



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Epidemiología y resultados diagnósticos en un grupo de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pleural, sometidos a evaluación con pruebas fenotípicas y moleculares en cuatro hospitales de la Ciudad de Bogotá, Colombia.

Héctor Enrique Sierra Ángulo

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna
Bogotá, Colombia

2018

Epidemiología y resultados diagnósticos en un grupo de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pleural, sometidos a evaluación con pruebas fenotípicas y moleculares en cuatro hospitales de la Ciudad de Bogotá, Colombia.

Héctor Enrique Sierra Ángulo

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:

Especialista en Medicina Interna

Directores:

Doctor Ricardo Sánchez Pedraza

Doctora Martha Isabel Murcia

Línea de Investigación:

Medicina Interna

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna

Bogotá, Colombia

2018

A mis padres,

*Héctor Segundo Sierra y
Ana Rosa Angulo.*

Agradecimientos

A las Instituciones de Salud Participantes: Hospitales Simón Bolívar, Santa Clara, San Ignacio, Clínica de la 100 y al personal por su invaluable ayuda. A la Universidad Nacional de Colombia y al Doctor Nairo Cano por sus comentarios en la elaboración de este escrito.

Resumen

El diagnóstico de Tuberculosis pleural (TBPL), constituye un reto diagnóstico para el clínico dado el bajo rendimiento o poca disponibilidad de pruebas tradicionales. A pesar de esto, pocos estudios describen el comportamiento de pruebas moleculares como alternativa diagnóstica en la práctica clínica.

En este estudio descriptivo de corte transversal, se obtuvieron datos epidemiológicos y muestras de líquido pleural de 80 pacientes adultos con sospecha de tuberculosis pleural sometidos a pruebas fenotípicas (baciloscopia y cultivo), determinación de niveles de Adenosina desaminase (ADA) y a múltiples pruebas moleculares (**PCR- IS6110, GenotypeMTBDRplus 2.0, PCR multiplex IS6110-hsp65 y qPCR- IS6110**) de forma simultánea y descritos en relación con datos epidemiológicos.

TBPL fue diagnosticada en 17 de 80 pacientes, más frecuentemente en hombres (82.4%), menores de 50 años (47.1%), pacientes con VIH (58.8%) y con antecedente de TB (35.3%). Cultivo y baciloscopia fueron positivos en 2 de 17 pacientes, ADA fue positivo en 8 de 17 pacientes y las pruebas moleculares en 10 de 17 pacientes. Adicionalmente 7 pacientes sin diagnóstico de TBPL presentaron resultado positivo para prueba molecular.

Existe utilidad de las pruebas moleculares en el diagnóstico diferencial del derrame pleural, permitiendo confirmación rápida y adecuada toma de decisiones clínicas.

Palabras clave: Tuberculosis pleural, líquido pleural, baciloscopia, cultivo, Genotype MTBDRplus, qPCR-IS6110, PCR-IS6110, PCR multiplex IS6110-hsp65.

Abstract

The diagnosis of pleural tuberculosis (PT) is a diagnostic for the clinician due to the poor performance or limited availability of traditional tests. Despite this, few studies describe the behavior of molecular testing as alternative diagnosis in clinical practice.

In this cross-sectional descriptive study, the epidemiological data and pleural fluid samples were obtained from 80 adult patients with suspicion of pleural tuberculosis who simultaneously underwent phenotypic tests (bacilloscopy and culture), determination of levels of adenosine deaminase (ADA) and multiple molecular tests (IS6110 PCR, GenoType MTBDRplus 2.0, hsp65/IS6110 multiplex PCR and IS6110 qPCR) described in relation to epidemiological data.

Seventeen out of the 80 patients were diagnosed with PT, more frequently in men (82.4%) less than 50 years old (47.1%), patients with HIV (58.8%) and with TB history (35.3%). Culture and bacilloscopy were positive in 2 of the 17 patients, ADA was positive in 8 of the 17 patients and molecular tests in 10 out of 17 patients. In addition, 7 patients without PT diagnosis had a positive molecular test result.

