

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA LABORATORIO CLÍNICO



**EVOLUCIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS A TRAVÉS DE
BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL SALVADOR, EN EL MES DE JULIO DE 2023.**

Presentado por:

JOSUÉ ANTONIO URIAS CERÓN

Para optar al grado de:

LICENCIADO EN LABORATORIO CLÍNICO

Asesor:

Msp. MIRIAM CECILIA RECINOS DE BARRERA

Ciudad universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, El Salvador, octubre, 2023

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

Msc. Roger Armando Arias

Vicerrector Académico

PhD. Raúl Ernesto Azcúnaga López

Vicerrector Administrativo

Ing. Juan Rosa Quintanilla

Secretario/a General

Ing. Francisco Antonio Alarcón

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Decana

MsC. Josefina Sibrián de Rodríguez

Vicedecano

Dr. Saúl Díaz Peña

Secretaria

MsC. Aura Marina Miranda de Arce

Director de Escuela

MsC. José Eduardo Zepeda Avelino

Directora de Carrera

Msp. Miriam Cecilia Recinos de Barrera

CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN.....	viii
I. DESARROLLO.....	1
III. CONCLUSIONES.....	24
IV. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	26

AGRADECIMIENTOS

A Dios,

Por permitirme finalizar mi formación académica y darme la sabiduría para obtener todo lo que me propuse durante mi formación

A mis padres,

Por apoyarme durante este gran reto y enseñarme que con mucho esfuerzo todos los sueños se cumplen.

A mis tutores,

Por haber formado la persona que soy actualmente, por enseñarme cada detalle de mi carrera, por tener confianza en que lograría finalizar la carrera y por darme todo el conocimiento que actualmente pongo en práctica y que me servirá para mi desarrollo profesional.

A mi compañera Andrea Aguilar,

Por ser mi pareja tanto en lo académico como en lo personal, por ser mi apoyo y mi hombro en los momentos más difíciles, por celebrar conmigo en los momentos de éxito, gracias por haberme ayudado a finalizar la carrera, por el apoyo mutuo que nos permitió facilitar el camino.

Josué Antonio Urias Cerón

RESUMEN

En los últimos años el uso de técnicas moleculares para el diagnóstico de enfermedades ha tomado una gran relevancia, pero no es un tema novedoso, debido a que la búsqueda de un método molecular para la detección del agente causal de la tuberculosis se remonta desde la década de 1980 elaborando métodos de Amplificación de Ácidos Nucleicos que sentaron las bases para los métodos modernos. El GeneXpert MTB/RIF es una prueba molecular rápida basada en la técnica de la PCR en tiempo real que detecta el gen *rpoB* del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, este método ha aportado una gran ventaja en la detección de pacientes con sospecha de tuberculosis ya que suele ser mucho más sensible que los métodos convencionales como la baciloscopía, y además ha demostrado tener un rendimiento adecuado para la detección de tuberculosis extrapulmonar.

En el año 2013 se implementó el método molecular GeneXpert MTB/RIF en El Salvador, y además se midió su desempeño realizando la prueba en pacientes con sospecha de tuberculosis con baciloscopía negativa y pacientes con sospecha de farmacorresistencia. Debido a la implementación de esta prueba en los diferentes sectores del país se obtuvieron logros como la reducción del tiempo de diagnóstico, pero también tuvo impactos como el aumento de casos de tuberculosis bacteriológicamente positivos y de casos con resistencia a rifampicina. Para el año 2021 el número de pruebas de GeneXpert que se realizaron superaron al número de baciloscopías realizadas, lo que indica que la implementación de este método molecular ha impactado de buena manera al país.

PALABRAS CLAVE

Biología Molecular, GeneXpert, Tuberculosis, Diagnóstico, Baciloscopía

ABSTRACT

In recent years the use of molecular techniques for the diagnosis of diseases has taken on great relevance, but it is not a novel topic, since the search for a molecular method for the detection of the causal agent of tuberculosis dates back to the 1980s with the development of Nucleic Acid Amplification methods that laid the foundations for modern methods. GeneXpert MTB/RIF is a rapid molecular test based on the real-time PCR technique that detects the *rpoB* gene of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, this method has provided a great advantage in the detection of patients with suspected tuberculosis as it is usually much more sensitive than conventional methods such as smear microscopy, and has also shown adequate performance for the detection of extrapulmonary tuberculosis.

In 2013, the GeneXpert MTB/RIF molecular method was implemented in El Salvador, and its performance was also measured by performing the test on patients with suspected tuberculosis with negative smear tests and patients with suspected drug resistance. Due to the implementation of this test in the different sectors of the country, achievements were obtained such as the reduction of diagnosis time, but it also had impacts such as the increase of bacteriologically positive tuberculosis cases and cases with resistance to rifampicin. By the year 2021, the number of GeneXpert tests performed exceeded the number of smears performed, which indicates that the implementation of this molecular method has had a positive impact on the country.

KEY WORDS

Molecular Biology, GeneXpert, Tuberculosis, Diagnosis, Bacilloscopy.

I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad tan antigua como la misma humanidad, y ha recibido diferentes nombres a lo largo de la historia por distintas civilizaciones, en la antigua grecia era conocida como *phthisis*, en la antigua roma como *tabes*, en el hebreo como *schachepheheth*, en el siglo XVIII la tuberculosis era conocida como “plaga blanca” por la palidez que presentan las personas que la padecen, y para el siglo XIX se le conocía como “consunción”. La tuberculosis también recibe diferentes nombres según la parte del cuerpo que afecta, por ejemplo se le conoce como tuberculosis miliar cuando se disemina vía hematogena a otras partes del cuerpo, “escrófula” cuando afecta a los ganglios linfáticos del cuello y “mal de Pott” cuando afecta a la columna vertebral.

En el año de 1834 Johann Schonlein le llamó a la enfermedad “tuberculosis” y fue hasta el 24 de marzo de 1882 cuando Robert Koch descubrió el agente causal llamando *Mycobacterium tuberculosis* lo cual marcó un hito muy importante en esa época debido a que los casos de muerte por tuberculosis se hacían mucho más frecuentes en Europa y Estados Unidos, en conmemoración de este descubrimiento se determinó el 24 de marzo como el día mundial de la tuberculosis (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades CDC, History of World TB Day)

La tuberculosis es una de las enfermedades de mayor importancia a nivel mundial por la gran cantidad de muertes que esta provoca, esta enfermedad es producida por una bacteria llamada *Mycobacterium tuberculosis* la cual no posee las características convencionales de una bacteria, ya que su principal propiedad es ser un bacilo ácido-alcohol resistente, es decir resisten a la decoloración por soluciones ácidas, esto gracias a la presencia ácidos

micólicos en su pared celular además de que esta pared es rica en otros tipos de lípidos; está ácido alcohol resistencia le proporciona diferentes propiedades: crecimiento lento, resistencia a detergentes, resistencia a antibióticos comunes.

