



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
SECCIÓN DE POSGRADO

VALOR DIAGNÓSTICO DEL MÉTODO GRIESS EN PACIENTES CON  
SOSPECHA DE TUBERCULOSIS MULTIDROGORESISTENTE

PRESENTADA POR  
PERCY JESÚS CUBA URDAY

TESIS PARA OPTAR TÍTULO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA  
CLÍNICA

LIMA – PERÚ

2013



**Reconocimiento  
CC BY**

El autor permite a otros distribuir, mezclar, ajustar y construir a partir de esta obra, incluso con fines comerciales, siempre que sea reconocida la autoría de la creación original.

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**USMP**  
UNIVERSIDAD DE  
SAN MARTÍN DE PORRES

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
SECCIÓN DE POSGRADO

**VALOR DIAGNÓSTICO DEL MÉTODO GRIESS EN PACIENTES  
CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS MULTIDROGORESISTENTE**

**TESIS**

**PARA OPTAR TÍTULO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA**

**PRESENTADA POR:**

**PERCY JESÚS CUBA URDAY**

**LIMA-PERÚ**

**2013**



*El porvenir se nutre de sus historias y del detalle enraizado en este testimonio vivo: una manera de sembrar semillas sobre tierra fértil y sagrada que florecerá en el futuro (el autor)*

Gracias por el apoyo Lic. TM Carlos Romero Valverde y Blga. Delsa Tárraga Gonzales, quienes contribuyeron con su trabajo en el procesamiento de muestras

## ÍNDICE

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>7</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>14</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>22</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>24</b>

### **ANEXOS**

**Anexo 1: Ficha de recolección de datos**

**Anexo 2: Solicitud para investigación bacteriológica en Tuberculosis**

**Anexo 3: Factores de riesgo asociado a tuberculosis multidrogoresistente**

**Anexo 4: Método de nitrato-reductasa (Griess) para la detección rápida de la  
suceptibilidad a Isoniacida y Rifampicina**

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Conocer el grado de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del método Griess en pacientes con factor de riesgo asociado a tuberculosis multiresistente.

**MATERIAL y MÉTODOS:** Estudio prospectivo, longitudinal de 171 muestras de esputo de pacientes consecutivos, con algún factor de riesgo para drogoresistencia, a quienes se les realizó pruebas de sensibilidad a Isoniazida y Rifampicina mediante el método convencional de proporciones y método Griess, de enero del 2011 a julio del 2013 en el Laboratorio de Tuberculosis del Hospital Nacional Guillermo Almenara-EsSalud Lima.

**RESULTADOS:** El 46.8% constituido por pacientes resistentes a Isoniazida, y 41.5% de pacientes resistentes a Rifampicina mediante el método convencional. 54.3% de pacientes entre 20 a 39 años, 23.6% entre 40 a 59 años, 16.9% mayores de 60 años. 40.9% fueron mujeres y el 59.1% fueron hombres. La sensibilidad (98.75%) del método Griess para detectar resistencia a Isoniazida fue discretamente mayor que para detectar Rifampicina (98.59%). La especificidad (100%), valor predictivo positivo (100%) y valor predictivo negativo (99.01%) para detectar resistencia a Rifampicina fue discretamente mayor, que para Isoniazida (97.8%, 97.53% y 98.88%, respectivamente). La edad y sexo no fueron factores significativos relacionados a tuberculosis multidrogoresistente ( $p > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** El método Griess, especialmente para detectar resistencia a Rifampicina, es un método con alta sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, en sospecha de tuberculosis multiresistente.

**PALABRAS CLAVES:** tuberculosis, resistencia, sensibilidad, especificidad, Griess.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To determine the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of Griess method in patients with risk factors associated with multidrug-resistant tuberculosis.

**MATERIAL AND METHODS:** Prospective, longitudinal study of 171 consecutive sputum specimens from patients with any risk factors for multidrug-resistant, who were tested for sensitivity to Isoniazid and Rifampin by the conventional method of proportions and Griess method, January 2011 at July 2013 in the Tuberculosis Laboratory of the National Hospital Guillermo Almenara-EsSalud Lima.

**RESULTS:** 46.8% consisted of patients resistant to Isoniazid, and 41.5% of patients resistant to Rifampin by the conventional method. 54.3% of patients aged 20-39 years old, 23.6% between 40-59 years old, 16.9% over 60 years. 40.9% were female and 59.1% were men. The sensitivity (98.75%) of the Griess method for detecting resistance to Isoniazid was slightly higher than for detecting Rifampicin (98.59%). The specificity (100%), positive predictive value (100%) and negative predictive value (99.01%) to detect Rifampicin resistance was slightly higher than for Isoniazid (97.8%, 97.53% and 98.88%, respectively). Age and gender were not significant factors related to tuberculosis multidrug-resistant ( $p>0.05$ ).

**CONCLUSION:** The Griess method, especially to detect Rifampicin resistance is a method with high sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value.

**KEY WORDS:** tuberculosis, resistance, sensitivity, specificity, Griess.

## INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad social estrechamente vinculada con la pobreza, con las malas condiciones de trabajo y de vida; con la inequidad y la injusticia social y con otros factores de riesgo mejor definidos, entre los que cabe destacar: desnutrición, insuficiencia renal crónica, neoplasias, diabetes, inmunodeficiencias, tratamientos prolongados con glucocorticoides, es decir, todas las situaciones que determinan una depresión transitoria o permanente de la inmunidad mediada por células (1).

Perú, Haití y Bolivia tienen la mayor incidencia de tuberculosis en América. En el otro extremo, Uruguay, Chile y Cuba están en proceso de erradicación de esta enfermedad como un problema de salud pública. La tasa de incidencia de casos de TB reportada en Lima y Callao y otras regiones del país superan a la incidencia de países vecinos como Colombia, Ecuador, Argentina o Chile (2).

