tuberculosis* con la técnica de la reacción en cadena de la Polimerasa tiene mayor eficacia que el cultivo del *M. tuberculosis* de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.

#### Objetivos:

**General:** Comparar la eficacia de la prueba de amplificación de ácidos nucleicos del *M. tuberculosis* con la técnica de la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) con la eficacia del cultivo de *M. tuberculosis* de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.

#### Específicos:

- Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba de amplificación de ácidos nucleicos del *M. tuberculosis* con la técnica PCR de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.
- Determinar los valores predictivos de la prueba de amplificación de ácidos nucleicos del *M. tuberculosis* con la técnica PCR de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.
- Determinar la eficacia de la prueba de amplificación de ácidos nucleicos del *M. tuberculosis* con la técnica PCR de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.
- Determinar la sensibilidad y especificidad del cultivo de *M. tuberculosis* de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.
- Determinar los valores predictivos del cultivo de *M. tuberculosis* de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.
- Determinar la eficacia del cultivo de *M. tuberculosis* de la pleura parietal obtenida por biopsia pleural con aguja.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El universo muestral lo constituyen todos los pacientes con derrame pleural exudativo linfocítico, atendidos en los servicios de hospitalización del Hospital Regional Docente de Trujillo (HRDT) durante el período comprendido entre el 01 Noviembre del 2006 y el 30 de Junio del 2008.

La muestra fue calculada aplicando la fórmula que corresponde a estudios descriptivos y diseños de una sola casilla. El procedimiento comprende la determinación del tamaño de muestra preliminar y el ajustado por tamaño de población [31].

#### Muestra preliminar:

$$n_0 = \frac{Z^2 p(1-p)}{d^2}$$

Donde:

Z = 1.96 para una confiabilidad del 95%  
p = 0.97 sensibilidad estimada, según estudios (Barrón y cols [30])  
d = 0,05 error tolerable

$$n_0 = (1,96)^2 (0,97) (0,03) / (0,05)^2$$

$$n_0 = (3,8416) (0,0291) / (0,0025)$$

$$n_0 = 45$$

#### Muestra ajustada:

$$n = \frac{n_0}{1 + (n_0 / N)}$$

Considerando un ingreso promedio de 04 pacientes por mes y 72 en el período de estudio (N), la muestra corregida sería:  
 $n = 45 / 1 + (45/72)$   
 $n = 45/1.625$   
 $n = 28$

No se hizo el muestreo para dos grupos por cuanto al mismo paciente se les realizará ambos exámenes, simultáneamente. Los casos se seleccionarán de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

#### Criterios de inclusión:

- Aceptar ingresar al estudio mediante consentimiento informado.
- Tener derrame pleural exudativo linfocitario con indicación para realizar biopsia pleural con aguja.
- Haberse realizado todos los procedimientos diagnósticos necesarios para lograr un diagnóstico final.
- No estar en tratamiento antituberculoso, al momento de la biopsia pleural.

#### Criterios de exclusión:

- Contraindicaciones para la biopsia pleural.
- No completar el periodo de seguimiento o no poderse establecer un diagnóstico definitivo al final de éste.

Los pacientes atendidos en el Hospital Regional docente de Trujillo desde el 01 noviembre del 2006 al 30 de Junio del 2008 por tener derrame pleural el cual, obtenido por toracocentesis, resultó ser un exudado linfocítico se les realizó, como parte de su estudio diagnóstico, una biopsia pleural con aguja de Cope o Abrams y las muestras obtenidas fueron estudiadas simultáneamente con:

- Examen histopatológico, con el clásico método de Hematoxilina/Eosina.
- Cultivo de *M. tuberculosis* en medio Ogawa, a través de la red de laboratorios del MINSA y
- Pruebas de Amplificación Genética por Reacción en Cadena de Polimerasa en el laboratorio de la Unidad de Biología Molecular del Instituto de Medicina Tropical e Infectología, localizado en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

Los pacientes fueron sometidos a un período de seguimiento de 2 a 6 meses, a fin de determinar el Diagnóstico final de tuberculosis.