La enfermedad de la tuberculosis afecta esencialmente a los pulmones siendo las vías respiratorias su forma de ingreso al hospedero a través de gotículas que son expulsadas cuando un individuo enfermo tose, estornuda, escupe o habla, de esta forma la bacteria llega hasta los alvéolos pulmonares y es aquí donde produce la infección, si bien el foco primario del bacilo son los pulmones, estos pueden pasar al torrente sanguíneo e infectar prácticamente a cualquier órgano (tuberculosis extrapulmonar)

Según la OMS en el año 2021 se reportaron 10.6 millones de casos de tuberculosis de los cuales hubieron 1.6 millones de muertes, los hombres fueron los más afectados con 6 millones de casos, seguido de las mujeres con 3.4 millones y por último los niños con 1,2 millones, a pesar de estas cifras alarmantes gracias a los esfuerzos del área de salud, la tuberculosis es una enfermedad curable si se diagnostica a tiempo, entre el año 2000 y 2021 se estima que 74 millones de vidas se salvaron gracias al diagnóstico y tratamiento.

Si bien la tuberculosis es curable y prevenible, uno de los mayores retos de la salud pública es la multirresistencia siendo una gran amenaza para la seguridad sanitaria, esta farmacorresistencia se origina por un mal uso de los medicamentos antituberculosos en pacientes infectados, mala calidad de estos mismos, o la interrupción de su tratamiento. cuando se habla de tuberculosis multirresistente se refiere a que la bacteria no es sensible a los medicamentos de primera línea más importantes (rifampicina e isoniacida), si bien en estos pacientes siempre se puede curar la tuberculosis, los fármacos de segunda línea

usados son más fuertes y tóxicos para el individuo, además que se corre el riesgo de desarrollar resistencia a los fármacos de segunda línea más eficaces.

Otro problema de gran importancia relacionado con la tuberculosis es la coinfección con otras enfermedades, especialmente con el VIH/SIDA ya que en el año 2014 se estimó que del total de casos de tuberculosis un 13%-14% había coinfección con VIH, además que la principal causa de muerte de persona con VIH es debido a la tuberculosis. Algo muy destacable es que esta coinfección es directamente proporcional, en otras palabras si una persona tiene tuberculosis acelera la progresión de la infección por VIH a sida, y así mismo el VIH disminuye la población de linfocitos CD4 lo que impide una adecuada respuesta inmunitaria contra la tuberculosis y así promueve la progresión de la enfermedad, la recurrencia y la mortalidad (Coinfección TB/VIH Guía Clínica Regional OPS/OMS 2017, Capítulo I)

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas ha ido evolucionando a lo largo de los años y esto ha traído mejoras en la sensibilidad, especificidad y tiempo de resultados que proporcionan las diferentes técnicas; en el caso de la tuberculosis, debido a su mortalidad se le ha dado una gran importancia a obtener un diagnóstico rápido, si bien la baciloscopia es el método más rápido para dar un diagnóstico, no es el más sensible y debido a esto en muchos países incluido El Salvador se ha optado por el diagnóstico a través de biología molecular mediante un método de PCR automatizada llamado GeneXpert que da resultados en menos de dos horas, además de proporcionar información clave sobre resistencia a los medicamentos antituberculosis

En el presente trabajo se pretende demostrar el avance del diagnóstico de tuberculosis en el país mediante técnicas que han ido mejorando a lo largo de los años, el beneficio que aporta

el utilizar GeneXpert como método de diagnóstico y si este proporciona un verdadero aumento en la detección de casos positivos de tuberculosis con respecto a la baciloscopia, y como en el país se ha optado por el uso de GeneXpert como prueba de detección inicial de la tuberculosis por encima de la baciloscopia, esto es muy importante ya que deja en evidencia que el área clínica es consciente y está capacitada sobre las ventajas que ofrece un método molecular por encima de un microscópico, además de la confiabilidad de los resultados.

El diagnóstico a través de métodos moleculares es de lo mejor que se puede usar en la actualidad, no obstante estos métodos también tienen desventajas y en el caso de la tuberculosis no se queda atrás y debido a esas desventajas el GeneXpert aún no es considerado el estándar de oro, es por eso que también se hace una comparación con el cultivo que actualmente es la referencia cuando a tuberculosis se refiere.

I. DESARROLLO

DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS A TRAVÉS DE LA HISTORIA

1. Baciloscopía

Desde antes de descubrir el agente causal, el diagnóstico de la tuberculosis solo se realizaba a través de observación clínica debido a la falta del conocimiento del mundo microscópico y la falta de herramientas para la observación del mismo, pero desde la creación del microscopio se desencadenó una serie de descubrimientos que ayudaron para mejorar el diagnóstico y tratamiento de muchas enfermedades, incluyendo la tuberculosis, cuando Robert Koch descubrió a las micobacterias en 1882

El 1 de mayo de 1882 Paul Ehrlich ideó este método diagnóstico revolucionario para el diagnóstico de la tuberculosis, tan solo poco más de un mes después que Robert Koch descubriera el agente causal de la enfermedad. Si bien Robert Koch estaba ideando un método de tinción del bacilo que se basaba en el uso de azul de metileno alcalino en combinación con la tinción de Bismarck (colorante marrón), Ehrlich fundamentó su método en la característica de la ácido alcohol resistencia a la decoloración que es propia del bacilo de la tuberculosis, usando ácido nítrico y violeta de genciana o fucsina en presencia de anilina en presencia de agua, este método de coloración lo llamo tinción de “Ziehl-Neelsen” debido a que de manera independiente Franz Ziehl y Friedrich Neelsen también mejoraron la técnica de tinción añadiendo el uso de calor un decolorante y así perfeccionar esta técnica, Koch reconoció que este método de coloración era mucho mejor que el suyo, y

hasta el día de hoy se sigue utilizando como uno de los principales métodos diagnósticos de la tuberculosis.

Esta técnica se basa en la propiedad que tienen las micobacterias de captar en su pared la fucsina fenicada y resistir a su decoloración con alcohol ácido, por eso a esta propiedad se le llama ácido alcohol resistencia y esta característica se debe al alto contenido de lípidos que posee la pared celular, en especial los ácidos micólicos de cadena larga. Esta prueba tiene una sensibilidad del 70-80% y una especificidad del 100% por eso es más usada en países y/o centros de salud de escasos recursos económicos ya que una de sus ventajas es el bajo costo de la prueba, además que está limitada sólo a muestras de esputo.