Han pasado más de 15 años de haber sido declarada la TB como una emergencia sanitaria mundial por la OMS y en el Perú la situación no ha mejorado, a pesar del desarrollo de nuestra macro-economía; lo que refleja una indudable inequidad. Al punto que la prevalencia de la tuberculosis debería ser considerado un indicador de inclusión social.

Perú muestra una de las tasas más elevadas de tuberculosis multiresistente (TB MDR), con una prevalencia de 5.4% entre los pacientes con TB nunca antes tratados, y 23.2% entre los pacientes previamente tratados (3). El centralismo del Perú se refleja claramente en la prevalencia de TB MDR y la TB XDR (extremadamente resistente), ya que en Lima y Callao se producen el 80 y 92% de casos de ambas enfermedades, respectivamente (4). Treinta distritos de Lima tienen una tasa de morbilidad por encima de 100 casos por 100 mil habitantes, y



los distritos de El Agustino, La Victoria, Santa Anita, Ate, San Juan de Lurigancho, Cercado, Rímac, Lince, Comas y San Juan de Miraflores son los distritos con mayor tasa de prevalencia de tuberculosis en la capital (5).

Se han desarrollado métodos nuevos de laboratorio para el diagnóstico de TB-MDR, pero no están al alcance de los países en desarrollo debido a que no disponen de infraestructura adecuada, equipamiento y costo de las pruebas (6).

Existe un plan de fortalecimiento del laboratorio de referencia nacional de Micobacterias y de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en todo el país, por lo que se cuenta con pruebas rápidas de sensibilidad a la resistencia a fármacos básicos anti-tuberculosos, como son la Isoniazida (H) y Rifampicina (R), entre los cuales se encuentra el método colorimétrico conocido como el método de Griess. Este método utiliza la determinación de la actividad de la enzima nitrato reductasa de la bacteria que en cultivos de crecimiento activo de *Mycobacterium tuberculosis* reduce el nitrato a nitrito y que se puede evidenciar por la formación de un color rojo grosella con el reactivo de Griess. Este cambio de color a rojo grosella permite la detección temprana del crecimiento de esta micobacteria al comparar los tubos controles sin fármacos con tubos que contienen fármacos anti-tuberculosos. Los organismos sensibles crecerán y de esta manera, desarrollarán un cambio de color en el medio sin fármaco, pero no crecerán en el medio con fármacos y por lo tanto, no producirán un cambio de color. Las cepas resistentes crecerán y cambiarán de color en tubos "control" sin fármacos y en tubos que contienen fármacos (7).

La aplicación de este método en su versión directa, permitirá examinar un gran número de muestras con baciloscofia de esputo positivo, a fin de seleccionar

aquellos pacientes que pudieran estar potencialmente infectados con *Mycobacterium tuberculosis* multiresistente a los medicamentos.

El presente estudio busca determinar el valor diagnóstico del método Griess de los pacientes con algún factor de riesgo asociado a multidrogoresistencia, así como las características demográficas y prevalencia de factores de riesgo de esta población, siguiendo los criterios actualmente aceptados sobre medicina basada en la evidencia.





## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio de validez predictiva, relacional, de tipo prospectivo, longitudinal y descriptivo fue realizado en el Laboratorio de Tuberculosis del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen entre enero del 2011 a julio del 2013.

En el hospital se realizaron las pruebas de sensibilidad de acuerdo al manual de procedimientos del método Griess, emitido por el Ministerio de Salud de Perú en el 2011 ( recolección de muestra en envases de boca ancha y tapa rosca bajo supervisión profesional, cantidad mínima de 3-5ml de esputo, uso de N-Acetil-L-Cisteína para la digestión, hidróxido de sodio al 4% como agente descontaminante y a los 14 – 21 días se añadió 0.5 ml de reactivo Griess recién preparado en uno de los tubos “control” y en tubos con farmacos).

Adicionalmente se procedió, mediante el método de las proporciones Lowenstein-Jensen en paralelo de muestras de todos los pacientes con baciloscopía en esputo positivo, con o sin tratamiento recibido, mayores de 15 años de ambos sexos, con algún factor de riesgo asociado a TB MDR, según Norma Técnica emitida en el 2006. Posteriormente se realizó la lectura de estas pruebas, para el método Griess a los 14 y 21 día; y el método de las proporciones (método de referencia), a los 42 días, según procedimientos establecidos.

El número final de pacientes incluidos fue de 171, con incorporación consecutiva. Para tal fin, se elaboró una ficha de recolección de datos, validada por profesionales del Laboratorio, en la que se recolectó las lecturas finales de las pruebas de sensibilidad y características demográficas.

Esta lectura fue codificada agrupando las variables en categóricas, para así aplicar medidas descriptivas de relación y cálculo. En el procesamiento de los

datos se usaron los programas SPSS V.21.0 y el Microsoft EXCEL V.2010, para elaborar tablas maestras para la tabulación correspondiente en frecuencia relativa requerida y la confección de tablas de contingencia estadísticas. En caso de la asociación de variables se utilizó la prueba de Chi cuadrado de Pearson con niveles de significancia estadística  $p < 0.05$ , estableciéndose un intervalo de confianza del 95%.

VARIABLE	INDICADORES	UNIDADES	ESCALA
INDEPENDIENTE			
Paciente con sospecha de TB MDR	Met.proporciones (+) Met.proporciones(-) Met.Griess(+) Met.Griess(-)	Sensible Resistente	Nominal
Tiempo de espera de resultado	14 días 21 días 28 días 35 días 42 días	8 – 14 días 15 – 21 días 22 – 28 días 29 – 35 días 36 – 42 días	Continuo
INTERVINIENTE			
Edad	Fecha de nacimiento	<20 20-39 40-59 ≥60	Rango
Sexo	Caracteres sexuales secundarios	Masculino Femenino	Nominal

Desde el punto de vista ético, al ser un estudio de muestras de esputo sin la participación directa de pacientes, no se necesitó de consentimiento informado y el anonimato de la población estuvo respetado.