Molecular testing is useful in the differential diagnosis of pleural effusion, allowing rapid confirmation and appropriate clinical decision-making.

Keywords: Pleural tuberculosis, pleural fluid, bacilloscopy, culture, GenoType MTBDRplus, IS6110 qPCR, IS6110 PCR, hsp65/IS6110 multiplex PCR.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de tablas	XII
Lista de abreviaturas	XIII
Introducción	1
1. Métodos	3
1.1 Tipo de estudio	3
1.2 Pacientes.....	3
1.3 Extracción de datos epidemiológicos	4
1.4 Análisis cito-químico y niveles de ADA en líquido pleural	4
1.5 Métodos microbiológicos	4
1.6 Métodos moleculares.....	4
1.7 Análisis estadístico	6
1.8 Conflictos de Interés	6
1.9 Financiación	6
2. Resultados	7
2.1 Características epidemiológicas de pacientes en el estudio	7
2.2 Frecuencia y características de pacientes con TBPL.....	8
2.3 Resultados de estudios diagnósticos en líquido pleural	11
3. Discusión	15
Bibliografía	19

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1: Características epidemiológicas principales de la población en el estudio.	8
Tabla 2-2: Características epidemiológicas del grupo de pacientes con TBP (definida como inicio de TTO empírico.	9
Tabla 2-3: Características fisicoquímicas de los líquidos pleurales de pacientes con TBPL.....	11
Tabla 2-4: Resultados de pruebas diagnósticas de pacientes con tuberculosis pleural en relación con características epidemiológicas de importancia.	12

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>TB</i>	Tuberculosis
<i>TBP</i>	Tuberculosis Pulmonar
<i>TBPL</i>	Tuberculosis Pleural
<i>OMS</i>	Organización Mundial de la Salud
<i>VIH</i>	Virus de Inmunodeficiencia Humana
<i>ADA</i>	Adenosina desminase

Introducción

La tuberculosis (TB) continúa siendo un problema global de salud pública. En el año 2015, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que se presentaron 10.4 millones de casos nuevos, de los cuales el 11% estaba coinfectado con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH); se presentaron 1.5 millones de muertes a causa de la enfermedad, de las cuales 400.000 correspondieron a pacientes coinfectados con VIH (1).

En Colombia en el 2015 se reportaron 12.918 casos de tuberculosis, de los cuales el 81,4% correspondió a TB pulmonar (TBP) y el restante 18.6% a formas extra pulmonares (TBEP). Del total de casos informados 11.647 fueron casos nuevos para una incidencia nacional de 24.2 casos/100.000 habitantes. Entre las formas extra pulmonares la TB pleural (TBPL) fue la más frecuente con el 36.3% del total de los casos de TBEP (2).

Dada la naturaleza paucibacilar de la TBPL, en la mayoría de los pacientes, los métodos microbiológicos (cultivo, baciloscopia del líquido pleural), si bien son confirmatorios presentan baja sensibilidad, lo que limita su utilidad en la práctica clínica (3–5). La muestra considerada como patrón de oro para el diagnóstico de TBPL, por su rendimiento (sensibilidad y especificidad del 100%) es la biopsia pleural tomada por videotoracoscopia (6), sin embargo es un procedimiento invasivo y no frecuentemente disponible en nuestro medio. El diagnóstico, entonces se realiza mediante la combinación de la sospecha clínica y la medición de biomarcadores (ADA e INF-gamma) con adecuado rendimiento diagnóstico (7,8), sin embargo estas pruebas presentan falsos positivos en casos de empiema, neoplasias y enfermedades reumatológicas (9,10).

Como alternativa diagnóstica están las pruebas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos, que han mostrado tener alta especificidad pero sensibilidad reportada limitada y variable (11,12), por lo que su utilidad está dada cuando se realizan junto con otras pruebas (13).