- El Diagnóstico final de tuberculosis está basado en el cumplimiento de 4 de los siguientes criterios: [12,13,27]
- Cuadro clínico-radiográfico sugestivo.
- Líquido pleural con características de exudado linfocítico y concentración de adenosina desaminasa (ADA) elevada.
- Presencia de granuloma (inflamación granulomatosa tuberculoide) con o sin caseificación, en estudio histológico de la biopsia de la pleura parietal o algún otro órgano o tejido afectado simultáneamente (ganglios linfáticos, peritoneo, pericardio, etc.)
- Presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) en frotis teñidos y cortes histológicos o aislamiento de *M. tuberculosis* en el cultivo de secreciones o tejidos, especialmente líquido pleural, pero también de esputo, ganglios linfáticos y de otros órganos afectados simultáneamente.
- Adecuada respuesta terapéutica al tratamiento antituberculoso correspondiente, con remisión del cuadro clínico-radiográfico en 4 a 8 semanas.

Obtenidos los resultados se procederá a calcular la sensibilidad, especificidad, valores predictivos de la prueba positiva (VPP) y negativa (VPN) y eficacia del cultivo de *M. tuberculosis* y la prueba de PCR, de acuerdo con la siguiente tabla y fórmulas [32]:

		Diagnóstico Final de Tuberculosis pleural	
		Positivo	Negativo
Prueba por estudiar	Positivo	VP	FP
	Negativo	FN	VN

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP+FN}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN+FP}$$

$$\text{VPP} = \frac{VP}{VP+FP}$$

$$\text{VPN} = \frac{VN}{VN+FN}$$

$$\text{Eficacia} = \frac{VP+VN}{VP+VN+FP+FN}$$

### Procesamiento, análisis estadístico e interpretación de la información:

Los datos obtenidos serán procesados de manera automatizada con el programa Microsoft Office Excel 2003 y Microsoft Office Access 2003. Los resultados de las Pruebas en estudio serán expresados como positivos y negativos y el cálculo de las variables en frecuencias y proporciones.

El tratamiento estadístico de los datos se hará en el software SPSS 16.0. La significación estadística será determinada mediante la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) para la comparación de dos proporciones. El nivel de significación estadística establecido será 0,05.

Se obtendrá la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo y eficacia de la prueba de amplificación genética por PCR de la pleura y del cultivo de *M. tuberculosis* en pleura, respectivamente y luego se compararán estadísticamente, para determinar cuál es más eficaz.

## RESULTADOS

Se estudiaron 39 pacientes. Se logró un diagnóstico final en 25. En veinte pacientes se diagnosticó Tuberculosis y en cuatro Cáncer. En un paciente se diagnosticó pleuritis crónica asociada a otro proceso.

De los casos de Tuberculosis, la prueba PCR fue positiva en 17 casos y negativa en tres. Por otro lado la PCR fue positiva

en cuatro de cinco casos de derrames pleurales no tuberculosos.

La prueba de ampliación genética por PCR en pleura parietal tuvo una sensibilidad del 85%, especificidad de 20%, VPP del 81%, VPN de 25% y una eficacia de 72%, como se muestra en la (Tabla 1).

**Tabla 1: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos para la prueba de PCR en pleura parietal**

		Diagnóstico Final de Tuberculosis pleural		TOTAL
PCR* en pleura	Positivo	17	4	21
	Parietal Negativo	3	1	4
<b>Total</b>		20	5	

\*: Reacción en cadena de Polimerasa

Sensibilidad: 85%

Especificidad: 20%

Valor predictivo de la prueba positiva: 81%

Valor predictivo de la prueba negativa: 25%

Eficacia: 72%

De los casos de tuberculosis el cultivo de *M. tuberculosis* fue positivo en nueve pacientes y negativo en todos los pacientes sin tuberculosis.

El cultivo de *M. tuberculosis* en pleura parietal dio una sensibilidad del 45%, especificidad de 100%, VPP del 100%, VPN de 31.25% y una eficacia de 56%, como se muestra en la (Tabla 2).

**Tabla 2: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos para el cultivo de *M. tuberculosis* en pleura**

		Diagnóstico Final de Tuberculosis pleural		TOTAL
Cultivo de <i>M. tuberculosis</i> en pleura	Positivo	9	0	9
	Negativo	11	5	16
<b>Total</b>		20	5	

Sensibilidad: 45%

Especificidad: 100%

Valor predictivo de la prueba positiva: 100%

Valor predictivo de la prueba negativa: 31.25%

Eficacia: 56%

Al comparar ambos métodos diagnósticos se encontró que la prueba de PCR es más eficaz pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Hubo una diferencia estadísticamente significativa en la especificidad a favor del cultivo de *M. tuberculosis* (Tabla 3).

