



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**REVISIÓN SISTEMÁTICA: MÉTODOS
MICROBIOLÓGICOS Y MOLECULARES PARA LA
DETECCIÓN DE TUBERCULOSIS PULMONAR
MULTIDROGORRESISTENTE EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS EN LATINOAMÉRICA.**

**SYSTEMATIC REVIEW: MICROBIOLOGICAL AND
MOLECULAR METHODS FOR THE DETECTION OF
MULTI-DRUG-RESISTANT PULMONARY
TUBERCULOSIS IN PEDIATRIC PATIENTS IN
LATIN AMERICA.**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL
TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL
EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

AUTOR

LIC.TM Pilar Tarazona Tucto

ASESOR

MSc. Lidio Edgar Neyra Valdez

LIMA - PERÚ
2023

ASESOR DE TRABAJO ACADEMICO

MSc Lidio Edgar Neyra Valdez

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0003-2086-7245

DEDICATORIA

A Dios gracias por cada detalle y momento Durante la realización Del proyecto, a mis padres.

Quienes me dieron la vida, educación, apoyo y consejos, a mi hermano Yonson por el apoyo incondicional que siempre me a brindado en todos mis proyectos y demás metas que me he trazado en la vida, a pesar de la distancia, siempre sentí su mano protectora y su voz de aliento y respaldo por ser mi guía y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Peruana Cayetano Heredia por haberme acogido en sus aulas durante mi formación académica de la segunda especialidad, a mi asesor MSc. Edgar Neyra por su tiempo, sus conocimientos que fueron aportes invaluable en la elaboración de este Proyecto de investigación.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento QFB PATRICIA VELAZQUEZ GALICIA (MEXICO) Por regalarme mi Manual de microbiología clínica

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

El proyecto será autofinanciado. Los autores declaramos no tener conflictos de interés.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

El presente Proyecto de Investigación es original y se elaboró siguiendo los lineamientos Respectivos para respetar la ética en investigación, Este proyecto será utilizado para obtener el Título de Segunda Especialidad.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

Revisión sistemática: Métodos microbiológicos y moleculares para la detección de tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en pacientes pediátricos en Latinoamérica.

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	3%
2	repositorio.upch.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	repositorio.udes.edu.co Fuente de Internet	2%
4	Submitted to Pontificia Universidad Católica del Ecuador - PUCE Trabajo del estudiante	1%
5	www.scielo.org.bo Fuente de Internet	1%
6	1library.co Fuente de Internet	1%
7	serviciopediatria.com Fuente de Internet	1%

INDICE

RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	5
III. OBJETIVO E HIPÓTESIS	8
3.1. Objetivo general.....	8
3.2. Objetivos secundarios	8
3.3. Hipótesis.....	8
IV. MATERIAL Y MÉTODO	9
4.1. Diseño del estudio	9
4.2. Población y lugar de estudio	9
4.2.1 Criterios de inclusión	9
4.2.2 Criterios de exclusión.....	9
4.3. Muestra.....	10
4.4. Definición operacional de variables.....	10
4.4.1. Variable dependiente e independiente (co-variable principal).....	10
4.5. Procedimientos y técnicas	14
4.6. Aspectos éticos.....	18
4.7. Plan de análisis.....	18
V. PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO.....	20
VI. CRONOGRAMA.....	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
VII. ANEXOS	25
Anexo 1: Instrumento de recolección de los datos.....	25
Anexo 3: Otros anexos	26

RESUMEN

Introducción: La tuberculosis continúa siendo en la región latinoamericana de alta carga de enfermedad y muerte. El Perú y sus alrededores precisan de métodos diagnósticos más rápidos, confiables y mayor precisión para su identificación y perfil de resistencia a drogas de primera línea. En el contexto de escasez de presupuesto y logística para descentralizar el diagnóstico de TBC MDR en la población más vulnerable como los pacientes pediátricos, es necesario conocer el estado del arte de los métodos diagnósticos factibles, oportunos y de calidad que puedan implementarse. **Objetivos:** Describir el nivel de rendimiento diagnóstico de TB MDR según los métodos microbiológicos y moleculares mediante la sistematización de artículos de investigación en pacientes pediátricos en países de la región Latinoamericana. **Métodos:** Se realizará una revisión sistemática de la literatura en los principales buscadores biomédicos internacionales, donde se incluirán artículos originales donde se expongan los resultados de desempeño analítico y efectividad de métodos diagnósticos microbiológicos y moleculares para tuberculosis MDR en población pediátrica. Se excluirán trabajos mayores de 10 años de publicación y cuya muestra sea estudiada en casos de TBC extrapulmonar. Se utilizará el Protocolo Prisma para revisiones sistemáticas y Meta análisis en los estudios epidemiológicos, además de una lista de verificación sobre las metodologías utilizadas con la finalidad de disminuir el sesgo de selección de artículos.

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculosis pulmonar, tuberculosis resistente a múltiples medicamentos, proteína rpoB.

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis continues to be a high burden of disease and death in the Latin American region. Peru and its surroundings require faster, more reliable diagnostic methods and greater precision for their identification and resistance profile to first-line drugs. In the context of scarce budget and logistics to decentralize the diagnosis of MDR TB in the most vulnerable population such as pediatric patients, it is necessary to know the state of the art of feasible, timely and quality diagnostic methods that can be implemented. **Objectives:** Describe the level of diagnostic performance of MDR TB according to microbiological and molecular methods through the systematization of research articles in pediatric patients in countries of the Latin American region. **Methods:** A systematic review of the literature will be carried out in the main international biomedical search engines, which will include original articles where the results of analytical performance and effectiveness of microbiological and molecular diagnostic methods for MDR tuberculosis in the pediatric population are exposed. Papers older than 10 years of publication and whose sample is studied in cases of extrapulmonary TB will be excluded. The Prisma Protocol will be used for systematic reviews and meta-analysis in epidemiological studies, in addition to a checklist on the methodologies used in order to reduce article selection bias.