TABLA 1

DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS  
MULTIDROGORESISTENTE SEGÚN EDAD EN RELACIÓN AL MÉTODO  
CONVENCIONAL PARA ISONIAZIDA

Isoniazida	Resultado del Método de Proporciones				Subtotal		Total	
	Resistente		Sensible					
Edad (años)	N	%	N	%	N	%	N	%
Menos de 20	3	33.3	6	66.7	9	100.0	9	5.2
De 20 a 39	49	52.7	44	47.3	93	100.0	93	54.3
De 40 a 59	15	37.5	25	62.5	40	100.0	40	23.6
De 60 a más	13	44.8	16	55.2	29	100.0	29	16.9
Total	80	46.8	91	53.2	171	100.0	171	100.0

$\chi^2=3.386$   $p=0.336$  (N.S.)

En la Tabla 1 se observa 54.3% de pacientes entre 20 a 39 años, 23.6% entre 40 a 59 años y 16.9% de pacientes mayor o igual de 60 años, con sospecha de TB MDR. 46.8% fueron resistentes a Isoniazida, y 53.2% sensibles a este medicamento, según el método convencional. Al aplicar la prueba de Chi cuadrado no se encontró diferencia significativa entre la edad y resistencia a Isoniazida ( $p>0.05$ ), de pacientes con sospecha de TB MDR en el Laboratorio de Tuberculosis del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen EsSalud de enero del 2011 a julio del 2013



TABLA 2

DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS  
MULTIDROGORESISTENTE SEGÚN EDAD EN RELACIÓN AL MÉTODO  
CONVENCIONAL PARA RIFAMPICINA

Rifampicina	Resultado del Método de Proporciones				Subtotal		Total	
	Resistente		Sensible					
Edad (años)	N	%	N	%	N	%	N	%
Menos de 20	4	44.4	5	55.6	9	100.0	9	5.2
De 20 a 39	44	47.3	49	52.7	93	100.0	93	54.3
De 40 a 59	12	30.0	28	70.0	40	100.0	40	23.6
De 60 a más	11	37.9	18	62.1	29	100.0	29	16.9
Total	71	41.5	100	58.5	171	100.0	171	100.0

$\chi^2=3.657$   $p=0.301$  (N.S.)

En la Tabla 2 se observa 54.3% de pacientes entre 20 a 39 años, 23.6% entre 40 a 59 años y 16.9% de pacientes mayor o igual de 60 años, con sospecha de TB MDR. 41.5% fueron resistentes a Rifampicina, y 58.5% sensibles a este medicamento, según el método convencional. Al aplicar la prueba de Chi cuadrado no se encontró diferencia significativa entre la edad y resistencia a Isoniazida ( $p>0.05$ ), de pacientes con sospecha de TB MDR en el Laboratorio de Tuberculosis del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen EsSalud de enero del 2011 a julio del 2013

TABLA 3

DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS  
MULTIDROGORESISTENTE SEGÚN SEXO EN RELACIÓN AL MÉTODO  
CONVENCIONAL

	Resultado del Método de Proporciones				Subtotal		Total	
	Resistente		Sensible					
Sexo	N	%	N	%	N	%	N	%
Masculino	40	39.6	61	60.4	101	100.0	101	59.1
Femenino	31	44.3	39	55.7	70	100.0	70	40.9
Total	71	41.5	100	58.5	171	100.0	171	100.0

$\chi^2=0.006$   $p=0.938$  (N.S.)

En la Tabla 3 se observa 59.1% pacientes de sexo masculino y 40.9% pacientes de sexo femenino con sospecha de TB MDR. Al aplicar la prueba de Chi cuadrado de Pearson no se encontró diferencia significativa entre el sexo y resultado del Método de Proporciones ( $p>0.05$ ), de pacientes con sospecha de TB MDR en el Laboratorio de Tuberculosis del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen EsSalud de enero del 2011 a julio del 2013

TABLA 4

EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ DEL MÉTODO GRIESS COMO PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD A ISONIAZIDA

Isoniazida	Método Proporciones				Total	
	Resistente		Sensible			
Método Griess	N	%	N	%	N	%
Resistente	79	46.2	2	1.2	81	47.4
Sensible	1	0.6	89	52.0	90	52.6
Total	80	46.8	91	53.2	171	100.0

Prueba estadística: Medida de acuerdo

Índice Kappa = 0.95

SENSIBILIDAD = 98.75%

ESPECIFICIDAD = 97.80%

V.P. POSITIVO = 97.53%

V.P. NEGATIVO = 98.88%

En la Tabla 4 se observa que el método Griess posee alta sensibilidad (98.75%) para detectar a los verdaderamente resistentes a Isoniazida, y alta especificidad (97.8%) para detectar a los que verdaderamente son sensibles al medicamento. Así mismo, el 97.53% de muestras de pacientes que mediante el método Griess presentaban resistencia se confirmó esta condición (v.p. positivo); mientras que el 98.88% de muestras de pacientes que resultaban sensibles no padecía efectivamente resistencia a Isoniazida (v.p.negativa).

TABLA 5

EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ DEL MÉTODO GRIESS COMO PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD A RIFAMPICINA

Rifampicina	Método Proporciones				Total	
	Resistente		Sensible			
Método Griess	N	%	N	%	N	%
Resistente	70	40.9	0	0.0	70	40.9
Sensible	1	0.6	100	58.5	101	59.1
Total	71	41.5	100	58.5	171	100.0

Prueba estadística: Medida de acuerdo

Índice Kappa = 0.98

SENSIBILIDAD = 98.59%

ESPECIFICIDAD = 100.0%

V.P. POSITIVO = 100.0%

V.P. NEGATIVO = 99.01%

En la Tabla 5 se observa que el método Griess posee alta sensibilidad (98.59%) para detectar a los verdaderamente resistentes a Rifampicina, y alta especificidad (100%) para detectar a los que verdaderamente son sensibles al medicamento. Así mismo, el 100% de muestras de pacientes que mediante el método Griess presentaban resistencia se confirmó esta condición (v.p. positivo); mientras que el 99.01% de muestras de pacientes que resultaban sensibles no padecía efectivamente resistencia a Rifampicina (v.p.negativa).