En 1914 Joseph J. Kinyoun publicó una modificación de la tinción de Ziehl-Neelsen que posteriormente se usó principalmente en preparaciones derivadas de cultivo denominado “método de Kinyoun”, el cual se diferencia en que este es un método en frío sin la utilización de calor. Hagemann en 1938 ideó un método de fluorescencia mediante la tinción con auramina el cual fue mejorado por Truant en 1962 mediante el uso de los fluorocromos auramina O y rodamina B.

2. Cultivo

Robert Koch inicialmente utilizó un medio de cultivo muy simple con suero de vaca u oveja y luego de diez días de incubación se observaron pequeñas colonias, gracias a esto se desarrollaron varias modificaciones de este medio hasta utilizar como base agar y huevo. Una de las preparaciones a base de huevo de mayor importancia fue la desarrollada por Wessely y Lowenstein en 1931 que fue modificada por Jensen en 1932, dando lugar al medio de Lowenstein-Jensen que es actualmente el medio de cultivo más utilizado, entre

sus componentes se encuentra el verde de malaquita que le da el color verde característico al medio, que cumple la función de inhibir el crecimiento de la flora acompañante, pero adicionalmente a esto, antes de inocular la muestra en el medio de cultivo debe ser descontaminada para evitar que ocurra un crecimiento inespecífico en el medio, este método de descontaminación se le conoce como “método de Petroff” y normalmente se realiza en muestras que por su origen están contaminadas, como la orina y esputo, el uso de este método es riesgoso sino se usa la protección adecuada cuando se manejan muestras de esputo ya que estas tienen una gran cantidad de bacilos y durante la descontaminación hay liberación de aerosoles.

Posteriormente se desarrollaron modificaciones de este medio que han sido muy útiles en países de escasos recursos o en laboratorios sin equipamiento adecuado o suficiente para usar el método de Petroff, estos son el medio de Ogawa en 1950 y Ogawa-Kudoh 1974 siendo este último el más usado actualmente y su ventaja es que el proceso de descontaminación no es tan prolongado y esto evita la exposición a la bacteria si estuviese presente en la muestra.

En 1940 Rene Jules Dubos y Gardner Middlebrook desarrollaron un medio a base de agar de importancia significativa llamado Middlebrook 7H11 y un medio líquido llamado Middlebrook 7H9, este último es usado para la identificación del *M. tuberculosis* mediante metodologías semi y totalmente automatizadas por ejemplo el SETICHEK AFB, BACTEC 460, Versa TREK BacT/ALERT MB y BACTEC-MGIT-960 como un sistema totalmente automatizado que también sirve para realizar pruebas de susceptibilidad a los medicamentos

En la actualidad el cultivo es el método bacteriológico más sensible y específico, este puede detectar entre 10-100 bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) si se trata de un medio sólido como el Lowestein Jensen u Ogawa-Kudoh y entre 1-50 BAAR si es medio líquido , pero son mucho más complejos y costosos que la baciloscopia, y los resultados son tardados ya que se necesitan al menos de 20-60 días para obtener resultados, además que se necesita una infraestructura relativamente compleja, debido a esto es que los cultivos no son accesibles a cualquier establecimiento.

3. TB-LAM (Lipoarabinomanano)

Es una prueba de diagnóstico de tuberculosis en pacientes con VIH, ya que en estos individuos usualmente se desarrollan formas diseminadas de la tuberculosis, por lo que el diagnóstico en muestras de esputo es de muy baja confiabilidad. En estos pacientes coinfectados TB/VIH que presentan la infección diseminada se ha encontrado un lípido de pared de la micobacteria el cual se libera en el orina, llamado lipoarabinomanano (LAM), en base a esto se han desarrollado varias pruebas para la detección de este lípido: ELISA y una prueba rápida de flujo lateral llamada Alere Determine TB-LAM-Ag, la OMS recomienda que esta prueba se realice sólo en pacientes avanzados de VIH.

4. Biología molecular

La biología molecular no es tema novedoso, pero en los últimos años ha tomado una gran relevancia en el diagnóstico, probablemente desencadenado por la pandemia de la enfermedad COVID-19 ya que debido a ello se desarrollaron métodos de diagnóstico basados en la biología molecular y gracias a esto, el tema tuvo mayor alcance tanto en profesionales como la población en general; en el caso de la tuberculosis la búsqueda de un

método diagnóstico basado en la biología molecular se remonta desde el siglo pasado, a finales de la década 1980 se desarrollaron pruebas radio-marcadas que identificaban secuencias específicas del ADN de la bacteria, y debido a que se necesitaba una gran cantidad de material genético para poder hacer una detección confiable, estas pruebas se usaban en conjunto con los medios de cultivo, debido a esto se hicieron muchos esfuerzos para que estos métodos fueran independientes a los cultivos, y así fue como se empezaron a usar la Amplificación de Ácidos Nucleicos (NAAT) mediante la PCR, lo que sirvió de base para la elaboración de las técnicas que existen hoy en día siendo el de mayor impacto el GeneXpert MTB/RIF.

Otro método molecular usado es la espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por una matriz por tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS) que detecta un patrón espectrométrico de proteínas específicas de *M. tuberculosis*, en este ensayo se usan cultivos puros de la bacteria. La muestra se procesa y los espectros que esta genera se comparan con una biblioteca para su identificación, este ensayo permite discriminar *M. tuberculosis* de otras micobacterias no tuberculosis, y también discrimina género 85% de los casos y especie en 71% de los casos, comparándolo con otros métodos moleculares.

Se han desarrollado más métodos moleculares, pero no todos son usados en el diagnóstico de la enfermedad, ya que varios de estos aún están en proceso de ser avalados por la OMS como métodos confiables. Entre los métodos que son avalados por la OMS están:

- GeneXpert MTB/RIF y Xpert Ultra
- Ensayo con sondas en línea (LPA): se realiza en muestras de esputo con baciloscopia y/o cultivo positivos, es una PCR múltiple que amplifica el gen *rpoB* y la resistencia a rifampicina y los genes *inhA* y *katG* asociados a la resistencia a la

isoniacida, también los fármacos de segunda línea aminoglucósidos y fluoroquinolonas.

- TB LAMP: Utiliza muestras de esputo. El DNA genómico de *M. tuberculosis* es amplificado por métodos isotérmicos y los genes blanco son *IS6110* y *gyrB*. La OMS ha sugerido que esta prueba podría reemplazar a la evaluación microscópica en personas con signos y síntomas compatibles con TB.