En este estudio se describen datos epidemiológicos y resultados de pruebas diagnósticas de un grupo de pacientes con sospecha de TBP, sometidos a pruebas fenotípicas (baciloscopia y cultivo), determinación de niveles de Adenosina desminase (**ADA**) y pruebas moleculares (**PCR- IS6110, GenotypeMTBDRplus 2.0, PCR multiplex IS6110-hsp65 y qPCR- IS6110**), con el objetivo de caracterizar los pacientes y explorar la posible utilidad clínica de las pruebas.

1. Métodos

1.1 Tipo de estudio

Estudio observacional descriptivo de corte transversal, con componente retrospectivo, que incluyó la medición de las variables de la historia clínica, los resultados de laboratorio y pruebas fenotípicas y moleculares de individuos atendidos en los Hospitales Simón Bolívar, Santa Clara, San Ignacio, El Tunal y la Clínica General de la 100 de la ciudad de Bogotá, en el periodo comprendido entre enero del 2014 hasta enero del 2016.

1.2 Pacientes

La población de estudio estuvo conformada por un total de 80 pacientes mayores de 18 años de edad, con derrame pleural tipo exudado linfocítico y/o sospecha clínica de tuberculosis pleural (TBPL), captados en los 4 centros participantes. El proyecto fue aprobado por los comités de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia y de las instituciones participantes. Los pacientes que aceptaron participar en el estudio firmaron el consentimiento informado.

La definición de caso de TBPL se realizó de acuerdo clasificación previamente descrita por Villegas et al (13) con base en los siguientes criterios:

- Tuberculosis Pleural (TBPL): pacientes con resultado positivo en métodos fenotípicos (baciloscopia/cultivo) o confirmación histopatológica de estar disponible o pacientes cuyo médico tratante consideró tuberculosis como diagnóstico etiológico más probable y decidió iniciar el tratamiento.
- No Tuberculosis pleural: pacientes con pruebas diagnósticas negativas (baciloscopia, cultivo, ADA, y pruebas moleculares), o alguna positiva, pero que, según criterio médico, no era el diagnóstico más probable y no se inició el tratamiento.

- 4 Epidemiología y resultados diagnósticos en un grupo de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pleural, sometidos a evaluación con pruebas fenotípicas y moleculares en cuatro hospitales de la Ciudad de Bogotá, Colombia.
-

1.3 Extracción de datos epidemiológicos

A todos los pacientes se les diligenció una encuesta junto con el consentimiento informado, en donde se registraron los siguientes datos: síntomas clínicos (diaforesis nocturna, tos, pérdida de peso, dolor pleurítico, hemoptisis, cefalea), edad, sexo, etnia, antecedente de TB, cáncer, estatus de VIH, presencia de comorbilidades (diabetes, enfermedades autoinmunes, consumo de sustancias psicoactivas), y tratamiento con corticoides o biológicos antagonistas de TNF-alfa. Adicionalmente se revisaron historias clínicas con el fin de determinar el diagnóstico y la evolución clínica de los pacientes participantes.

1.4 Análisis cito-químico y niveles de ADA en líquido pleural

Las muestras de líquido pleural para análisis de laboratorio se obtuvieron mediante toracentesis diagnóstica a cargo de los centros participantes, los resultados de niveles de ADA, LDH, proteínas, glucosa y recuento celular diferencial fueron facilitados por los laboratorios clínicos de las Instituciones participantes en el estudio, de acuerdo a su disponibilidad. La clasificación del líquido pleural como exudado linfocítico se realizó de acuerdo a criterios previamente descritos (14,15). El punto de corte de niveles de ADA se estableció en 40U/L (7)

1.5 Métodos microbiológicos

Baciloscopia y cultivo: a cada muestra previa centrifugación, se le realizó baciloscopia, y cultivo en los medios sólidos Lowenstein-Jensen (LJ) y Stonebrink modificado por Giraldo (STG), sembrados por duplicado e incubados por doce semanas a 37° C, y revisados semanalmente. También se utilizó el medio líquido MGIT, que fue incubado en el equipo automatizado BACTEC-MGIT, por 4 semanas.