Keywords: Mycobacterium tuberculosis, pulmonary tuberculosis, multidrug resistant tuberculosis, rpoB protein.

I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa y altamente contagiosa, la cual es lamentablemente de alta carga endémica en la región latinoamericana, especialmente en nuestro país. Tengan F. y colaboradores (2020) realizaron una revisión sistemática de los casos de tuberculosis multidrogoresistentes (resistencia fenotípica a isoniazida y/o rifampicina). Del número de estudios incluidos más del 50% de estos pertenecen a los países de Brasil, México y Perú; siendo la prevalencia total de 13%, con una alta heterogeneidad debido a las distintas poblaciones (tamaño y características epidemiológicas) de los estudios. Aún así, esta prevalencia ponderada supera ampliamente la hallada en otros estudios de Asia. (1) En el Perú esta pesada carga epidémica se puede expresar por la incidencia y prevalencia de casos, como por ejemplo un estudio longitudinal en pacientes menores de 40 años, donde la incidencia fue de 0.98 por 100 personas-año; es por ello que se prioriza una búsqueda activa de casos y de sus contactos. (2) Esta infección está asociada a los niveles socioeconómicos de bajo ingreso per cápita, hacinamiento en la vivienda y desnutrición calórica. El mecanismo de transmisión es vía directa, por el contacto estrecho de persona infectada a otra mediante la emisión de bacterias mediante las vías respiratorias superiores, es decir, un estornudo o tos recurrente. El bacilo de Koch o *Mycobacterium tuberculosis* posee diversos mecanismos de resistencia endógenos que lo protegen de los efectos adversos del medio ambiente como temperatura y humedad; de igual manera al ser un patógeno intracelular logra evadir satisfactoriamente el mecanismo celular de la inmunidad. Entre otras características se evidencia su resistencia a la decoloración por alcohol ácido en los laboratorios de microbiología, y se precisa de un adecuado

espécimen de esputo, infraestructura para su detección y estudio, y técnicas cada vez más complejas y precisas que puedan detectarlo en el menor tiempo posible y clasificarlo como resistente a drogas de primera y segunda línea en el menor tiempo posible. (2, 3)

Epidemiológicamente es necesario que se estudie la distribución de la carga de enfermedad en sectores definidos, se identifiquen las cepas multidrogoresistentes o extra drogoresistentes, con la finalidad de frenar su diseminación y crear políticas públicas de salud que promuevan estilos de vida saludables ante la TBC pulmonar y extrapulmonar y prevengan su impacto de morbi-mortalidad en la región. (3)

Según las nuevas políticas multisectoriales (PNMS: Perú al 2030), en el sector salud se prioriza la atención por curso de vida o por grupos vulnerables. Para el primero, las gestantes y la niñez son el foco de atención para una intervención preventiva y promocional de enfermedades agudas o infecciosas (4), y en segundo lugar la TBC pulmonar representa una enfermedad que somete a sus portadores a ser un grupo de alto riesgo. Es imperativo el tamizaje de TBC en gestantes, debido a la alta tasa de mortalidad por infección transversal de la madre al neonato; donde la manifestación pulmonar es la más frecuente. (5) Entre sus principales signos clínicos se encuentran: tos recurrente más de 15 días, fiebre, tos más fiebre, y hepatomegalia. (4) (5)

Tradicionalmente los métodos fenotípicos del laboratorio de microbiología han sido:

1. Baciloscopía:

Consiste en la recolección de muestras de esputo (seriada o simple) para su coloración con la técnica de Ziehl Neelsen. Se observan bacilos ácido

alcohol resistentes (BAAR) de color fucsia a rosado. Su interpretación se realiza en base a criterios del INS y OMS con la semicuantificación de BAAR por campos (1+, 2+, 3+). No obstante, el esputo no es la única muestra de donde se puede realizar el diagnóstico preliminar, también se pueden estudiar, sobre todo en población pediátrica: lavado gástrico, orina, heces, LCR, etc. (5) (6) En cuanto a su desempeño para la identificación de pacientes enfermos la proporción se encuentra siendo menor del 50% (7) (6)

2. Cultivo microbiológico:

Se realiza en medios convencionales como Lowestein Jensen u Ogawa. Su principal desventaja es el tiempo de crecimiento de colonias bacterianas, aun así se considera como el método de referencia o “gold standard” para el diagnóstico de laboratorio para-TBC. Su desempeño es cuestionable debido a errores preanalíticos, periodos largos de incubación y experiencia del analista para la lectura de crecimiento bacteriano. Generalmente su sensibilidad oscila entre 50 a 70% en pacientes pediátricos. (8) (6)

Una variación del cultivo microbiológico es la estandarización de cultivo en medio líquido como el Middlebrook 7H9 y su procesamiento automatizado en incubadoras con detección de CO₂ como indicador de positividad. (7) Su rendimiento de positividad es mayor al 90% siendo precavidos con contaminación cruzada del cultivo o identificación de *Mycobacterium* no tuberculoso.