Entre los métodos que no son avalados por la OMS y se encuentran en espera de revisión están:

- FluoroType MTBDR
- m2000 RealTime MTB System
- BD Max MDR-TB
- Roche cobas® MTB system

GeneXpert MTB/RIF Assay y MTB/RIF ultra

Es una prueba de biología molecular basada en la técnica de PCR en tiempo real la cual permite detectar el ADN del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, específicamente el gen *rpoB* y la resistencia al medicamento rifampicina por mutaciones en este gen en menos de dos horas. Existen diferencias notorias entre ambas pruebas, aunque el principio es el mismo al igual que su forma de procesamiento.

	MTB/RIF Assay	MTB/RIF Ultra
Sensibilidad	114-116 ufc/ml	14-16 ufc/ml

Muestras	Esputo	Esputo y muestras extrapulmonares
Categorías de detección	very low, low, medium, high	trace, very low, low, medium, high

En base al cuadro anterior se puede observar que el GeneXpert MTB/RIF Ultra posee ventajas importantes sobre su antecesor, comenzando con su límite de detección que es 100 veces más bajo, lo que permite detectar menores cantidades de bacilos por ml de muestra, y por eso que en el MTB/RIF Ultra se pueden usar muestras extrapulmonares, ya que normalmente la cantidad de bacilos en estas muestras es muy escasa, por ejemplo, si en una muestra de LCR hay 100 ufc/ml el MTB/RIF Assay dará un resultado negativo debido a que su sensibilidad no le permite detectar colonias bajas, en cambio el MTB/RIF Ultra si lo detectaría, es debido a esto que las muestras usadas se limitan a tan solo el esputo en el caso de MTB/RIF Assay ya que en este es donde se encuentran mayor cantidad de bacilos debido a que el pulmón es foco inicial de infección, y en contraparte las muestras extrapulmonar en la mayoría de los casos la cantidad de bacilos es escasa, debido a lo anterior el MTB/RIF Ultra permite añadir una categoría de detección cuando las colonias de bacilos son demasiado bajas, estableciendo una detección de trazas de bacilos.

GENEXPERT COMPARADO CON LA BACILOSCOPIA Y CULTIVO

Teóricamente la PCR es mucho mejor que la baciloscopia, y promete detectar casos positivos cuando un estudio microscópico no los detecta, esto debido a la alta sensibilidad que posee el GeneXpert y también a que la baciloscopia está limitada en gran parte a la

habilidad del individuo que la realiza en detectar la presencia de los bacilos. Si se analiza una muestra de esputo de un paciente con sospecha de tuberculosis tanto por GeneXpert como por baciloscopia y en el caso de GeneXpert se obtiene un resultados positivo pero con una detección de bacilos baja, muy baja o trazas, lo más probable que en la baciloscopia se encuentren pocos o ningún bacilo.

El hospital de Referencia Pediátrico de Uruguay realizó un estudio entre los años 2018-2019 de niños menores de 15 años para evaluar el rendimiento diagnóstico de la tuberculosis de diferentes pruebas tanto pulmonares como extrapulmonares, comparando específicamente GeneXpert con baciloscopía, los parámetros de comparación fueron: Sensibilidad, Especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN).

De las 1670 muestra analizadas 82% fueron respiratorias y 17% no respiratorias de las cuales se diagnosticaron a 67 menores con tuberculosis, gracias a eso se obtuvieron las siguientes medidas de exactitud diagnóstica:

TODAS LAS MUESTRAS		
	Baciloscopía	Xpert MTB/RIF
Sensibilidad	44.4%	80%
Especificidad	99.4%	99.5%
VPP	70.6%	80%
VPN	98.2%	99.5%

Precisión	97.6%	99.1%
------------------	-------	-------

MUESTRAS RESPIRATORIAS		
	Baciloscopia	Xpert MTB/RIF
Sensibilidad	72.7%	100%
Especificidad	99.6%	99.4%
VPP	72.7%	66.7%
VPN	99.6%	100%
Precisión	99.1%	99.4%

MUESTRAS NO RESPIRATORIAS		
	Baciloscopia	Xpert MTB/RIF
Sensibilidad	25%	66.7%
Especificidad	98.8%	100%
VPP	66.7%	100%
VPN	93.3%	97.96%

Precisión	92.3%	98.04%
------------------	-------	--------

Se puede observar que en ambas técnicas la especificidad de la prueba es superior al 90%, no obstante hay gran diferencia en la sensibilidad de la baciloscopia, en todas las muestras se observa una sensibilidad del 44.4%, y específicamente sólo en las muestras no respiratorias esta sensibilidad baja hasta el 25%, probablemente se deba a que en estas muestras la cantidad de bacilos es muy baja y a pesar que la persona tenga la enfermedad no pueda ser diagnosticada por este método, en el caso del Xpert MTB/RIF a pesar de ser más sensible, en muestras extrapulmonares no es tan efectivo (66.7%) comparándolo con las muestras pulmonares que su sensibilidad es del 100%. Estos datos indican que la baciloscopia es un método que es más efectivo en muestras pulmonares, pero el Xpert MTB/RIF tampoco se queda muy atrás, aunque actualmente existe el Xpert MTB/RIF ultra que mejora su desempeño con respecto a las muestras no respiratorias.

Otro estudio donde se ha comparado el GeneXpert con otros métodos diagnósticos es el realizado por el Ministerio de Salud Pública de Ecuador en el año 2012, con el fin de asegurar el control de calidad del rendimiento del sistema GeneXpert MTB/RIF y validar su aplicación ya que en ese año el país adquirió varios equipos y lo implementaron por primera vez, se realizaron pruebas en paralelo con la baciloscopia, cultivo bacteriológico y prueba de sensibilidad a drogas (PSD).

El resultado que se esperaba de la implementación y validación de este sistema es contar con un método de prueba rápida y fiable para ser incluido en los algoritmos de diagnóstico de tuberculosis en muestras respiratorias acorde a los lineamientos de la OMS, cuya

aplicación en poblaciones con alta incidencia de tuberculosis y grupos de riesgo permite disminuir los tiempos de espera para el diagnóstico e inicio de tratamiento, logrando una disminución del riesgo de exposición de la población a la infección, al ser este un factor preponderante en control de la progresión de la enfermedad.

El método consistió que en un lapso de cuatro meses (julio-octubre, 2012) se analizaron 1592 muestras respiratorias recolectadas de pacientes con sospecha de tuberculosis de todo el país, y fueron procesadas en el Laboratorio Nacional de Tuberculosis del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) y otros laboratorios donde se implementó el equipo de GeneXpert.