1.6 Métodos moleculares

Para la extracción de ADN se utilizó el kit comercial: PureLink Genomic DNA Mini Kit (INVITROGEN K1820-02), la concentración final de ADN extraído fue de 10 ng/μl, el

ADN se conservó a -20° C. A partir del ADN extraído se realizaron las pruebas moleculares: qPCR-IS6110 (Kit comercial Sacase), Genotype MTBDRplus2.0 (kit comercial Hain) y las pruebas in-house: PCR multiplex hsp65-IS6110, PCR IS6110.

- PCR en tiempo real (qPCR-IS6110): Se efectuó con Kit comercial, Real Time Amplification kit test for detection Mycobacterium tuberculosis complex (Sacase ref. B15-50FRT), de acuerdo a las instrucciones del fabricante (SacaceBiotechnologies) <http://www.sacace.com/>
- PCR multiplex hsp65- IS6110: fue estandarizada en el Laboratorio de Micobacterias, según la descripción hecha por Bandyopadhyay, et al (16), brevemente se utilizaron los iniciadores: 5' -CTA GGT CGG GAC GGT GAG GCC AGG-3' y 5' -CAT TGC GAA GTG ATT CCT CCG GAT-3', para amplificar el gen hsp65 y : 5' -GTG GGC ATG GTC GCA GAG AT-3' y 5' -CTC GAT GCC CTC ACG GTT CA-3' para amplificar la IS6110. El programa de amplificación comprendió un ciclo inicial de desnaturalización (5 min a 85° C), seguido por 40 ciclos cada uno de 1 min a 94 °C, 1 min a 55 °C y 2 min a 72° C, con una extensión final de 10 min a 72 ° C y un periodo de post-incubación final de 30 min a 4 °C. Como control positivo se usó ADN de la cepa control H37Rv y un control negativo (agua destilada ultrapura). Los productos de la PCR se corrieron en un gel de agarosa al 1%, coloreado con Syber Green y/o bromuro de ethidio, y se visualizaron en el equipo de análisis y foto documentación de geles Syngene.
- Prueba comercial GenoType®MTBDRplus2.0, se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante (HAIN) <http://www.hain-lifescience.de/>
- PCR IS6110: se realizó de acuerdo a la estandarización realizada en el Laboratorio de Micobacterias de la Facultad de Medicina de la Universidad nacional de Colombia, empleando los iniciadores INS 1 Y INS 2(17) (5'-CGTGAGGGCATCGAGGTGGC-3') (5'-GCGTAGGCGTCGGTGACAAA-3') respectivamente.

- 6 Epidemiología y resultados diagnósticos en un grupo de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pleural, sometidos a evaluación con pruebas fenotípicas y moleculares en cuatro hospitales de la Ciudad de Bogotá, Colombia.
-

1.7 Análisis estadístico

La medición de las variables se realizó mediante exploración directa con el paciente y revisión de la historia clínica. Esta información junto con los resultados fue almacenada en una base de datos de Microsoft Access 2016® y transportada al programa Stata 13® para el análisis estadístico. Este análisis fue de tipo descriptivo, utilizando medidas de frecuencia y porcentajes.

1.8 Conflictos de Interés

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de interés con los temas que se tratan en este artículo.

1.9 Financiación

Este proyecto fue financiado por la División de investigación Sede Bogotá (DIB). Universidad Nacional de Colombia, Código: 19335.

2.Resultados

2.1 Características epidemiológicas de pacientes en el estudio

Durante el periodo del estudio se ingresaron 80 pacientes en su mayoría hombres (62.5%), pertenecientes al grupo etario de 41 a 63 años (41.25%), las comorbilidades más frecuentes fueron: VIH 14 (17.5%), Diabetes mellitus 13 (16.3%), enfermedades autoinmunes 11(13.8%), cáncer 10 (12.5%) e insuficiencia renal crónica 8 (10%). Los 11 pacientes con enfermedades autoinmunes se encontraban recibiendo terapia con corticoides y ningún paciente estaba recibiendo manejo con antagonistas de TNF-alfa. (Tabla 2-1).