Desde el laboratorio clínico se deben tomar acciones que lleven a un siguiente nivel las técnicas y procedimientos que demandan mayor tiempo de respuesta, procesamiento e infraestructura, y reporte de resistencia a antibióticos; es por ello

que los métodos moleculares son representativos de mayor oportunidad y confianza para la emisión de resultados, teniendo a saber de antemano sus altos costos de instalación e instrucción especializada de sus analistas. (9)

Tipos de métodos moleculares para diagnóstico de TBC y sensibilidad antimicrobiana:

1. Gen Xpert MTB/RIF:

Emplea el método de PCR en tiempo real para la cuantificación de material genético de *M. tuberculosis* mediante su amplificación y lectura de secuencias y detección de secuencias blanco o de interés, además de tamizar la sensibilidad o resistencia a rifampicina. El blanco de la reacción es la región conservada del gen *rpoB* donde se observan la mayor cantidad de mutaciones para resistencia a rifampicina. Entre sus principales ventajas se notan su elevada rapidez para la obtención de resultados, además de alta sensibilidad y especificidad (superiores al 95%) ambas altamente correlacionadas con el cultivo en medio líquido o sólido de muestras biológicas pulmonares o extrapulmonares. (10) (11) (12) (13)

De todas formas la recomendación es iniciar con un esquema diagnóstico desde la baciloscopía y cultivo para mejorar la sensibilidad y especificidad de los métodos moleculares. (6) (14)

2. PCR hemianidada IS6110

La región IS6110 es parte del gen de *Mycobacterium* la cual es una secuencia repetitiva de 10 a 20 veces en el genoma específico. Se producen dos reacciones consecutivas de PCR. Primero se realizan 10-20 ciclos de amplificación con cebadores específicos, sus productos sirven como molde

para una segunda reacción de amplificación más específica que hibridan “anidadas” al primer producto de amplificación. Entre sus principales desventajas están el mayor uso de primers o cebadores, el mayor número de tiempos de ciclos para lograr la amplificación y el riesgo de contaminación.

(15)

Por último es necesario conocer la prevalencia de cepas resistentes a drogas de primera y segunda línea para tomar medidas preventivas ante los nuevos casos, y aplicar correctamente ensayos de susceptibilidad por métodos de proporciones en medio líquido o técnicas rápidas de observación microscópica como el Microscopy Observational Direct Strands (MODS). Los datos de sensibilidad y resistencia varían según el área geográfica y tasa de endemia local; entre las principales drogas que no son eficaces ante *M. tuberculosis* tenemos: rifampicina e isoniacida con mayor frecuencia, y por otro lado etambutol o estreptomycinina con bajos niveles de resistencia. (7) (16)

II. JUSTIFICACIÓN

De la región latinoamericana (LA), el Perú ocupa uno de los primeros puestos en endemidad (14%) por tuberculosis (TB); y más aún debido a la enorme centralización de los servicios básicos de diagnóstico y atención el número de casos (64%, 79% de MDR, y 70% XDR) se concentran las áreas urbanas de Lima y Callao. (OPS, Perú. 2021) La presentación clínica de tuberculosis pulmonar supone un grave problema de salud pública debido a su mayor riesgo de contagio, capacidad del laboratorio para llegar a un diagnóstico certero y empezar un tratamiento oportuno.

La OMS ha promulgado una estrategia “Fin de la tuberculosis”, la cual para el año 2035 se reduzca en un 95% el número de muertes por TB, y a 0% la cantidad de familias afectadas una infección que demanda aproximadamente el 50% de los ingresos mensuales en países subdesarrollados y en vías de desarrollo. (17) Como pilar fundamental de esta declaración se sustenta el hecho de diagnóstico oportuno en cuanto a la detección de la bacteria como su perfil de sensibilidad a drogas de primera línea. Igualmente el desarrollo e implementación de estrategias e intervenciones deben estar relacionadas a un rápido tamizaje de pacientes con TB MDR y su entorno epidemiológico; donde en la región LA se estima una prevalencia de 13%, y siendo levemente superior en pacientes con comorbilidades como VIH, diabetes mellitus y cáncer (3, 5); e incidir en la importancia de registrar y notificar los casos de gestantes infectadas por el bacilo de Koch, y de la tuberculosis congénita o adquirida durante la gestación. (4) (8) (3) (5)

La emergencia del SARS-CoV-2 causante del COVID 19, ha significado un reto para los laboratorios de diagnóstico microbiológico. Debido a la alta generación de aerosoles a partir de muestras biológicas del aparato respiratorio se deben tener precauciones universales para el tratamiento analítico de las muestras, y en lo posible migrar hacia procedimientos moleculares, como el GeneXpert y otras tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos. (10) (12) (14) Sin embargo, debido a su alto costo de implementación, capacitación y capacidad instalada continúa siendo un alcance futuro en países de bajos a medianos ingresos, más aún, en zonas alejadas y de bajo acceso a esta tecnología. Rutinariamente los procesos microbiológicos se representan por la Baciloscopía y coloración de Ziehl Neelsen,

cultivo en medio Lowestein Jensen y/o Ogawa, (7) y hasta las más sofisticadas como análisis de proteínas y otros metabolitos en cromatografía. (9)

Igualmente es necesario tamizar las drogas de primera línea, rifampicina e isoniacida, a la par de la identificación de *Mycobacterium tuberculosis*. El equipo GenXpert y la técnica MODS realizan ambas tareas teniendo un desempeño favorable y asequible en muchos lugares del Perú.

Existe escasa información sobre el riesgo de transmisión vertical o por el primer contacto entre la madre y el niño por la tuberculosis, más aún de la TBC MDR. En primer lugar se debe plantear una vigilancia activa y sistemática en gestantes para detectar TBC antes del tercer trimestre, pudiendo reducir la transmisión al feto. Los pacientes pediátricos, más aún entre edad de infantes entre 0 a 6 años, están expuestos mientras se prolongue su estadía hospitalaria, asociado a cuadros de inmunosupresión. Esta revisión sistemática tiene como objetivo general describir y comparar el nivel de rendimiento diagnóstico de las metodologías microbiológicas y moleculares que pueden implementarse y mejorar en países en vías de desarrollo como en LA. El nivel de rendimiento diagnóstico o desempeño analítico de los exámenes de laboratorio se pueden medir y cuantificar de diversas maneras; principalmente mediante los datos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos que son obtenidos en una población sana y con enfermedad. Estos datos serán recogidos de los artículos de investigación según cada metodología que incluyan, y realizar por último una comparación y análisis descriptivo de estos datos. Finalmente, esta información debe ser clara e importante para aquellas personas que planifican e integran políticas de salud para la reducción de la carga por enfermedad de tuberculosis MDR en nuestra región; empezando por perfilar

diagnósticos con mejor desempeño, clasificar la carga de grupos vulnerables, y tratar con medicamentos oportunamente a los pacientes más jóvenes y se interrumpa el mecanismo de transmisión a partir de entonces.