TABLA 6

COMPARACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DEL MÉTODO GRIESS PARA  
SUSCEPTIBILIDAD A ISONIAZIDA Y RIFAMPICINA EN SOSPECHA DE  
TUBERCULOSIS MULTIRESISTENTE

Variable	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor Predictivo Positivo (%)	Valor Predictivo Negativo (%)
Resistencia a Isoniazida	98.75	97.80	97.53	98.88
Resistencia a Rifampicina	98.59	100.0	100.0	99.01

En la Tabla 6 se observa que de las dos pruebas de susceptibilidad evaluadas, el método Griess posee mayor sensibilidad para detectar resistencia a Isoniazida. Además, la especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del método Griess para detectar resistencia a Rifampicina es mayor que para Isoniazida. Para ambos medicamentos, el método Griess posee sensibilidad de 98%, especificidad de 97 a 100%, valor predictivo positivo de 97 a 100% y valor predictivo negativo de 98 a 99%.

TABLA 7

DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS  
MULTIDROGORESISTENTE SEGÚN FACTOR DE RIESGO ASOCIADO

Factor de Riesgo	Frecuencia	Porcentaje
Antecedente de hospitalización previa	42	24,6
Otras condiciones	38	22,2
Alguna condición de inmunosupresión	37	21,6
Persona con TB multitratada	30	17,5
Recaída en menos de 6 meses de egresar como “curado”	13	7,6
Persona con antecedente de abandono de tratamiento	4	2,3
Persona con antecedente de tratamiento autoadministrado	3	1,8
Reacción adversa a fármacos antituberculosos	2	1,2
Antecedente de ser contacto de paciente con TB MDR	1	0,6
Estudiantes de ciencias de salud que realiza practicas	1	0,6
Total	171	100,0

En la Tabla 7 se observa un 24.6% de pacientes con antecedente de hospitalización previa, el 22.2% con otras condiciones, 21.6% con alguna condición de inmunosupresión, 17.5% de personas con TB multitratada, y 7.6% con recaída en menos de 6 meses de egresar como “curado”, en el Laboratorio de Tuberculosis en el Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen EsSalud de enero 2011 a julio del 2013.

## DISCUSIÓN

Hemos evaluado prospectivamente los resultados de las pruebas de sensibilidad convencional y de Griess en 171 muestras de pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogoresistente.

A pesar que el tratamiento para *Mycobacterium tuberculosis* es conocido hace casi 50 años, este ha tenido el problema de presentar patrones de resistencia a antibióticos desde el inicio debido a los regímenes de tratamiento no adecuados. La aparición de cepas MDR (multidrogoresistente, donde por lo menos hay resistencia a la vez de Isoniazida y Rifampicina) crea la necesidad de buscar métodos rápidos de diagnóstico para poder iniciar un tratamiento personalizado, reduciendo así las posibilidades de fracaso y/o recaída, además de evitar la propagación de dicha cepa en la comunidad (8, 9).

Por ello, en la red nacional de laboratorios en salud pública del Perú, se viene utilizando el método de nitrato reductasa (Griess) para brindar una prueba directa rápido, confiable y sencillo que permita examinar un gran número de muestras de esputo (7, 10, 11). Existen estudios que muestran exactitudes diagnósticas muy elevadas de los métodos fenotípicos y genotípicos, incluso algunos metanálisis reportan sensibilidades y especificidades mayores a 95% tanto para Isoniazida como para Rifampicina, sin embargo, no solo se debe tomar en cuenta la sensibilidad y especificidad de una prueba diagnóstica al momento de decidir su implementación, también otros factores como la prevalencia de la enfermedad y, por ende, los valores predictivos, facilidad y velocidad de la transmisión de la resistencia en la comunidad, los costos y factibilidad de su implementación (6, 12, 13).

El error diagnóstico en los métodos de detección de resistencia a medicamentos de primera línea es aceptada por la mayoría de los autores entre 1 al 10% (9, 14). Nuestro estudio, estimó el error diagnóstico para resistencia a Isoniazida en 1.25%, y para Rifampicina en 1.4%; probablemente debido a que la lectura final se realizó apenas a los 14 días después de la incubación en estos pacientes. La cantidad de pacientes incluidos en estudios publicados fue variado, reportando de entre 57 a 4102 muestras procesadas, se reporta error diagnóstico de menos de 8% (9), lo que afectará al grado de sensibilidad, especificidad y validez predictiva (15, 16).

El grupo etario con mayor incidencia de pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogoresistente varía entre las diferentes publicaciones sea por el número de pacientes que toma cada uno de ellos (9); en el nuestro, el mayor número de pacientes 54.3% estuvo entre los 20 – 39 años, 23.6% entre 40 a 59 años y mayores a 60 años el 16.9%.

Atribuimos a ello que hay mayor número de pacientes mayores de 20 años en la población asegurada, por ser estos económicamente activos.

El 2006, el número de casos de TB MDR estimado por OMS para Perú fue de 3972, mientras que para Brasil y México, que nos superan hasta ocho veces en población, los casos estimados de TB MDR fueron inferiores, 1464 y 1564, respectivamente (6).

Si bien la resistencia a drogas antituberculosas ocurre durante cualquier etapa de la vida, no es rara en lactantes, ni tampoco en la adultez mayor. Otero et al. encontraron una alta tasa de TB MDR primaria en la población general con factores de riesgo no identificables para multidrogoresistencia basándose en que



la incidencia en áreas endémicas es producida por estos factores de riesgo aún en estudio (16).