**Tabla 3: Comparación de la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y eficacia de las pruebas PCR y cultivo de *M. tuberculosis* en pleura**

	PCR en Pleura Parietal	Cultivo de <i>M. tuberculosis</i> en Pleura	Z	P
Sensibilidad	85	45	3.27	0.10
Especificidad	20	100	10.00	< 0.05
VPP †	81	100	2.42	0.18
VPN ‡	25	31	0.47	0.50
Eficacia	72	56	1.20	0.25

†: Valor predictivo de la prueba positiva. ‡: Valor predictivo de la prueba negativa.

## DISCUSIÓN

La ampliación del ADN, mediante la Reacción en cadena de la Polimerasa. (PCR), sintetiza por la vía enzimática millones

de copias de un fragmento pequeño pero específico de ADN. De este modo es capaz de detectar una cantidad tan pequeña como 10–100 bacterias de una muestra de esputo que no es posible detectar con la baciloscopia y el cultivo; adicionalmente tiene la ventaja que puede dar un resultado en un tiempo tan como 24 horas [21].

En la tuberculosis pleural, donde las muestras son paucibacilares, la prueba PCR podría ser de gran utilidad para el diagnóstico. Las investigaciones en las que hicieron la prueba de PCR en el líquido pleural reportaron una sensibilidad entre el 42 y el 81% [12], cifras que se consideraron bajas y desalentaron el uso de la prueba. Posteriormente, la amplificación genética por PCR ha sido realizada en muestras de tejidos extrapulmonares con gran sensibilidad y especificidad [28,29].

En nuestro estudio encontramos que la sensibilidad de la prueba de amplificación genética por PCR es más alta que la encontrada en líquido pleural por Moreno R y cols [15], Mitarai S y cols [19], Kato M y cols [20], Nagesh BS y cols [21], Moon JW y cols [22], pero es menor que la encontrada por Barrón y cols<sup>30</sup> en muestras de pleura parietal, fijadas en parafina para estudio histopatológico.

Nosotros encontramos en nuestra serie una especificidad muy baja de la prueba de amplificación genética por PCR; algo que no ha sido reportado en ninguna serie. Se obtiene una especificidad mayor del 95 por ciento tanto en muestras de esputo [23] como en tejidos con inflamación granulomatosa por tuberculosis extrapulmonar [27-29]. Se han descrito falsos positivos y pérdida de la especificidad en pacientes con tuberculosis pulmonar previa. Nuestros casos no tenían antecedentes de tuberculosis previa; podría tratarse de una lesión primaria antigua o una primoinfección en curso y hasta de una tuberculosis coexistente; pero no fue sustentado con la evolución clínica ni con los resultados bacteriológicos. También se han descrito falsos positivos a la prueba PCR de la secuencia IS6110, que es la más usada para detectar *M. tuberculosis* por PCR. Otra posibilidad para explicar los falsos positivos es la contaminación cruzada en el laboratorio, que se ha descrito desde hace algunos años y que se ha tratado de disminuir aumentando la bioseguridad.

Los estándares internacionales para laboratorios que realizan PCR establecen que fundamentalmente deben constar de zonas por separado: una zona de pre-amplificación, donde se manipula o extrae el material genético ADN; una segunda zona de preparación, en donde se disponen y seleccionan los diferentes reactivos y materiales para realizar la amplificación y una tercera zona de amplificación, donde se multiplica el ADN de la muestra por medio de los termocicladores y por último una zona independiente donde se analiza el ADN ya amplificado llamado zona post PCR [26].

El valor predictivo de la prueba positiva indica la probabilidad de tener la enfermedad cuando la prueba es positiva y el valor predictivo de la prueba negativa la probabilidad de no tener la enfermedad si la prueba es negativa. En nuestro estudio obtuvimos un VPP moderadamente alto y un VPN muy bajo.

En nuestro estudio la prueba de PCR fue más sensible que el cultivo del *M. tuberculosis* [27].

Las ventajas que aportan los métodos de amplificación genética respecto a los métodos clásicos en el diagnóstico de tuberculosis son la sensibilidad respecto al examen microscópico y la rapidez respecto al cultivo en tuberculosis

pulmonar. Además, la amplificación genética permite una rápida tipificación del *M. tuberculosis*. Una prueba PCR positiva, en un paciente con sospecha clínica de Tuberculosis, apoya el inicio del tratamiento y el aislamiento del enfermo. Un resultado negativo en esta situación en cambio no excluye tuberculosis.