III. OBJETIVO E HIPÓTESIS

3.1. Objetivo general

Describir el nivel de rendimiento diagnóstico de TB MDR según los métodos microbiológicos y moleculares mediante la sistematización de artículos de investigación en pacientes pediátricos en países de la región Latinoamericana.

3.2. Objetivos secundarios

- Describir el rendimiento diagnóstico de las metodologías microbiológicas (cultivo manual, cultivo automatizado, baciloscopia) de los artículos de investigación de un periodo de 5 años de antigüedad para el diagnóstico de tuberculosis MDR en Latinoamérica.
- Describir el rendimiento diagnóstico de las metodologías moleculares (PCR real time, secuenciamiento) de los artículos de investigación de un periodo de 5 años de antigüedad para el diagnóstico de tuberculosis MDR en Latinoamérica.
- Comparar el nivel de desempeño entre los métodos moleculares y microbiológicos para la detección oportuna y confiable de tuberculosis MDR en población pediátrica.
- Analizar los especímenes biológicos más confiables para una identificación de tuberculosis MDR más rápida en población pediátrica.

3.3. Hipótesis

No aplica.

IV. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. Diseño del estudio

Será un estudio observacional, descriptivo y transversal.

4.2. Población y lugar de estudio

No aplica.

4.2.1 Criterios de inclusión

- Artículos publicados con una antigüedad no mayor a 5 años: 2011 – 2021
- Estudios de tipo experimental y observacional como estudios descriptivos, transversales, cohortes, y casos y controles.
- Artículos cuya población y muestra de estudio contenga pacientes de países de Latinoamérica.
- Artículos cuya muestra de estudio contenga pacientes de edad entre 0 a 17 años.
- El tipo de tuberculosis a incluir será únicamente pulmonar, y cuyo perfil de resistencia resulte MDR.
- Estudios que especifiquen el método o técnica de identificación y resistencia de tuberculosis, además del desempeño de los mismos como sensibilidad, especificidad, valores predictivos.

4.2.2 Criterios de exclusión

- Estudios de tipo descriptivo como serie de casos, reporte de casos y cartas al editor.
- Estudios que incluyan únicamente otros tipos de tuberculosis extrapulmonares.

- Estudios que contengan menos de 30 participantes o pacientes en su evaluación.

4.3. Muestra

Serán incluidos en la revisión sistemática los trabajos de investigación originales que cumplan los criterios de inclusión y exclusión. Se realizará una búsqueda primaria y otra secundaria para la totalidad de estudios, luego se excluirán aquellos artículos que no cumplan los criterios. Finalmente la muestra estará comprendida de los artículos que cumplan los criterios de inclusión y demás.

4.4. Definición operacional de variables

4.4.1. Variable dependiente e independiente (co-variable principal)

Variable dependiente: Tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos

- Definición conceptual: La tuberculosis o TB es causada por una bacteria llamada *Mycobacterium tuberculosis*. La tuberculosis pulmonar es un tipo de infección activa que afecta a los pulmones y que por lo general provoca una tos que dura 3 semanas o más. La tuberculosis MDR es una forma de tuberculosis activa causada por bacterias resistentes a dos o más de los principales medicamentos contra la enfermedad: la isoniazida y la rifampicina. (CDC. 2016)
- Definición operativa: Tuberculosis causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* de presentación pulmonar que afecta a pacientes de edades entre 0 a 17 años. Puede ser diagnosticada en múltiples muestras biológicas como esputo, lavado gástrico, orina o heces.
- Cómo fue medida y/o cómo se recolectó el dato: Esta información será recolectada a partir de los artículos de investigación cuantitativos donde

mencionan los casos de tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos y el método de diagnóstico.

- Tipo de variable y de su escala de medición: variable cualitativa de escala nominal.
- El instrumento del cual proviene: formato de registro y sistematización de estudios durante la revisión.
- Describir la validez y confiabilidad del proceso de medición de la variable, según la literatura o datos disponibles: La validez de los estudios publicados se demuestran por ser artículos publicados en revistas indizadas y revisada por pares. La confiabilidad del proceso se estima según la cantidad de la muestra de los estudios y el desempeño de los métodos de diagnóstico.
- Las re-categorizaciones o transformaciones aplicadas a las variables: no aplica.
- El formato final de la variable, y sus valores posibles: Tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos. Valores posibles: presencia o ausencia de la infección, presencia o ausencia de casos de TB MDR.

Variable independiente: Métodos de diagnóstico microbiológico y pulmonar de TB MDR

- Definición conceptual: El aislamiento del bacilo de Koch mediante la bacteriología es el principal método de diagnóstico, procedimientos como la radiología exámenes clínicos de laboratorio (PCR, ELISA), la reacción de tuberculina, la historia clínica y otros pueden sugerir el diagnóstico sin embargo debe confirmarse con la demostración de la presencia del *Mycobacterium tuberculosis*. (Arévalo et al. 2015)