La edad promedio de nuestros pacientes fue de 40 años; con una edad máxima de 86 años, registrada en un solo paciente. La edad promedio de los pacientes con sospecha de TB MDR varía entre los diferentes trabajos probablemente debido a la muestra utilizada.

El diagnóstico de sensibilidad a drogas antituberculosas de primera línea se realiza utilizando el método autorizado por la Norma Técnica del Ministerio de Salud, que es el método de prueba de sensibilidad convencional (10).

Encontramos que, la prevalencia de tuberculosis resistente a Isoniazida fue 46.8%, y para Rifampicina de 41.5% valor superior a lo reportado por Del Castillo et al. (6). Las cepas resistentes se transmiten de la misma manera que las cepas sensibles, por ello se considera que el real diagnóstico de este escenario epidemiológico en el Perú, es el de una epidemia no controlada de TB MDR.

En 91 pacientes, es decir el 53.2%, las pruebas de susceptibilidad fueron consideradas como sensibles a Isoniazida; y en 100 pacientes, es decir 58.5%, sensibles a Rifampicina según el método convencional. La proporción de muestras sensibles a estos medicamentos es baja en comparación con lo reportado por otros autores (2, 15, 16).

Este registro podría explicarse debido a que el diagnóstico es aún muy limitado y no se ha logrado su universalización en las zonas de alta prevalencia, como son aquellas condicionadas por el hacinamiento y niveles socio-económicos bajos (6).

El diagnóstico de TB MDR/XDR mediante la prueba de susceptibilidad es aún muy limitado. Cada año se realizan solo casi la tercera parte de las personas con

TB en el país (4, 17) y no se alcanza la universalización del diagnóstico de la TB MDR en las zonas de alta prevalencia, como son las regiones Lima y Callao (6).

Al aplicar la prueba de Chi cuadrado de Pearson no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el grupo etario y resultado del método de proporciones ( $p > 0.05$ ). esto es reconocido con la literatura internacional disponible en artículos de revistas revisadas (4, 18).

La población que hemos estudiado tuvo ligera predominancia de pacientes de sexo masculino (59.1%) con respecto al sexo femenino (40.9%), que coincide con el reporte de Chavez Pachas et al. Además, la relación hombres/mujeres (101/70) fue de 1.44, encontrándose diferencia no significativa entre el sexo y resultado del método de proporciones (  $p > 0.05$  ) que corresponde con lo reportado en la literatura internacional (4, 6).

La sensibilidad del método Griess para detectar resistencia a Isoniazida (H) fue de 98.75% y la especificidad del 97.8%. Así, el método Griess fue positivo en 79 de las muestras sospechosas de resistencia, y negativa en 89 de todas las muestras procesadas que presentaron sensibilidad a Isoniazida.

Este hallazgo significa que solo 1.25% de las muestras que eran resistentes a este medicamento, mediante el método de Griess se informaron como sensible. Por otra parte el valor predictivo positivo del método Griess fue del 97.53% y el valor predictivo negativo 98.8%; ello significa que en el 98.88% de las muestras que informaron con resistente a Isoniazida, mediante el método Griess, se confirmó esta condición, mientras que de los que se informaron como sensibles a este medicamento, 98.88% eran efectivamente sensibles.

En cuanto a la sensibilidad del método Griess para detectar resistencia a Rifampicina (R) fue de 98.59% y la especificidad del 100%. Así, el método Griess fue positivo en 70 de las muestras sospechosas de resistencia, y negativa en 100 de todas las muestras procesadas que presentaron sensibilidad a Rifampicina. Esto significa que solo 1.4% de las muestras que eran resistentes a este medicamento, mediante el método de Griess se informaron como sensible. Por otra parte el valor predictivo positivo del método Griess fue del 100% y el valor predictivo negativo del 99.01%; ello significa que en el 100% de las muestras que informaron con resistente a Rifampicina, mediante el método Griess, se confirmó esta condición, mientras que de los que se informaron como sensibles a este medicamento, 99.01% eran efectivamente sensibles.

La comparación del valor diagnóstico del método Griess para resistencia a drogas antituberculosas de primera línea es presentada en la tabla 6, donde se demuestra que presenta altísima sensibilidad tanto para Isoniazida y Rifampicina, con un valor del 98.75% y 98.59%, respectivamente. El método Griess presentó discretamente mejor especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo con 100%, 100% y 99.01% respectivamente, para detectar a los que verdaderamente tienen resistencia a Rifampicina; siendo similar su capacidad de detectar como resistentes, comparado a la susceptibilidad a Isoniazida, a los que verdaderamente lo están (98.59%). Así mismo la especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para detectar resistencia a Isoniazida es discretamente baja comparada con la de Rifampicina, con 97.8%, 97.53% y 98.88% respectivamente.

El valor predictivo positivo del método Griess para resistencia a Rifampicina es del 100%, ello significa que todas las muestras sospechosas de resistencia mediante el método Griess reactivo, se confirmó la resistencia a este medicamento.

En nuestro estudio, la probabilidad de clasificar correctamente a un paciente sensible a Rifampicina es del 99.01%, es decir todas las muestras excepto una, mostraron sensibilidad a este medicamento.

Se han desarrollado algunos trabajos acerca del valor diagnóstico de diversos métodos genotípicos que pueden predecir resistencia a medicamentos, evidenciando sensibilidad y especificidad de 99% y 99% respectivamente para detectar resistencia a Rifampicina mediante el Genotype MBTDRplus®, que es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT); y para el caso de resistencia a Isoniacida, 96% y 100% de sensibilidad y especificidad respectivamente (19).

En cuanto a métodos fenotípicos, Solis et al. reportaron sensibilidad y especificidad del método Griess para detectar resistencia a Isoniazida del 99.1% y 100% respectivamente; para la identificación de resistencia a Rifampicina, la sensibilidad y especificidad fue 93.5% y 100% respectivamente (20).