Criterios de inclusión:

1. Muestras de pacientes sintomáticos respiratorios (SR)
2. Grupos de riesgo: contacto con pacientes con tuberculosis multidrogo resistente (MDR), pacientes en retratamiento, fracaso del tratamiento como abandono recuperado o recaída, coinfección TB/VIH , inmunodeprimidos (principalmente por diabetes o cáncer), personal de salud diagnosticado con tuberculosis y personas privadas de libertad.

Criterios de exclusión:

1. Muestras extrapulmonares

Resultados

Se analizaron 1592 muestras de las cuales se obtuvieron 4776 resultados tanto de baciloscopia, GeneXpert y cultivo.

Los resultados de baciloscopia de las 1592 muestras analizadas fueron clasificados de acuerdo a la escala adoptada internacionalmente para el informe de resultados en diferentes grupos: “Negativo”, “Número de bacilos” (se observan de 1 a 9 Bacilos Ácido Resistentes [BAAR] en 100 campos observados), “1+” (10 a 99 BAAR en 100 campos observados), “2+” (1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados) y “3+” (más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados) 10.

Los resultados de cultivo de las 1592 muestras analizadas fueron clasificados según lo recomienda el Manual de Cultivo de la OMS, escala que ha sido adoptada internacionalmente para el informe de resultados en: “Negativo” (no se evidencia crecimiento de colonias), “Colonias individuales” (entre 1 y 19 colonias en el total de medios sembrados), “1+” (20 a 100 colonias), “2+” (Más de 100 colonias) y “3+” (Colonias incontables).

POSITIVIDAD DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO AL MÉTODO UTILIZADO PARA LA DETECCIÓN DE <i>Mycobacterium tuberculosis</i>		
Baciloscopia	Negativa	1175
	Escasos	47
	(+)	144
	(++)	99
	(+++)	127
	Total	1592
	Total Positivos	417

Cultivo	Negativo	1188
	Colonias individuales	40
	POS 1+	79
	POS 2+	121
	POS 3+	164
	Total	1592
	Total Positivos	404
GeneXpert MTB/RIF	MTB NO Detectado	1108
	MTB Detectado	484
	Total	1592

Desempeño del GeneXpert y baciloscopia

Un análisis general indica que de las 1592 muestras 417 fueron positivas mediante la baciloscopia, representando el 26% del total de las muestras, y 484 positivas mediante GeneXpert lo cual es el 30%, lo que indica de que aunque la diferencia sea mínima, si hay discordancia entre los resultados de ambos métodos.

De acuerdo a los datos analizados existen dos grupos que son concordantes que incluyen 1081 verdaderos negativos y 390 verdaderos positivos; y existen dos grupos discordantes que incluyen 121 muestras de las cuales 94 fueron positivas para GeneXpert pero negativas para baciloscopia y 27 muestras fueron positivas para baciloscopia y negativas para GeneXpert, en este estudio se consideró a la baciloscopia como el “gold standard”, por lo

que las 94 muestras positivas de GeneXpert se consideraron como falsos positivos, y las 27 negativas se clasificaron como falsos negativos.

Desempeño del GeneXpert y el cultivo

En este se establecieron dos grupos concordantes de los cuales 1107 son cultivo negativo y GeneXpert negativo y 403 cultivo y GeneXpert positivo, mientras que las discordancias reflejan 1 cultivo positivo/Xpert negativo y 81 cultivos negativos/Xpert positivo, el falso negativo observado en el GeneXpert probablemente sea debido a que la sensibilidad del método pueda verse afectada por contaminantes, inadecuado procesamiento o la presencia de inhibidores de la reacción de amplificación, o en algunos casos desperfectos de fábrica de los cartuchos. Por otro lado se observaron 81 falsos positivos de GeneXpert, esto es debido a que este método tiene mayor sensibilidad que la baciloscopia y cultivo debido a su principio de amplificación de ácidos nucleicos.

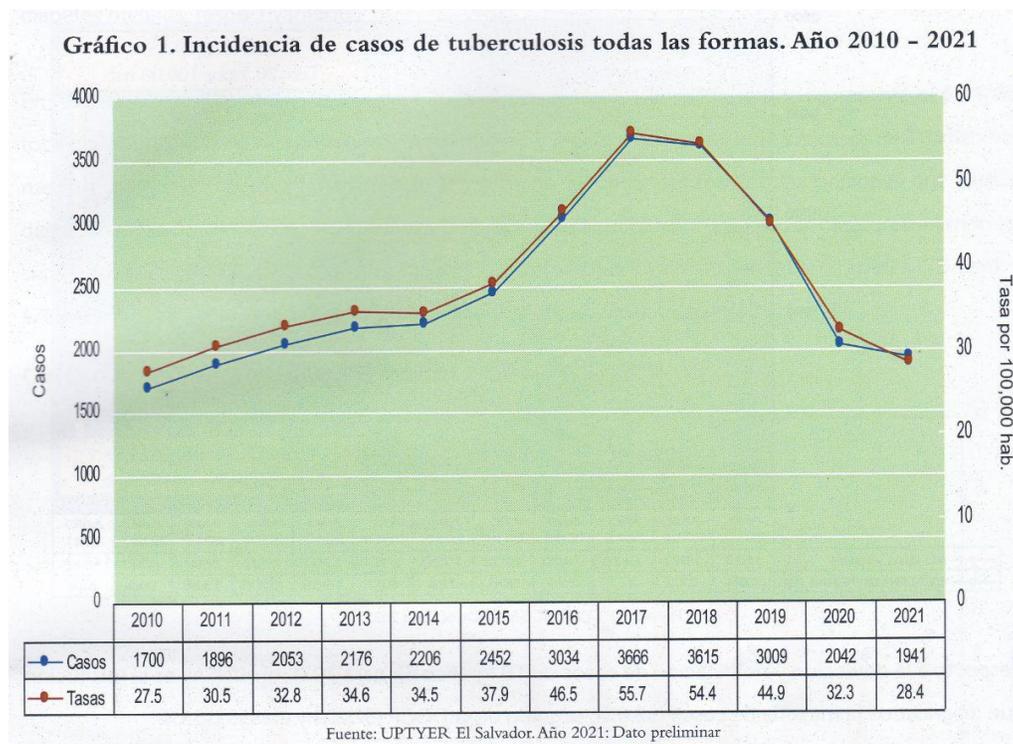
Detección de resistencia a rifampicina

Se hizo un análisis comparativo entre el GeneXpert MTB/RIF y un método convencional de PSD en medio sólido en el cual se observaron dos grupos concordantes 53 verdaderos resistentes y 214 verdadero sensible y en el caso de las discordancias muestra 5 falsos sensibles y 10 falsos resistentes.