- Definición operativa: Métodos y técnicas de laboratorio clínico que se basan en fundamentos de microbiología y biología molecular para el diagnóstico *in vitro* de la tuberculosis pulmonar.
- Cómo fue medida y/o cómo se recolectó el dato: Esta información será recolectada a partir de los artículos de investigación cuantitativos donde mencionan los casos de tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos y el método de diagnóstico.
- Tipo de variable y de su escala de medición: variable cualitativa de escala nominal.
- El instrumento del cual proviene: formato de registro y sistematización de estudios durante la revisión.
- Describir la validez y confiabilidad del proceso de medición de la variable, según la literatura o datos disponibles: La validez de los estudios publicados se demuestran por ser artículos publicados en revistas indizadas y revisada por pares. La confiabilidad del proceso se estima según la cantidad de la muestra de los estudios y el desempeño de los métodos de diagnóstico.
- Las re-categorizaciones o transformaciones aplicadas a las variables: no aplica.
- El formato final de la variable, y sus valores posibles: métodos de diagnóstico microbiológico: baciloscopia, cultivo en medio líquido, cultivo en medio sólido, MODS. Métodos de diagnóstico moleculares rápidos recomendados por OMS/OPS: Xpert MTB/RIF, TB LAMP, TB LAM, LiPA para fármacos de primera línea.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo y escala de medición
Tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos	La tuberculosis es causada por una bacteria llamada <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . La tuberculosis pulmonar es un tipo de infección activa que afecta a los pulmones y que por lo general provoca una tos que dura 3 semanas o más. La tuberculosis MDR es una forma de tuberculosis activa causada por bacterias resistentes a dos o más de los principales medicamentos contra la enfermedad: la isoniazida y la rifampicina. (CDC. 2016)	Tuberculosis causada por la bacteria <i>Mycobacterium tuberculosis</i> de presentación pulmonar que afecta a pacientes de edades entre 0 a 17 años. Puede ser diagnosticada en múltiples muestras biológicas como esputo, lavado gástrico, orina o heces.	Presencia de la infección diagnosticada por métodos de laboratorio. Presencia de TB MDR diagnosticada por métodos de laboratorio.	Tipo de variable cualitativa Escala de medición nominal
Métodos de diagnóstico microbiológico y pulmonar de TB MDR	El aislamiento del bacilo de Koch mediante la bacteriología es el principal método de diagnóstico, procedimientos como la radiología exámenes clínicos de laboratorio (PCR, ELISA), la reacción de tuberculina, la historia clínica y otros pueden sugerir el diagnóstico sin embargo debe confirmarse con la demostración de la presencia del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	Métodos y técnicas de laboratorio clínico que se basan en fundamentos de microbiología y biología molecular para el diagnóstico in vitro de la tuberculosis pulmonar.	Métodos de diagnóstico microbiológico: baciloscopia, cultivo en medio líquido, cultivo en medio sólido, MODS. Métodos de diagnóstico moleculares: Xpert MTB/RIF, TB LAMP, TB LAM, LiPA para fármacos de primera línea.	Tipo de variable cualitativa Escala de medición nominal

4.5. Procedimientos y técnicas

Búsqueda bibliográfica:

Se utilizarán bases de datos de revistas indizadas y publicaciones revisadas por pares en los principales motores de búsqueda como Scopus y Pubmed. En estos buscadores se utilizarán algunas palabras claves como: tuberculosis MDR, laboratory diagnosis, molecular diagnosis, pediatric population, etc junto a conectores como AND y OR. Las publicaciones encontradas serán guardadas en el software Zotero y su conexión a EndNote en Word.

Protocolo Prisma:

Será utilizado un protocolo (figura 01) para la selección adecuada de los artículos de investigación acorde a la pregunta de investigación y objetivo general de este trabajo. Primero se eliminarán las publicaciones duplicadas y se aplicarán filtros de búsqueda según los criterios de inclusión y exclusión para la selección de artículos. Luego se utilizará una lista de criterios para la selección final de artículos como se encuentra validado en la declaración Prisma:

1. Título de la publicación: este trabajo será una revisión sistemática descriptiva de artículos de investigación sobre TB MDR en población pediátrica en países de LA.
 - a. Título
2. Resumen estructurado: se elaborará un resumen que contenga introducción, objetivos, métodos, resultados, y conclusiones.
 - a. Resumen
3. Introducción: en el primer capítulo serán incluidos una breve introducción al tema de TB MDR y su situación en LA. Se justificará el estudio en base

al nivel de evidencia de los resultados sobre el nivel de rendimiento de los exámenes microbiológicos y moleculares de laboratorio. El objetivo principal del estudio se enunciará al final del párrafo.

- a. Justificación
 - b. Objetivos
4. Métodos: se utilizará un diagrama de flujo para la selección primaria y final de los artículos de investigación a incluir en el estudio. Estos deben cumplir los criterios de inclusión y el contenido debe mostrar las principales medidas de cada metodología para su comparación y descripción.
- a. Protocolo y registro
 - b. Criterios de elegibilidad
 - c. Fuentes de información
 - d. Búsqueda
 - e. Selección de estudios
 - f. Proceso de extracción de datos
 - g. Lista de datos
 - h. Riesgo de sesgo en los estudios individuales
 - i. Medidas de resumen
 - j. Síntesis de resultados
 - k. Riesgo de sesgo entre los estudios
 - l. Análisis adicionales
5. Resultados: los resultados deben explicar los datos de desempeño *in vitro* de los métodos microbiológicos y moleculares. Estos serán comparados para

resaltar la mayor rapidez y seguridad de los métodos para el diagnóstico de TB MDR.

- a. Selección de estudios
 - b. Características de los estudios
 - c. Riesgo de sesgo en los estudios
 - d. Resultado de los estudios individuales
 - e. Síntesis de los resultados
 - f. Riesgo de sesgo entre los estudios
 - g. Análisis adicionales
6. Discusión
- a. Resumen de la evidencia
 - b. Limitaciones
 - c. Conclusiones
7. Financiamiento
- a. Financiación