Algunos de los inconvenientes asociados a la técnica, incluido el coste, argumentan en contra de su incorporación a la rutina de trabajo e imposibilitan la sustitución de los métodos convencionales.

Una ventaja adicional poco explorada es la utilización de amplificación genética en los medios líquidos de cultivo, cuando tanto el examen microscópico como la amplificación genética de la muestra han sido negativas, lo que puede aportar resultados más precoces que la utilización de sondas de DNA [24]. Adicionalmente los métodos de amplificación genética permiten determinar la susceptibilidad del *M. tuberculosis* a los fármacos y por lo tanto posibilitan establecer la condición de Multiresistencia (Resistencia a Rifampicina e Isoniazida, cuando menos), lo cual no podría hacerse si el cultivo es negativo [24-26].

## CONCLUSIONES

- El estudio de amplificación genética por PCR en pleura parietal tuvo mayor eficacia o exactitud que el cultivo en medio sólido para *M. tuberculosis* de la pleura de la pleura, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa.
- El estudio de amplificación genética por PCR en tejido pleural tiene mayor sensibilidad que el cultivo de la pleura en medio sólido; esta diferencia en la sensibilidad de ambos métodos diagnósticos fue estadísticamente significativa.
- El estudio de amplificación genética por PCR en tejido pleural tuvo menor especificidad, menor valor predictivo positivo y menor valor predictivo negativo sin significancia estadística.
- Recomendamos ajustar los procesos en el laboratorio de Biología molecular del Instituto de Medicina Tropical de la Facultad de Medicina, para aumentar la especificidad y mejorar la eficacia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Raviglione MC. Tuberculosis. En: Jameson, J. L., Fauci, A.S., Kasper, D.L., Hauser, S.L., Longo, D.L., Loscalzo, J. (eds). Harrison's principles of Internal Medicine, 2018. 20th edition. Cap. 173: 3248-3284. McGraw-Hill Education
- [2] van Soolingen D, Hoogenboezem T, de Haas PE, Hermans PW, Koedam MA, Teppema KS, et al. A novel pathogenic taxon of the Mycobacterium tuberculosis complex, Canetti: characterization of an exceptional isolate from Africa. *IJBS* 1997; 47: 1236-1245
- [3] Niemann S, Richter E, Rüscher-Gerdes S. Differentiation among Members of the Mycobacterium tuberculosis Complex by Molecular and Biochemical Features: Evidence for Two Pyrazinamide-Susceptible Subtypes of *M. bovis*. *JCM* 2000; 38(1): 152-157
- [4] Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, et al. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. *PNAS* 2002; 99(6): 3684-3689
- [5] Mancilla M, Martínez A, Palavecino C, Rehren G, Lucero P, León G. et al. Variantes genéticas de Mycobacterium tuberculosis aisladas de pacientes de la X Región de Chile. *Rev Chil Infect* 2006; 23 (3): 220-225
- [6] Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajj SA et al. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiology* 2006; 6:23(6 March 2006). Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/6/23>
- [7] Orgeur M, Brosch R. Evolution of virulence in the Mycobacterium tuberculosis complex. *Curr Opin Microbiol*. 2018; 41:68-75. doi: 10.1016/j.mib.2017.11.02
- [8] WHO: Global tuberculosis report 2020. [citado 30 enero 2022] Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
- [9] Ministerio de Salud del Perú, Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública, Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis. Memoria