Los síntomas más frecuentes en los pacientes con derrame pleural sospechoso de tuberculosis fueron: tos (68.7%), dolor pleurítico (61.2%) y pérdida de peso no explicada (53.7%). Síntomas típicos asociados a TB como la diaforesis nocturna y la hemoptisis, solo estuvieron presentes en el 31.3% y 10.0% de los pacientes respectivamente (Tabla 2-1).

El registro de datos retrospectivo mediante la revisión de historias clínicas mostro que, 13 de los 80 pacientes en el estudio fallecieron (16.2%). Los casos ocurrieron más frecuentemente dentro del grupo de los pacientes con TBP e infección por VIH con nueve pacientes, los decesos fueron atribuidos a complicaciones infecciosas de la enfermedad, los tres casos restantes se consideraron secundarios a presencia y progresión de enfermedad neoplásica.

- 8 Epidemiología y resultados diagnósticos en un grupo de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pleural, sometidos a evaluación con pruebas fenotípicas y moleculares en cuatro hospitales de la Ciudad de Bogotá, Colombia.

Tabla 2-1: Características epidemiológicas principales de la población en el estudio.

	Parámetro	Total n:80
Edad	18-40 años	20 (25.0%)
	41-63 años	33 (41.3%)
	68-64 años	27 (33.7%)
Sexo	Mujer	30 (37.5%)
	Hombre	50 (62.5%)
Centro de atención hospitalaria	Hospital Simón Bolívar	40 (50.0%)
	Hospital Santa Clara	26 (32.5%)
	Hospital Universitario San Ignacio	6 (7.5%)
	Hospital El Tunal	6 (3.8%)
	Clínica General de la 100	2 (2.5%)
Síntomas más frecuentes	Tos	55 (68.7%)
	Dolor pleurítico	49 (61.2%)
	Pérdida de peso	43 (53.7%)
	Fiebre	25 (31.3%)
	Diaforesis nocturna	25 (31.3%)
	Dolor de cabeza	21 (26.2%)
	Hemoptisis	8 (10.0%)
Comorbilidades	Diabetes	13 (16.3%)
	Cáncer	10 (12.5%)
	Insuficiencia renal	8 (10.0%)
	Artritis	11 (13.8%)
	VIH	14 (17.5%)

2.2 Frecuencia y características de pacientes con TBPL

De los 80 casos registrados con sospecha de derrame pleural de origen tuberculoso, 17 (21.3%) fueron clasificados como Tuberculosis pleural y recibieron tratamiento por parte de los médicos tratantes, el diagnóstico fue descartado en 63 (78.7%). Entre los 17 pacientes con diagnóstico de TBPL, la mayoría se presentaron en pacientes menores de 64 años, con mayor frecuencia en hombres con 14 de 17 pacientes (82.4%). El

diagnóstico de VIH (58.8%) y el antecedente de TB (35.3%) fueron las condiciones previas más frecuentes (Tabla 2-2).

Tabla 2-2: Características epidemiológicas del grupo de pacientes con TBP (definida como inicio de TTO empírico).

PTE	Edad	Género	Antecedente TB	VIH	Ingreso	Egreso
3	64	F	NO	Neg	LES Derrame pleural izq.	TBP en tto
8	31	M	NO	Pos	Derrame pleural izq. Neumonía	TBP en tto
15	58	M	SI	Pos	Neumonía TB pulmonar	Sepsis pulmonar, falleció
16	31	M	NO	Pos	Cryptosporidiosis Neumonía	Sarcoma de Kaposi, falleció
20	50	M	SI	Pos	Diarrea, derrame pleural	TBP peritoneal en tto
22	53	M	SI	Neg	Derrame Pleural izq. Neumonía	TBP en tto
24	45	M	SI	Pos	Fiebre Derrame pleural izq.	Neoplasia pulmonar, falleció
25	40	M	SI	Pos	Fiebre Derrame pleural izq.	TB meníngea y TBP en tto, falleció
44	55	M	SI	Pos	Derrame Pleural izq.	TBP en tto
51	20	F	NO	Neg	Fiebre Derrame pleural der.	TBP en tto

10 Epidemiología y resultados diagnósticos en un grupo de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pleural, sometidos a evaluación con pruebas fenotípicas y moleculares en cuatro hospitales de la Ciudad de Bogotá, Colombia.