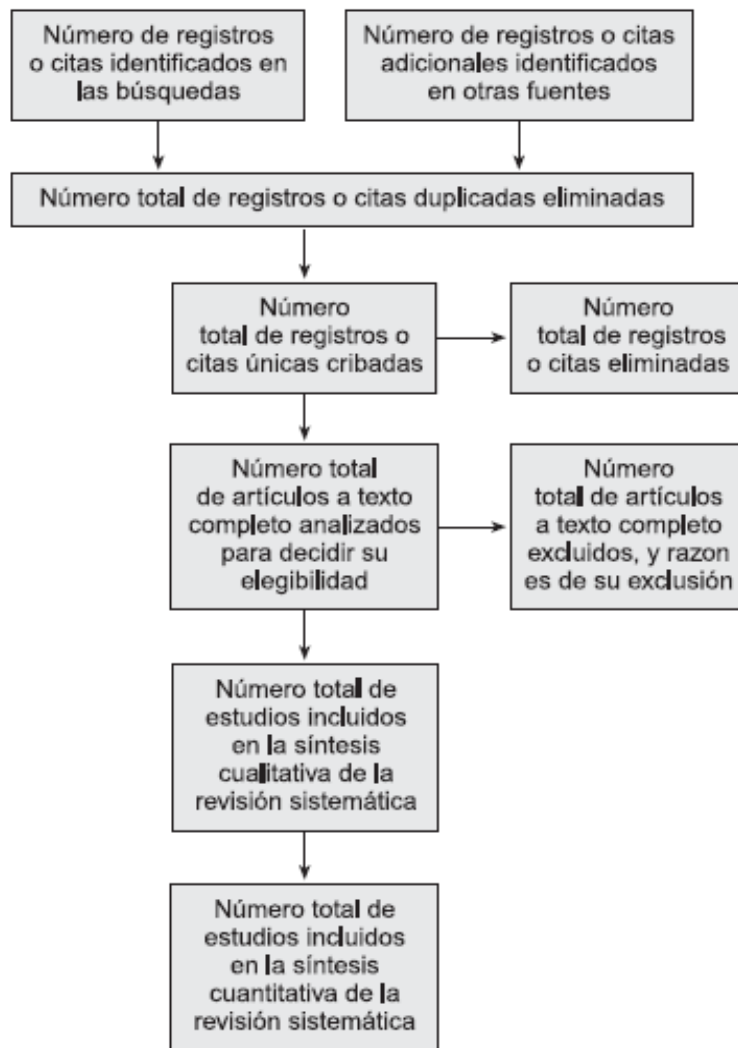


Figura 1. Diagrama de flujo de la información a través de las diferentes fases de una revisión sistemática.

Figura 1. Diagrama de flujo de la información a través de las diferentes fases de una revisión sistemática. Tomado de Urrutia G. y Bonfill X. Declaración Prisma: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y meta análisis.

Revisión sistemática:

Una vez se eliminan las duplicaciones y artículos que sean excluidos, se revisarán los resúmenes y títulos de los artículos para su lectura comprensiva. Al final se

procederá a leer cuidadosamente todos los artículos incluidos para resaltar y mencionar los datos relevantes para el estudio.

Se elaborará un cuadro donde se sistematice las principales medidas de interés como la sensibilidad, especificidad, valores predictivos, tiempo de respuesta. Mediante estos indicadores será posible mencionar que metodología es la más adecuada a emplear según la infección éste presente en la población pediátrica de 0 a 18 años, que tipo de muestra biológica es la más conveniente y cuáles son las más factibles de implementar en un laboratorio según las condiciones económicas de los países de LA.

4.6. Aspectos éticos

Este estudio no cuenta con la participación de seres humanos directamente, tampoco evalúa nombres o historias clínicas. Este protocolo se registrará en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y será evaluado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previamente a su ejecución. Durante la implementación del estudio se respetarán los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se seguirán estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

4.7. Plan de análisis

El método de recolección de datos se basa en la búsqueda bibliográfica exhaustiva de artículos originales que sean incluidos según los criterios de inclusión del presente trabajo. Entre ellos los principales son adecuación del título, objetivos, metodología y resultados que obtuvieron sobre el desempeño analítico o efectividad

de métodos microbiológicos y moleculares para la detección de TBC MDR en una muestra de pacientes pediátricos en la región de Latinoamérica.

Como se describe líneas arriba, se utilizará el protocolo estandarizado internacionalmente PRISMA para estudios epidemiológicos y/o ecológicos, mediante una lista de verificación que demarcará qué artículos son oportunos para la inclusión en la revisión sistemática.

Al ser un estudio de mayor nivel de evidencia científica, la estadística está supeditada a la rigurosidad de análisis que han empleado los artículos incluidos. Vale decir que como criterio de selección de los artículos, también se tiene en cuenta que los resultados descriptivos o analíticos sean estadísticamente significativos en tanto una diferencia de medias por t de Student, o comparación de métodos por prueba de Wilcoxon. Las pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas deberán ser significativas con un $p < 0.05$.

Para la descripción de métodos moleculares y microbiológicos se analizarán variables cualitativas nominales, además de mencionar su frecuencia. El desempeño analítico será evidenciado a través de los datos de sensibilidad, especificidad, valores predictivos, likelihood ratio o curvas ROC. Estos últimos datos cuantitativos deben estar asociados a pruebas estadísticas para métodos diagnósticos señalando el nivel de confianza de las pruebas, intervalos de confianza al 95% y/u otra prueba estadística de correlación.

V. PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO

El estudio de revisión sistemática será autofinanciado. Los materiales y recursos necesarios para el término de este proyecto son útiles de escritorio, computadora con acceso a internet, luz eléctrica y tiempo del autor.