TUBERCULOSIS EN EL SALVADOR

Entre el año 2010 a 2018 tuvo un aumento sostenido en la tasa de incidencia de tuberculosis, pero presentó una disminución en el año 2019, esto se debió a una disminución de los casos detectados en prisiones ya que se mantuvo la incidencia de la

población. El 44.1% de casos provenían de centros penales y el número de muertes disminuyó de 90 en 2018 a 69 en 2019.



Durante el año 2021, en el país fueron diagnosticados 1941 casos de TB, lo cual representa una tasa de incidencia de 28.4 por cada 100,000 habitantes, con una disminución del 5% con relación al año 2020. Dicha reducción de casos se explica principalmente por un menor número de casos de TB en privados de libertad, como resultado de diversas estrategias (ventilación, iluminación, aislamiento de casos, mejora en las condiciones nutricionales), previniendo de esta forma el contagio a otras personas en similar situación. La búsqueda activa de sintomáticos respiratorios siempre se mantuvo, así como la identificación de casos de grupos de riesgo y vulnerabilidad (personas privadas de libertad personas con VIH, personas que padecen de enfermedades no transmisibles como diabetes, enfermedad renal crónica, hipertensión arterial, personas en situación de calle, migrantes).

El Salvador cuenta con un plan estratégico nacional de TB (2017-2021) que está alineado con la Estrategia Fin de la TB. La ley nacional de TB fue discutida en el equipo jurídico del ejecutivo e incluye el acceso a programas de protección social para pacientes con TB. La Unidad del Programa Nacional de TB y Enfermedades Respiratorias (UPNTYER) cuenta con un equipo motivado, organigrama establecido y un fuerte liderazgo.

La proporción del financiamiento para la UPNTYER hasta el 2018 dependía principalmente de recursos internacionales, pero a partir del 2018 el financiamiento de TB proviene mayormente de fuentes domésticas (81% en el 2020).

La UPNTYER ha fortalecido la detección de casos a través de prueba molecular rápida (PMR), con un 54% de los casos con PMR en 2019. La implementación de GeneXpert® ha permitido importantes avances en la detección de casos de TB drogorresistente (TB-DR).

En el año 2021 se dio a conocer el Plan Estratégico Nacional Multisectorial para el Control de Tuberculosis en El Salvador 2022-2026 (PENMTB) que contiene las macro estrategias que deberán seguirse durante los próximos cinco años (2022-2026), a fin de alinearse con la actual Estrategia mundial “Fin de la TB”, de la OMS, que busca alcanzar la meta 3.3 de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) y los compromisos suscritos por el país en la Declaración política de la reunión de alto nivel de la Asamblea General sobre la lucha contra la tuberculosis de la ONU, el cual pretende poner fin a las epidemias del SIDA, tuberculosis, malaria y enfermedades tropicales desatendidas y combatir hepatitis, enfermedades transmitidas por agua y otras enfermedades transmisibles para el año 2030, siendo necesario, en específico, para ello, dar cumplimiento a la reducción de “Incidencia de la tuberculosis por cada 100.000” habitantes.

Implementación del GeneXpert

En el año 2013 el Doctor Julio Garay Ramos Coordinador del Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias expuso la experiencia de El Salvador en la implementación del Xpert MTB/RIF estableciendo un protocolo que tenía los siguientes objetivos:

General: Medir el aporte al diagnóstico de tuberculosis que genera el GeneXpert MTB/RIF en las muestras de pacientes con sospecha de TB pulmonar con baciloscopía negativa y pacientes con tuberculosis pulmonar con sospecha de farmacorresistencia.

Específicos:

- Valorar la utilidad diagnóstica del GeneXpert MTB/RIF de las muestras en pacientes VIH positivos con sospecha de tuberculosis pulmonar con un seriado de baciloscopías negativas.
- Valorar la utilidad diagnóstica del GeneXpert MTB/RIF de las muestras en pacientes privados de libertad con sospecha de tuberculosis pulmonar con un seriado de baciloscopías negativas.
- Valorar la utilidad diagnóstica del GeneXpert MTB/RIF de las muestras en pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar farmacorresistente.

Universo

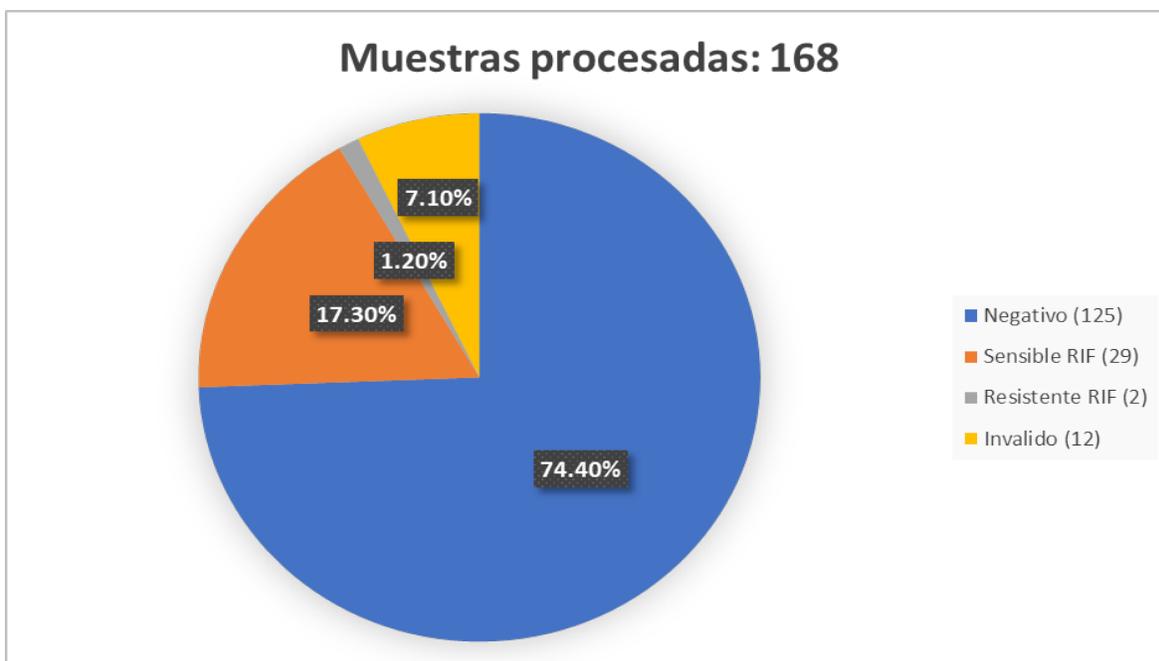
1. Muestras de pacientes con infección por VIH en quienes se sospecha tuberculosis pulmonar y tiene tres baciloscopías negativas evaluados en los hospitales nacionales: Rosales, Saldaña, Zacamil, San Rafael y Soyapango.