- 2016 – 2020. 2021; 1° Ed. p.22- 24. Editora EISA S. R. L. <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/5626.pdf>
- [10] Golden MP, Vikram HR. Extrapulmonary Tuberculosis: An Overview. *Am Fam Physician* 2005; 72:1761-8.
- [11] González Montaner LJ, González Montaner PJ. Tuberculosis Cap11. Tuberculosis extrapulmonares: 255-304. [citado 12 octubre 2006] Disponible en: <http://www.dic.org.ar/tuberculosis/indice.php#up>
- [12] Arciniegas W, Orjuela DL. Tuberculosis extrapulmonar: revisión de 102 casos en el Hospital Universitario San Jorge de Pereira, 2000-2004. *Biomédica*. 2006; 26 (1):71-80. ISSN 0120-4157.
- [13] Latorre P. Tuberculosis extrapulmonar. *Revista de Salud Pública – Universidad Nacional de Colombia Volumen 3 - Febrero 2001 - Suplemento I* [citado 12 Octubre 2006] Disponible en: [www.revmed.unal.edu.co/revistas/v3n1s/v3sc2.htm](http://www.revmed.unal.edu.co/revistas/v3n1s/v3sc2.htm)
- [14] Marcone P. Tuberculosis Pleural en el Instituto Nacional del Tórax. [citado 24 Octubre 2006] Disponible en: [www.serchile.cl/2006/oto005.pdf](http://www.serchile.cl/2006/oto005.pdf)
- [15] Moreno R, López EJ. Manejo del Derrame Tuberculoso. *Bol Esc Medic UCC* 1997; 26 (2) [citado 12 Octubre 2006] En: <http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/PatologiaPleural/ManejoDerrameTuberculoso.html>
- [16] Barnes PF, Cave MD. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. *N Eng J Med* 2003; 349:1149-1156
- [17] Eisenach KD, Cave MD, Bates JH, Crawford JT. Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for Mycobacterium tuberculosis. *J Infect Dis*. 1990 May;161(5):977-81.
- [18] Polanco A. Tuberculosis. Jun 25 2000 [citado 18 Octubre 2006] Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos5/tuber/tuber2.shtml>
- [19] Mitarai S, Shishido H, Kurashima A, Tamura A, Nagai H. Comparative study of Amplicor Mycobacterium PCR and conventional methods for the diagnosis of pleuritis caused by mycobacterial infection. *Intern J Tuberc and Lung Dis* 2000;4: 871-876
- [20] Kato M, Bobadilla M, Martínez A, y cols. Eficacia e Impacto de la Prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en el Diagnóstico de Tuberculosis Extrapulmonar. *Rev Invest Clín* 2002; Vol. 54(6):509-514. ISSN 0034-8376.
- [21] Nagesh BS, Sehgal S, Jindal SK. Evaluation of Polymerase Chain Reaction for Detection of Mycobacterium tuberculosis in Pleural Fluid. *Chest*. 2001;119:1737-1741.
- [22] Moon JW, Chang YS, Kim SK, Kim YS, Lee HM, Kim SK, Chang J. The Clinical Utility of Polymerase Chain Reaction for the Diagnosis of Pleural Tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005;41:660-666.
- [23] Querol JM, González D, Forés R. ¿qué aportan los métodos de amplificación genética al diagnóstico de la tuberculosis en la práctica clínica? *Control Calidad SEIMC*, 2006 Jul 03 [Fecha de acceso 05 de octubre del 2006] URL disponible en: [http://www.seimc.org/control/revi\\_viro/TBCAmp.htm](http://www.seimc.org/control/revi_viro/TBCAmp.htm)
- [24] Katoch VM. Newer diagnostic techniques for tuberculosis. *Indian Journal of Medical Research* 2004;120(4):418-428
- [25] Guevara A, Juárez A, Zenteno R. Tuberculosis y la importancia de incorporar nuevas metodologías diagnósticas. *MEDUNAB* 2003; 6(16): 46-51.
- [26] Instituto Nacional de Salud. El laboratorio de salud pública frente a la emergencia de la tuberculosis resistente. Lima: INS; 2001. Documento Técnico N° 3. [citado 14 Octubre 2006] Disponible en: [www.minsa.gob.pe/pvigia/actualiza070306%5Claboratorio\\_salud\\_publica.pdf](http://www.minsa.gob.pe/pvigia/actualiza070306%5Claboratorio_salud_publica.pdf)
- [27] Portillo-Gómez L, Morris SL, Panduro A. Rapid and efficient detection of extrapulmonary Mycobacterium tuberculosis by PCR analysis. *Intern J Tuberc and Lung Dis* 2000;4: 361-370
- [28] Sallian NV, Rish JA, Eisenach KD, Cave MD, Bates JH. Polymerase Chain Reaction to Detect Mycobacterium tuberculosis in Histologic Specimens *AJRCCM* 1998; 158: 1150-1155
- [29] Li J, Lo S, Ng C. Molecular Detection of Mycobacterium tuberculosis in Tissues Showing Granulomatous Inflammation without Demonstrable Acid-Fast Bacilli. *Diagnostic Molecular Pathology* 2000; 9(2): 67-74
- [30] Barrón H, Monteghirfo M, Rivera N. Diagnóstico molecular de Mycobacterium tuberculosis en biopsias pleurales embebidas en parafina. *An Fac Med Lima* 2006, 67:11-18.
- [31] Mormontoy W. Elaboración del protocolo de investigación en Ciencias de la Salud, de la Conducta y áreas afines. Lima; Boehringer Ingelheim, 1993 pp:88