VI. CRONOGRAMA

Actividades	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4	MES 5	MES 6
Redacción del proyecto de investigación y asesoría: Introducción Justificación Metodología Planificación Revisión y aprobación del proyecto	X					
Búsqueda bibliográfica intensiva para la selección de artículos		X				
Aplicación de criterios de inclusión y exclusión		X				
Aplicación del protocolo PRISMA y discriminación de artículos		X				
Revisión sistemática de los estudios incluidos			X			
Redacción descriptiva de los estudios de la revisión			X			
Redacción analítica de los estudios de revisión				X		
Redacción del informe preliminar Resultados Discusión Conclusiones y recomendaciones				X		
Redacción del informe final				X	X	
Aprobación del trabajo de investigación					X	
Sustentación						X
Publicación						X

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tengan, F.M., Figueiredo, G.M., Leite, O.H., Nunes, A.K., Manchiero, C., Dantas, B.P., Magri, M.C., Barone, A.A. and Bernardo, W.M. (2020), Prevalence of multidrug-resistant tuberculosis in Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis. *Trop Med Int Health*, 25: 1065-1078. <https://doi.org/10.1111/tmi.13453>
2. Saunders MJ, Tovar MA, Collier D, et al. Active and passive case-finding in tuberculosis-affected households in Peru: a 10-year prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19(5):519-528. doi:10.1016/S1473-3099(18)30753-9
3. Del Castillo H, Salas Lopez A, Paredes Temoche A, Soto Mosquera A, Valerio Rojas T. Tuberculosis congénita pre-extensivamente resistente a drogas: reporte de caso. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. de 2018; 35(4):695-8.
4. Francis Miranda-Flores A. Características clínicas y epidemiológicas de las gestantes con tuberculosis en el Instituto Nacional Materno Perinatal. *Acta Médica Peruana*. 2015;32(3):140-5.
5. Li C, Liu L, Tao Y. Diagnosis and treatment of congenital tuberculosis: a systematic review of 92 cases. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2019 [citado 19 de abril de 2021]; 14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558871/>

6. Restrepo SM, Villanueva MCM, López MR. Estrategias alternativas para el diagnóstico de tuberculosis: una opción para los pacientes paucibacilares. *Medicina y Laboratorio*. 2017; 23(11-12):513-50.
7. García-De Cruz S, Aldea-Mansilla C, Campos-Bueno Á, Villar-Sordo VD. Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis. 20 años en la provincia de Soria. Rendimiento y oportunidades básicas de mejora. *Rev Esp Quimioter*. 2018; 31(2):131-5.
8. Carreto-Binaghi LE, Juárez E, Guzmán-Beltrán S, Herrera MT, Torres M, Sarabia C, et al. Diagnóstico de tuberculosis infantil en el INER en el período 2015-2017. *Neumol Cir Torax*. 2018; 77(4):9.
9. Hasdeu S, Carrasco G, Giuliano V, Paterniti A, Huerga M, González G, et al. Evaluación de tecnologías sanitarias de equipamiento diagnóstico in vitro de tuberculosis en un sistema de salud público. *Rev Argent Salud Pública*. 2019; 10(40):39-43.
10. Castro CJG, Novoa CLA, Durán JVA, Salazar LEV, Ventura. *Rev. Desempeño Del Gene Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar, laboratorio de vigilancia en salud pública. : 45.*
11. Babafemi EO, Cherian BP, Ouma B, Mogoko G. Paediatric tuberculosis diagnosis using *Mycobacterium tuberculosis* real-time polymerase chain reaction assay: protocol for systematic review and meta-analysis. *Syst Rev* [Internet]. 2019 [citado 19 de abril de 2021];8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6716920/>

12. Amaya G, Contrera M, Arrieta F, Montano A, Pérez C, Amaya G, et al. Rendimiento del GeneXpert en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar en la edad pediátrica. Archivos de Pediatría del Uruguay. 2020; 91:12-23.
13. Medina-Batalla Ana Laura, Kim-Morales Daniel, Abrego-Fernández Juan Ángel, Laniado-Laborín Rafael. Xpert®MTB/RIF para el diagnóstico de tuberculosis en condiciones programáticas en una región de alta endemicidad en México [Internet]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0028-37462019000200122&script=sci_arttext
14. Balboa V, Renzo K. Revisión Sistemática: Efectividad de las Pruebas de Amplificación de Ácidos Nucleicos para el Diagnóstico de la Tuberculosis Pulmonar. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/492>
15. Tengan FM, Figueiredo GM, Leite OH, Nunes AK, Manchiero C, Dantas BP, et al. Prevalence of multidrug-resistant tuberculosis in Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis. Tropical Medicine & International Health. 2020; 25(9):1065-78.
16. Spanish EndT Strategy.pdf [Internet]. [Citado 19 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.who.int/tb/Spanish_EndTBStrategy.pdf?ua=1

17. OPS, Barrera L. manual de algoritmos para el diagnóstico de tuberculosis/Programa “Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas” Lima: ORAS - CONHU; 2018
18. Urrutia G. y Bonfill X. Declaración Prisma: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y meta análisis. Med Clin (Barc). 2010; 135(11): 507 – 511.

VII. ANEXOS

Anexo 1: Instrumento de recolección de los datos

Cuadro resumen de los artículos incluidos en la revisión sistemática:

Artículo	País	Población de estudio	Intervención aplicada: método microbiológico/molecular	Comparadores: grupos control	Resultados principales

Lista de verificación del sesgo de los artículos estudiados

Referencia:
Munn Z, Moola S, Lisy K, Riitano D, Tufanaru C. Methodological guidance for systematic reviews of observational epidemiological studies reporting prevalence and incidence data. <i>Int J Evid Based Healthc.</i> 2015; 13(3):147–153.
1. ¿Fue el marco de la muestra apropiado para abordar la población objetivo?
2. ¿Los participantes del estudio fueron muestreados en forma apropiada?
3. ¿El tamaño de la muestra fue adecuado?
4. ¿Fueron descritos en detalle los participantes y condiciones del estudio?
5. ¿Se realizó el análisis de datos con una cobertura adecuada de la muestra identificada?
6. ¿Fueron utilizados métodos válidos para la identificación de la condición?
7. ¿Fue la condición medida en forma confiable y estandarizada para todos los participantes?
8. ¿Fueron utilizados análisis estadísticos apropiados?
9. ¿La tasa de respuesta fue adecuada, de lo contrario, se gestionó adecuadamente la tasa de respuesta baja?