Angeby et al. publicaron sensibilidades y especificidades para estas drogas de 100% y 100% para Rifampicina; 97% y 96% para Isoniazida, respectivamente (21); que correspondió con lo reportado por Suarez et al., reafirmando con el reporte de metanálisis donde muestran sensibilidad y especificidad para detección de resistencia a Rifampicina de 99% y 100%; para Isoniazida de 94% y 100%, respectivamente (9, 16). El rendimiento diagnóstico de pruebas rápidas de susceptibilidad, como son MODS y Griess, muestran sensibilidades y especificidades por encima de 90%, así como obtención de resultados en un

lapso significativamente más corto que las pruebas convencionales (9, 22, 23, 24, 25).

Debemos tener en cuenta que otros métodos son costosos o no son accesibles económicamente. La literatura internacional reporta sensibilidad y especificidad para detección de resistencia a Rifampicina de 96% y 96% con MODS; 99% y 98% con Genotype®MTBDR; y 99% y 99% con el nuevo Genotype®MTBDRplus, respectivamente. Para Isoniazida, 92% y 96% para MODS; 71% y 100% para Genotype®MTBDR; 96% y 100% con el Genotype®MTBDRplus, respectivamente (9, 19).

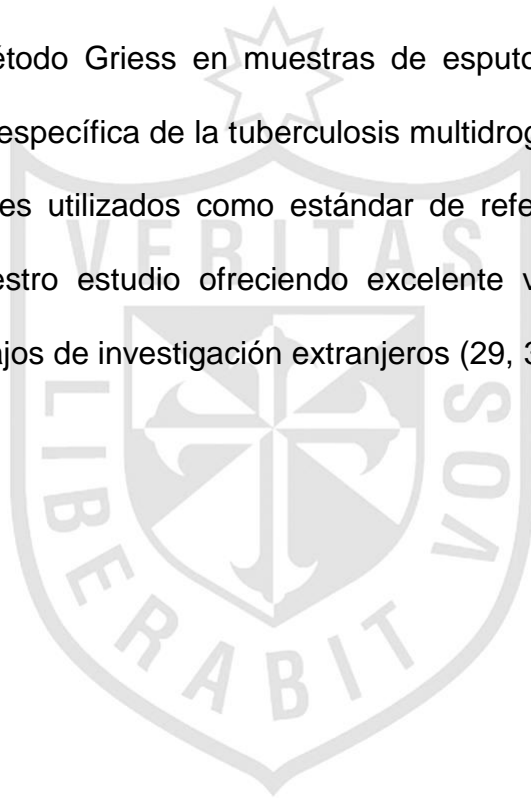
De los métodos evaluados en el laboratorio: método de prueba de sensibilidad convencional, y método Griess, se observó que existe diferencia en la evaluación periódica de los resultados de ambos métodos, siendo evaluados al 7mo, 14, 21, 28, 35 y 42 días después de la incubación si se aplica a una muestra de esputo frotis positivo. Los resultados del método Griess en la mayoría de los casos estuvieron disponible a los 21 días, debido a razones administrativas; comparado a los 42 días de espera por el método convencional. Este tiempo es lo suficientemente largo para, por ejemplo, un paciente transmita dicha cepa MDR a la comunidad, o tiempo en el cual no recibe el tratamiento adecuado. Esto es corroborado por Ugarte-Gil et al. y Angeby et al (14, 21).

El grupo de alto riesgo con mayor frecuencia a los cuales se les realizó las pruebas de sensibilidad, fueron aquellos con antecedente de hospitalización previa, seguido de aquellos con otras condiciones no especificadas pero que fueron evaluadas por el medico consultor de laboratorio de turno; en tercer lugar, aquellos con alguna condición de inmunosupresión, por ejemplo: coinfección VIH, diabetes mellitus, tratamiento prolongado con corticoides; seguido de aquellos con

TB multitratada, según Norma Técnica del Ministerio de Salud (10, 26). Otero et al. encontraron alta tasa de tuberculosis multidrogoresistente primaria en una población general con factores de riesgo no identificables para TB-MDR (16).

Es importante resaltar que para la implementación de una prueba diagnóstica de laboratorio se debe tomar en cuenta la prevalencia de la enfermedad, tiempo de demora y costos, por lo que es bien aceptado que opciones más económicas son en general más sostenibles en el tiempo por los sistemas de salud (27, 28).

La aplicación del método Griess en muestras de esputo ofrece una detección altamente sensible y específica de la tuberculosis multidrogoresistente tanto como los métodos existentes utilizados como estándar de referencia, lo que ha sido demostrado con nuestro estudio ofreciendo excelente validez predictiva y es corroborado por trabajos de investigación extranjeros (29, 30, 31).





## CONCLUSIONES

En nuestro estudio sobre valoración diagnóstica del método Griess en pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogoresistente hemos obtenido las siguientes conclusiones:

1. El método Griess para detectar resistencia a Isoniazida presentó sensibilidad de 98.75%, especificidad de 97.8%, valor predictivo positivo de 97.53% y valor predictivo negativo de 98.88%. Mientras que para detectar resistencia a Rifampicina presentó sensibilidad de 98.59%, especificidad de 100%, valor predictivo positivo de 100% y valor predictivo negativo de 99.01%.
2. La edad y sexo no fueron factores estadísticamente significativos relacionados a la incidencia de multidrogoresistencia.
3. La determinación mediante el método convencional de las proporciones de muestras de esputo en pacientes con sospecha de tuberculosis multidrogoresistente encontró resistencia a Isoniazida del 46.8%; para Rifampicina, del 41.5%. En 91 muestras estudiadas, es decir el 53.2%, el método convencional reportó como sensible a Isoniazida; y en 100 muestras, es decir 58.5%, como sensible a Rifampicina.
4. Antecedente de hospitalización previa, como factor de riesgo para desarrollar TB MDR, fue reportada en 24.6% de pacientes. Personas con otras condiciones no especificadas fue reportada en 22.2%; alguna condición de inmunosupresión fue reportada en 21.6%; y personas con TB multitratada en 17.5% de pacientes.