2. Muestras de pacientes privados de libertad con sospecha de tuberculosis pulmonar con tres baciloscopías negativas detectadas en los centros penales de Cojutepeque, San Vicente, Zacatecoluca y Mariona.
3. Muestras de pacientes con sospecha de farmacorresistencia (recaída con dos meses o más de haber finalizado tratamiento, contactos de TB-MDR, y abandono recuperado) detectados y/o referidos a la Clínica de TB-MDR en Hospital Saldaña procedentes de cualquier lugar del país.

Muestra

El 100% de las muestras recolectadas desde abril 2012 hasta abril 2013 en pacientes VIH positivos, privados de libertad con sospecha de tuberculosis pulmonar con un seriado de baciloscopías negativas y pacientes con sospecha de farmacorresistencia. Las muestras se limitaron a esputo y lavado bronquial.

Resultados



Se analizaron 168 muestras con GeneXpert MTB/RIF y también se les hizo baciloscopia, cultivo en medio de Lowenstein Jensen y radiografía al paciente. 125 (74.4%) muestras fueron negativas por GeneXpert , 31 (18.5%) fueron positivas para GeneXpert de las cuales 29 eran sensibles a rifampicina y 2 eran resistentes a rifampicina. El aporte que genera el GeneXpert en los casos de tuberculosis baciloscopia negativa con alta sospecha de tuberculosis es del 18%; el 100% de los GeneXpert positivos también fueron positivos a Lowenstein Jensen.

Los desafíos que el país tenía antes de la implementación del GeneXpert incluían que la baciloscopia por su baja sensibilidad resultaba poco útil en contextos con baja prevalencia de VIH, solo el 5% de casos de TB-MDR eran confirmados por el laboratorio, muchos casos de tuberculosis extremadamente resistente (TB-XDR) no son detectados debido a la falta de realización de pruebas de susceptibilidad a drogas de segunda línea y la necesidad de disponer de pruebas de diagnóstico rápido especialmente en casos con baciloscopia negativa.

En un principio el GeneXpert era una prueba centralizada pero en el año 2013 se llevó a cabo la descentralización implementando la técnica en la región occidental, región paracentral, región oriental y región metropolitana que en un inicio la realizaba solo el Laboratorio Nacional de Referencia, pero posteriormente se implementó en el Hospital Nacional Rosales.

Si bien el GeneXpert revolucionó el diagnóstico de la tuberculosis, el uso del cultivo no se dejó atrás, a pesar de ser un método que se tarda mucho tiempo en proporcionar un resultado, esto debido a que se usa para:

- Confirmar el diagnóstico de los casos que salen BK negativo.
- Detectar resistencia a rifampicina originada por mutaciones no detectadas por los sistemas moleculares comerciales y validar resultados dudosos.
- Investigar sensibilidad a otras drogas de primera y segunda línea.

Impactos y logros del uso de GeneXpert en El Salvador

1. Aumento significativo de la detección de casos de TB bacteriológicamente positivos.
2. Aumento del número de casos resistentes a la Rifampicina.
3. Reducción en el tiempo de diagnóstico.
4. Los errores y resultados no válidos han disminuido con el entrenamiento y habilidad desarrollada por los operadores.
5. Se redujeron significativamente los resultados falsos resistentes a RIF con la utilización de la nueva versión G4 Xpert MTB/ RIF.
6. Mientras Xpert MTB/RIF tiene ventajas significativas sobre las pruebas convencionales, no es una prueba perfecta, por lo que se insiste en la utilización de los estándares de oro para el desempate de discordancias.

Pruebas realizadas de GeneXpert en El Salvador

En la documentación Medición del Gasto Público en Tuberculosis en El Salvador, año 2021 (MEGA TB 2021) se publicó el total de pruebas realizadas por los diferentes métodos de diagnósticos de la tuberculosis durante el año 2021.

Pruebas de GeneXpert MTB/RIF realizadas:

Establecimiento	Sección	Prueba	Total Resultado
Hospital San Juan de Dios Santa Ana	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	2378
Hospital Sonsonate "Dr. Jorge Mazzini V"	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	4248
Hospital Panchimalco SS Neumológico	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	425
Hospital San Salvador SS Rosales	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	1549
Hospital San Vicente "Santa Gertrudis"	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	1017
Hospital Usulután "San Pedro"	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	642
Hospital San Miguel "San Juan de Dios"	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	2368
Hospital Ciudad Barrios Monseñor Oscar A	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	1524
Hospital Morazán "San Francisco Gotera"	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	1491
Hospital Zacatecoluca "Santa Teresa"	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	764
UCSFE Izalco SO	BM - Biología Molecular	BM 10-PCR Tiempo Real TB Gene Xpert MTB/Rf	2512
Total General			18,918

Solo en el año 2021 se realizaron un total de 18,918 pruebas de GeneXpert, de las cuales la mayoría fueron en el Hospital Sonsonate, además el Laboratorio Central realizó 3,555 pruebas; en el caso de la baciloscopia ese mismo año se realizaron 5,888 pruebas (solo incluyendo la primera muestra de un sintomático respiratorio), se realizaron 3,137 baciloscopias control de tratamiento y se realizaron 3,984 cultivos que incluyen cultivos para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, cultivo control para tuberculosis y cultivo de LCR para tuberculosis. Estos datos indican que el uso de GeneXpert al menos en el año 2021 superaron por mucho a las baciloscopias y cultivos realizados, lo que podría indicar además de otras razones, que los médicos prefieren el uso de PCR para el diagnóstico, probablemente debido a que es una prueba más confiable y más sensible .

Criterios para realizar una prueba molecular rápida MTB/RIF

En la NORMA TÉCNICA PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA TUBERCULOSIS, Capítulo IV: Diagnostico, Artículo 9.-, menciona los métodos autorizados por el Ministerio de Salud para la búsqueda de tuberculosis, y en el caso de las pruebas moleculares solo se engloba el GeneXpert MTB/RIF, MTB/RIF ULTRA y MTB/XDR

Artículo 15.- La prueba molecular rápida MTB/RIF o MTB/RIF ULTRA se debe indicar en los siguientes casos:

- a. Sintomático Respiratorio (SR) con 2 BK (-) y con TB presuntiva.
- b. Persona con VIH con signos y síntomas sugestivos de TB.
- c. Personas privadas de libertad, o con antecedentes; con signos y síntomas sugestivos de TB.
- d. SR con diabetes.
- e. SR con inmunodeficiencias.
- f. Caso TB que no negativiza al segundo, cuarto o quinto mes de tratamiento; o el noveno mes, en caso de retratamiento.
- g. Antes tratados (recaídas, fracasos, pérdida de seguimiento).
- h. Sospecha de TB extrapulmonar.
- i. Contactos de caso con TB-MDR, TB-RR o TB-DR.
- j. Niños y niñas con TB presuntiva.
- k. Personal de salud.
- l. Otros (se debe especificar).
- m. Indicación por resultado previo (en caso que el resultado de error o invalido).