Tabla 2-2: (Continuación)

PTE	Edad	Género	Antecedente TB	VIH	Ingreso	Egreso
51	20	F	NO	Neg	Fiebre Derrame pleural der.	TBP en tto
52	27	M	NO	Pos	Neumonía Derrame pleural der.	Tuberculosis pulmonar, TBP, falleció
53	60	M	NO	Neg	Masa pulmonar Derrame Pleural derecho.	TBP, CA pulmonar, falleció
54	29	M	NO	Neg	Derrame pleural derecho.	TBP en tto
57	65	M	NO	Neg	Derrame pleural tabicado	Sepsis pulmonar, TBP en tto, falleció
58	42	M	NO	Pos	Diarrea Derrame pleural izq.	Meningitis por cryptococo, TBP en tto, falleció
72	75	F	SI	Neg	Masa pulmonar Derrame pleural der.	Mesotelioma pulmonar, falleció
76	33	M	NO	Pos	Derrame pleural bilateral Diarrea	TBP en tto Sarcoma de Kaposi, falleció

2.3 Resultados de estudios diagnósticos en líquido pleural

El estudio de líquido pleural, mostró que todos excepto, tres de los 17 pacientes con diagnóstico clínico de TBPL, en el estudio tuvieron muestras compatibles con exudado linfocítico, no fue posible obtener dato de recuento total leucocitario del líquido pleural en cinco pacientes de los 17 pacientes, pero fue caracterizado como linfocítico en el registro de historia clínica. Los niveles de ADA fueron positivos en ocho pacientes (47.1%), negativos en seis y en tres no se tomó o no hubo registro del examen (Tabla 2-3).

Tabla 2-3: Características fisicoquímicas de los líquidos pleurales de pacientes con TBPL.

Líquido	GB	%L	%N	LDH	Proteínas 1-3 gr/dl Relación plasma/suero	ADA
TBP-3	801	88	7	390	4.4	35
TBP-8	193	85	15	245	3.74	9
TBP-15	ND*	89	9	271	1.8	19
TBP-16	2432	0	100	2700	3.6	61
TBP-20	15	100	0	3111	7.3	ND*
TBP-22	2900	54	46	345	4.3	61
TBP-24	640	10	90	365	4.1	14
TBP-25	ND*	ND*	ND*	1156	3.03	ND*
TBP-44	ND*	30	17	248	4.6	16
TBP-51	1936	90	10	651	5.4	86
TBP-52	2286	2	98	8563	3.7	97
TBP-53	9	100	0	1144	6.65	68
TBP-54	ND*	96	1	2637	5.2	ND*
TBP-57	5	100	0	52	2.0	10
TBP-58	921	96	4	3225	3.3	288
TBP-72	284	91	9	248	6.2	54
TBP-76	ND*	ND*	ND*	1042	5.2	65

Gris: resultados compatibles con exudado neutrofílico; **Azul:** valores positivos de ADA.

Tabla 2-4: (Continuación)

51	L	86	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg
52	N	97	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
53	L	68	Pos	Neg	Pos	Neg	Neg	Neg	Pos	Neg
54	L	ND*	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
57	L	10	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
58	L	288	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
72	L	54	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Neg
76	L	65	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos

Pos: positivo; **Neg:** Negativo; **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa **qPCR:** PCR en tiempo real; **GENO:** GenotypeMTBDRPLUS2.0; **PCR-MX:** PCR multiplex (IS6110-hsp65), **BK:** baciloscopia ;**VIH:** Virus de inmunodeficiencia humana **§** Cultivo en medio sólido y líquido **+linfocítico (L) 0** neutrofilico (N), * Líquido pleural coagulado/no se realizó examen. **Resultado gris:** pacientes con ADA negativo y prueba molecular positiva.