5. El método Griess permitió proveer una prueba diagnóstica de laboratorio con valor diagnóstico similar al método de proporciones y el tiempo de espera del resultado más corto, comparado al método convencional para la detección temprana de resistencia a drogas de primera línea en pacientes TB MDR.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fuentes-Tafur, LA. Enfoque sociopolítico para el control de la tuberculosis en el Perú. Rev. Perú. Med. Exp. 2009; 26: 370-79.
2. Musa HR, Ambroggi M, Souto A, Angeby KA: Drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis by a nitrate reductase assay applied directly on microscopy-positive sputum samples. J Clin Microbiol 2005; 43(7): 3159-61.
3. Lemus D, Montoro E, Echemendia M, Martin A, Portaels F, Palomino JC. Nitrate reductase assay for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: simple and inexpensive method for low resources laboratories. J Med Microbiol. 2006; 55: 861-63.
4. Chavez Pachas AM, Blank R, Smith Fawzi MC. Identifying early treatment failure on Category I therapy for pulmonary tuberculosis in Lima ciudad, Peru. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8(1): 52-58.
5. Lonroth K, Jaramillo E, Williams BG, Dye C and Raviglione M, Drivers of tuberculosis epidemics: The role of risk factors and social determinants. Social Science and Medicine, 2009; 68: 2240-46.
6. Del Castillo H, Mendoza-Ticona A, Saravia JC. Epidemia de tuberculosis multidrogo resistente y extensivamente resistente a drogas (TB MDR/XDR) en el Perú: Situación y propuestas para su control. Rev. Perú. Med. Exp. 2009; 26(3): 380-86.
7. MINSA, Manual: Método de Nitrato – Reductasa (Griess) para la detección rápida de la susceptibilidad a Isoniazida y Rifampicina – V.01. 2011.

8. Solari L, Gutierrez A, Suarez C, Jave O. Análisis de costos de los métodos rápidos para diagnóstico de tuberculosis multidrogoresistente en diferentes grupos epidemiológicos del Perú. *Rev Perú Med Exp.* 2011; 28(3): 426-31.
9. Suarez C, Solari L, Loyola J. Rendimiento de las pruebas “MODS” y “GRIESS” para el diagnóstico rápido de la resistencia a drogas antituberculosas: Revisión sistémica. IV Congreso Científico Internacional del INS. 2010; 53-54.
10. MINSA, Norma Técnica de Salud para el control de la tuberculosis, Ministerio de Salud [Internet] 2006. [11 de febrero de 2012]. Disponible en <http://www.minsa.gob.pe>.
11. Caviedes L, Lee TS, Gilman R. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by microscopic observation of broth cultures. *J Clin Microbiol.* 2000; 24(21): 1203-08.
12. World Health Organization. Global Tuberculosis Control 2010. Génova: WHO, 2010.
13. Asencios L, Quispe N, Mendoza-Ticona A. Vigilancia Nacional de la Resistencia a Medicamentos antituberculosos, Perú 2005-2006. *Rev Perú Med Exp.* 2009; 26: 278-87.
14. Ugarte-Gil C, Ponce Alvarez M, Moore David AJ. Pruebas de sensibilidad para *Mycobacterium tuberculosis*. *Acta Med Per.* 2008; 25(3).
15. Ong Danny CT, Wing-Cheong Y, Siu Gilman KH. Rapid detection of rifampicin and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by High-Resolution Melting Analysis. *J Clin Microbiol.* 2010; 04: 1047-54.

16. Otero L, Krapp F, T. High Prevalence of primary multidrug resistant Tuberculosis in persons with no known risk factors. Plos ONE [Internet] 2011. [ 20 de febrero de 2013 ]; 6(10). Disponible en: [www.plosone.org/journal.pone.0026276](http://www.plosone.org/journal.pone.0026276).
17. Cox HS, Sibia K, Feuerriegel S, Kalon S, Polonsky J, Khamraev AK. Emergence of extensive drug resistance during treatment for multidrug-resistant tuberculosis. *New Engl J Med*. 2008; 359(22): 2398-400.
18. Montoro E, Lemus D, Echemendia M, Martin A, Portaels F, Palomino JC. Comparative evaluation of the nitrate reduction assay, the MTT test, and the resazurin microtitre assay for drug susceptibility testing of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 55: 500-05.
19. Bwanga F, Hoffner S, Haile M. Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: A meta analysis. Sweden. *BMC Infectious Diseases* [Internet] 2009. [11 febrero 2012]; 9(67). Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/67>.
20. Solis LA, Shin SS, Han LL, Llanos F, Stowell M, Sloutsky A. Validation of a rapid method for detection of *M. tuberculosis* resistance to isoniazid and rifampin in Lima, Perú. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005; 9(7): 760-64.
21. Angeby K, Klintz L, Hoffner S. Rapid and inexpensive drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* with a nitrate reductase Assay. *J Clin Microbiol*. 2002; 40(2): 553-55.
22. MODS, Guía del usuario. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima-Perú: Laboratorio de investigación y desarrollo (LID). 2008.

23. Moore David AJ, Evans Carlton AW, Gilman RH, Caviedes L. Microscopic-Observation Drug-susceptibility assay for the diagnosis of TB. *New Engl J Med.* 2006; 355:1539-50.
24. Asencios L, Yale G, Yagui M, Quispe N, Taylor A, Blaya J. Programmatic implementation of rapid DST for *Mycobacterium tuberculosis* in Peru. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008; 12(7): 743-49.
25. Moore David AJ, Mendoza D, Gilman RH. Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay, a rapid, reliable Diagnostic Test for Multidrug-Resistant Tuberculosis Suitable for use in Resource-Poor Settings. *J Clin Microbiol.* 2004; 10: 4432-37.
26. Ministerio de Salud. Evaluación de la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis año 2006. Lima Perú: MINSA; 2007.
27. Ministerio de Salud. Situación de la tuberculosis en el Perú. Informe de Gestión 2008. Lima: MINSA; 2008.
28. World Health Organization. WHO report global tuberculosis control surveillance, planning, financing. Génova: WHO; 2008.
29. Affolabi D, Odoun M, Sanoussi N, Martin A, Palomino JC, Kestens L, Anagonou S, Portaels F. Rapid and inexpensive detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* with the nitrate reductase assay using liquid medium and direct application to sputum samples. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(10): 3243-45.