Artículo 16.- La prueba molecular MTB/XDR se indicará en lo siguientes casos:

- a. Casos TB-RR.
- b. Antes tratados.
- c. Contacto de paciente TB-RR; TB-MDR.
- d. Pacientes que negativizan al segundo mes de tratamiento, pero en el control posterior, nuevamente presentan bacteriología positiva.
- e. Paciente que la Prueba de sensibilidad a drogas (PSD) en medio sólido o líquido resulte con resistencia a un fármaco.

III. CONCLUSIONES

La tuberculosis es una de las enfermedades de mayor importancia a nivel global, debido a que a lo largo de la historia ha provocado un sin de infecciones, desde tiempos antiguos se ha buscado formas de cómo combatirla, y muchos científicos idearon diferentes métodos que fueron de mucha utilidad para ayudar al diagnóstico de esta enfermedad y que han sido la base para los métodos más modernos que permiten incluso detectar resistencia de esta bacteria a diferentes fármacos lo que ayuda en gran medida a establecer el tratamiento más adecuado para la infección.

Desde el descubrimiento del agente causal de la enfermedad se obtuvieron logros trascendentales en el diagnóstico, desde el uso de tinciones hasta el uso de medios de cultivos adecuados para el crecimiento de esta bacteria que, por sus características es de difícil aislamiento. En la actualidad, el avance de la tecnología ha potenciado diferentes sectores, entre ellos el sector de la salud, lo que ha permitido la elaboración de técnicas tan sofisticado que permiten detectar, incluso en pequeñas cantidades, fragmentos de material genético de cualquier especie, que es la base de la biología molecular, la rama de la biología que permite el estudio de los procesos biológicos a nivel molecular; el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha dado un gran salto en el diagnóstico de diferentes enfermedades, entre ellas la tuberculosis, siendo hoy en día uno de los principales métodos de elección junto con la baciloscopia y el cultivo.

Se ha demostrado que el uso de GeneXpert proporciona ventajas sobre la baciloscopia y el cultivo, principalmente la sensibilidad, gracias a que esta es muy baja permite detectar *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes donde la carga de bacilos es tan baja que una baciloscopia no es suficiente para detectarla y en algunas ocasiones no se observan indicios

de crecimiento en un cultivo, también es un método rápido, proporcionando un resultados en menos de dos horas, esto le proporciona una gran ventaja sobre el cultivo que requiere semanas para obtener un resultado, por si fuera poco esta técnica de PCR permite también identificar mutaciones del gen blanco del bacilo y de esta forma establecer si existe o no resistencia a uno o varios fármacos que se usan normalmente para combatir la infección.

En definitiva el uso de biología molecular ha facilitado el trabajo en la medicina, proporcionando métodos muy eficaces y de mucha confiabilidad, lo que ayuda en gran manera en la lucha global para la prevención y control de la tuberculosis, este avance se ha evidenciado en El Salvador, ya que como se expuso en el trabajo el país ha tomado de manera eficaz el uso del GeneXpert como una de las principales técnicas a elegir para el diagnóstico de la tuberculosis, y en muchos casos se opta por este método por encima de la baciloscopia o cultivo, esto es una prueba de que en el país se están dando pasos importantes en el uso de tecnologías modernas en la rama de la medicina.

IV. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Comité luz verde regional de las américas. (2020). *INFORME DE LAS SESIONES VIRTUALES DE MONITOREO SOBRE TUBERCULOSIS FARMACORRESISTENTE DE EL SALVADOR*. OPS/OMS.
2. Cepheid. (2020). *Xpert MTB/RIF*. Sunnyvale.
3. Enfermedades C. p. (Marzo de 2021). *Historia del día mundial de la tuberculosis*. Obtenido de cdc.gov: https://www.cdc.gov/tb/esp/worldtbday/history_es.htm
4. Gabriela Amaya. (2020). Rendimiento del GeneXpert en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar en la edad pediátrica. *Archivos de Pediatría de Uruguay*, 12-23.
5. Jose Ortiz Jimenez. (2019). Validación e implementación de GeneXpert MTB/RIF para diagnóstico de tuberculosis en Ecuador. *KASMER*, 29-37.
6. Ledermann. (2003). La tuberculosis después del descubrimiento de Koch. *Revista Chilena de Infectología*, 48-50.
7. Melendez Cortez. (21 de Agosto de 2016). *Presente y Futuro de los Métodos Diagnósticos en Tuberculosis*. Obtenido de Ministerio de Salud: https://w5.salud.gob.sv/archivos/pdf/TUBERCULOSIS_DOC/presentaciones_XI_Congreso_TB_2016/04-Presente-y-futuro-de-los-metodos-diagnosticos-en_TB.pdf
8. MINSAL. (2020). *Lineamientos técnicos para el diagnóstico y control de la tuberculosis en el laboratorio clínico*. San Salvador.
9. MINSAL. (2020). *Lineamientos técnicos para la prevención y control de la tuberculosis*. San Salvador.

10. MINSAL. (2022). *Medición del Gasto Público en Tuberculosis en El Salvador, año 2021*. San Salvador.
11. MINSAL. (2023). *Norma técnica para la prevención y control de la tuberculosis*. San Salvador.
12. OMS. (21 de abril de 2023). *Tuberculosis*. Obtenido de Who.int: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
13. OPS. (2017). *Coinfección TB/VIH Guía Clínica Regional*. Washington DC: OPS.
14. Patrick Murray. (2017). *Microbiología Médica*. Barcelona: Elsevier.
15. Nieto Ramirez. (2021). *Estudio de la tuberculosis desde la sucursal del cielo*. Cali, Colombia: Editorial Universidad Icesi.
16. Ministerio de Salud (2021). *Plan estratégico nacional multisectorial para el control de tuberculosis en El Salvador 2022-2026*. San Salvador.
17. Organización Panamericana Salud (21 de Agosto de 2023). *OPS*. Obtenido de <https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis#:~:text=La%20tuberculosis%20sigue%20siendo%20una,especialmente%20en%20los%20m%C3%A1s%20vulnerables>.
18. Yrene Vásquez (2017). Coinfección tuberculosis y VIH/SIDA, en el Hospital Militar "Dr. Carlos Arevalo". *Boletín Venezolano de Infectología*, 66-67.