Respuestas
SÍ
NO
Dudoso

No aplica
Evaluación final
Incluido
Excluido
Buscar mayor información

Anexo 3: Otros anexos

PROTOCOLO PRISMA

Tabla 1

Lista de comprobación de los ítems para incluir en la publicación de una revisión sistemática (con o sin metaanálisis). La declaración PRISMA

Sección/tema	Número	Ítem
<i>Título</i> Título	1	Identificar la publicación como revisión sistemática, metaanálisis o ambos
<i>Resumen</i> Resumen estructurado	2	Facilitar un resumen estructurado que incluya, según corresponda: antecedentes; objetivos; fuente de los datos; criterios de elegibilidad de los estudios, participantes e intervenciones; evaluación de los estudios y métodos de síntesis; resultados; limitaciones; conclusiones e implicaciones de los hallazgos principales; número de registro de la revisión sistemática
<i>Introducción</i> Justificación	3	Describir la justificación de la revisión en el contexto de lo que ya se conoce sobre el tema
Objetivos	4	Plantear de forma explícita las preguntas que se desea contestar en relación con los participantes, las intervenciones, las comparaciones, los resultados y el diseño de los estudios (PICOS)*
<i>Métodos</i> Protocolo y registro	5	Indicar si existe un protocolo de revisión al que se pueda acceder (por ej., dirección web) y, si está disponible, la información sobre el registro, incluyendo su número de registro
Criterios de elegibilidad	6	Especificar las características de los estudios (por ej., PICOS, duración del seguimiento) y de las características (por ej., años abarcados, idiomas o estatus de publicación) utilizadas como criterios de elegibilidad y su justificación
Fuentes de información	7	Describir todas las fuentes de información (por ej., bases de datos y períodos de búsqueda, contacto con los autores para identificar estudios adicionales, etc.) en la búsqueda y la fecha de la última búsqueda realizada
Búsqueda	8	Presentar la estrategia completa de búsqueda electrónica en, al menos, una base de datos, incluyendo los límites utilizados, de tal forma que pueda ser reproducible
Selección de los estudios	9	Especificar el proceso de selección de los estudios (por ej., el cribado y la elegibilidad incluidos en la revisión sistemática y, cuando sea pertinente, incluidos en el metaanálisis)
Proceso de extracción de datos	10	Describir los métodos para la extracción de datos de las publicaciones (por ej., formularios pilotado, por duplicado y de forma independiente) y cualquier proceso para obtener y confirmar datos por parte de los investigadores

Lista de datos	11	Listar y definir todas las variables para las que se buscaron datos (por ej., PICOS, fuente de financiación) y cualquier asunción y simplificación que se hayan hecho
Riesgo de sesgo en los estudios individuales	12	Describir los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo en los estudios individuales (especificar si se realizó al nivel de los estudios o de los resultados) y cómo esta información se ha utilizado en la síntesis de datos
Medidas de resumen	13	Especificar las principales medidas de resumen (por ej., razón de riesgos o diferencia de medias)
Síntesis de resultados	14	Describir los métodos para manejar los datos y combinar resultados de los estudios, cuando esto es posible, incluyendo medidas de consistencia (por ej., ítem 2) para cada metaanálisis
Riesgo de sesgo entre los estudios	15	Especificar cualquier evaluación del riesgo de sesgo que pueda afectar la evidencia acumulativa (por ej., sesgo de publicación o comunicación selectiva)
Análisis adicionales	16	Describir los métodos adicionales de análisis (por ej., análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión), en el caso de que se hiciera, indicar cuáles fueron preespecificados
<i>Resultados</i>		
Selección de estudios	17	Facilitar el número de estudios cribados, evaluados para su elegibilidad e incluidos en la revisión, y detallar las razones para su exclusión en cada etapa, idealmente mediante un diagrama de flujo
Características de los estudios	18	Para cada estudio presentar las características para las que se extrajeron los datos (por ej., tamaño, PICOS y duración del seguimiento) y proporcionar las citas bibliográficas

Tabla 1 (continuación)

Sección/tema	Número	Ítem
Riesgo de sesgo en los estudios	19	Presentar datos sobre el riesgo de sesgo en cada estudio y, si está disponible, cualquier evaluación del sesgo en los resultados (ver ítem 12)
Resultados de los estudios individuales	20	Para cada resultado considerado en cada estudio (beneficios o daños), presentar: a) el dato resumen para cada grupo de intervención y b) la estimación del efecto con su intervalo de confianza, idealmente de forma gráfica mediante un diagrama de bosque (<i>forest plot</i>)
Síntesis de los resultados	21	Presentar los resultados de todos los metaanálisis realizados, incluyendo los intervalos de confianza y las medidas de consistencia
Riesgo de sesgo entre los estudios	22	Presentar los resultados de cualquier evaluación del riesgo de sesgo entre los estudios (ver ítem 15)
Análisis adicionales	23	Facilitar los resultados de cualquier análisis adicional, en el caso de que se hayan realizado (por ej., análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión [ver ítem 16])
<i>Discusión</i>		
Resumen de la evidencia	24	Resumir los hallazgos principales, incluyendo la fortaleza de las evidencias para cada resultado principal; considerar su relevancia para grupos clave (por ej., proveedores de cuidados, usuarios y decisores en salud)
Limitaciones	25	Discutir las limitaciones de los estudios y de los resultados (por ej., riesgo de sesgo) y de la revisión (por ej., obtención incompleta de los estudios identificados o comunicación selectiva)
Conclusiones	26	Proporcionar una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias, así como las implicaciones para la futura investigación
<i>Financiación</i>		
Financiación	27	Describir las fuentes de financiación de la revisión sistemática y otro tipo de apoyos (por ej., aporte de los datos), así como el rol de los financiadores en la revisión sistemática

* PICOS: se trata de un acrónimo formado por: P: participants; I: interventions; C: comparisons; O: outcomes; S: study design.

Referencia: Urrutia G. y Bonfill X. Declaración Prisma: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y meta análisis.