30. Ahmet YC, Asuman B, Bora E, Belma D. Drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis with nitrate reductase assay. *Inter J Antimicrobial Agents* 2004; 24(3): 304-06.
31. World Health Organization. The Global Plan to Stop TB 2011-2015. Transforming the Fight. Towards Elimination of Tuberculosis; WHO [Internet] 2006 [21 de junio de 2013]; Disponible en: [http://www.who.int/tb/publications/2010/strategy\\_en.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2010/strategy_en.pdf).
32. Park Walter G, Bishai William R, Chaisson Richard E. Performance of the microscopic observation drug susceptibility assay in drug susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 2002: 4750-52.
33. Moore DA, Evans CA, Gilman RH, Caviedes L, Coronel J, Vivar A, Sanchez E, Pinedo Y, Saravia JC, Salazar C. Microscopic-observation drug-susceptibility assay for the diagnosis of TB. *N Engl Med* 2006, 355(15): 1539-1550.
34. Martin A, Panaiotov S, Portaels F, Hoffner S, Palomino JC, Angeby K. The nitrate reductase assay for the rapid detection of isoniazid and rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2008, 62(1):56-64.
35. Ling DI, Zwerling AA, Pai M. GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis. *Eur Respir J* 2008, 32(5):1165-1174.
36. Morgan M, Kalantri S, Flores L, Pai M. A commercial line probe assay for the rapid detection of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review and metaanalysis. *BMC Infect Dis* 2005, 5:62.

37. Hillemann D, Rusch-Gerdes S, Richter E. Application of the Genotype MTBDR assay directly on sputum specimens. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006, 10(9):1057-1059.
38. Causse M, Ruiz P, Gutierrez JB, Zerolo J, Casal M. Evaluation of new GenoType MTBDRplus for detection of resistance in cultures and direct specimens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008, 12(12):1456-1460.
39. Lacoma A, Garcia-Sierra N, Prat C, Ruiz-Manzano J, Haba L, Roses S, Maldonado J, Dominguez J: GenoType MTBDRplus assay for molecular detection of rifampin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical samples. *J Clin Microbiol* 2008, 46(11):3660-3667.
40. Woods GL. Susceptibility testing for mycobacteria. *Clin Infect Dis* 2000, 31(5):1209-1215.





HNGAI - Lima  
 EsSalud  
 Laboratorio de Micobacterias

**ANEXO 1**

CORRELATIVO	
Nro muestra	
CONFIABILIDAD	

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

<b>APELLIDOS Y NOMBRES</b>			
<b>Nro H.CI.</b>		<b>Edad</b>	
<b>Autogenerado</b>		<b>Sexo</b>	

**ANTECEDENTES**

--

**DIAGNOSTICO**

**Muestra**

--	--

**FACTORES DE RIESGO ( según Norma Tecnica MINSA-2006 ):**

--

**Metodo de  
Proporciones**

**Metodo Griess**

	H	R	Otros	H	R	Otros
7 dias						
14 dias						
21 dias						
28 dias						
35 dias						
42 dias						

Lectura final

**SENSIBLE**

**RESISTENTE**


--

### ANEXO 3

#### **Solicitud de la prueba de sensibilidad a drogas de primera línea en el momento del diagnóstico**

Se debe solicitar la prueba de sensibilidad a drogas de primera línea a toda persona con tuberculosis que tenga alto riesgo de desarrollar TB MDR. A continuación se detallan cuáles son los grupos de alto riesgo:

- Antecedente de ser contacto de paciente con TB MDR confirmada con Prueba de Sensibilidad (PS) ó en tratamiento con drogas de segunda línea.
- Alguna condición de inmunosupresión: Coinfección VIH, Diabetes Mellitus, Tratamiento prolongado con corticoides. Otras condiciones de inmunosupresión.
- Recaída en menos de seis meses de egresar como “curado” de esquema Uno o Dos de tratamiento.
- Persona con tuberculosis multitratada.
- Personal de salud activo o cesante con menos de dos años de cesantía.
- Estudiantes de ciencias de la salud que realizan actividades en áreas clínicas y/o de laboratorio y/o salas de necropsia.
- Población privada de su libertad o ex población privada de su libertad.
- Trabajador de establecimientos penitenciarios.
- Contacto de paciente fallecido por tuberculosis, durante el tratamiento.
- Personas con antecedente de tratamiento previo particular y/o auto administrado.
- Personas con antecedente de abandono de tratamiento antituberculoso.
- Antecedente de hospitalización previa por cualquier motivo en los últimos dos años, por más de 15 días.
- Tratamiento previo con presencia de reacción adversa a Fármacos Antituberculosos (RAFA) que obligó a modificar dosis y/o cambiar y/o suprimir algún medicamento.
- Contacto de persona con tuberculosis que fracasó a tratamiento antituberculosis.
- Cepas de cultivo positivo, de personas con infección VIH o SIDA/TB.

El laboratorista derivará muestras para cultivo y sensibilidad a pedido y bajo responsabilidad del médico tratante o médico consultor, quien deberá indicar en observaciones de la “Solicitud de investigación bacteriológica en tuberculosis” las condiciones del paciente anteriormente mencionadas u otras diferentes.

El coordinador de DISA ó DIRESA conjuntamente con el médico tratante serán los responsables del seguimiento de la Prueba de Sensibilidad.

*(Fuente: Normas Técnicas para el control de Tuberculosis, 2006, MINSA)*