Entre los 63 pacientes considerados como no TBP se presentaron siete pacientes resultados positivos para qPCR-IS6110 y nueve resultados positivos para ADA. las pruebas se presentaron positivas de forma simultánea en cuatro pacientes y dos pacientes tenían resultado positivo para prueba molecular y negativo para ADA.

3. Discusión

En el presente estudio se describen las características epidemiológicas, clínicas y en mayor detalle, los resultados de las pruebas diagnósticas realizadas a las muestras de líquido pleural, en una población de pacientes con sospecha de TBPL en la ciudad de Bogotá. El análisis de este grupo de pacientes muestra que la etiología tuberculosa de derrame pleural fue del 21%, este valor que es relativamente alto comparado con reportes de EEUU del 3.9% (18) pero nos ubica prácticamente, al mismo nivel de lugares como España donde TBPL constituye del 9 al 19% de los derrames pleurales (5,19) e inferior a la frecuencia reportada en regiones de mayor prevalencia como África e India con 30% y hasta 80% respectivamente (3,4,14). En esta serie, sin embargo, este valor puede estar sobreestimado dado que se hizo búsqueda activa de los pacientes, al seleccionar no solo aquellos con líquido pleural compatible con exudado linfocítico, sino también a aquellos con sospecha clínica de TB.

La sintomatología, las características clínicas y las comorbilidades descritas en este estudio no son diferentes de los valores reportados en anteriores series de pacientes (5,20) y se compone de una población que consideramos es representativa de la ocupación normal de un servicio de medicina interna, sugiriendo que la forma de presentación clínica, los grupos en riesgo y la demografía no son diferentes con respecto a nuestro medio.

El análisis cito-químico de líquido pleural en esta serie, mostró dos pacientes con líquidos compatibles con exudado neutrófilico, si bien esta presentación de TBPL no es típica, ocurre hasta en el 9.5% de los pacientes y típicamente cursa con mayor carga bacilar (21–23). Consecuentemente con lo anterior, nuestros pacientes arrojaron múltiples resultados positivos en las pruebas diagnósticas realizadas incluyendo cultivo.

En concordancia con lo reportado en la literatura previa, observamos poca utilidad de las pruebas fenotípicas microbiológicas, para establecer diagnóstico por fuera del grupo de los pacientes con VIH+ (14,24). Adicionalmente, a pesar de reportes previos, que sugerían mejor desempeño diagnóstico, no hubo beneficio aparente del uso de cultivo en medio líquido versus cultivo sólido (20,25).

Nuestros datos muestran una importante heterogeneidad entre las diferentes pruebas moleculares a la hora de detectar pacientes con TBP, si bien cierto grado era esperable de acuerdo a resultados de un metanálisis previo (11), el número de pacientes detectados por las diferentes técnicas moleculares vario de forma significativa. Así, PCR multiplex (IS6110-hsp65) presento una capacidad de detección muy por debajo de lo esperado para los valores de sensibilidad reportados previamente por otros autores (16,26). La PCR convencional(PCR IS6110) si bien no detecto gran número de pacientes en este estudio, se encuentra dentro de los valores esperados al compararse con los resultados del subgrupo de pacientes con TBP probable del estudio de Villegas et al (13).

En contraste, el número de resultados positivos obtenidos mediante la técnica de PCR en tiempo real (qPCR-IS6110), sugiere una mejor capacidad de esta prueba para detectar casos positivos, similar a lo reportado por Rosso et al en su estudio en Brasil (27). A nuestro conocimiento este es el primer estudio en realizar y registrar resultados en líquido pleural, para la prueba comercial Genotype MTBDRplus2.0 por lo que no hay forma de obtener datos comparativos. Si las diferencias observadas entre las diferentes pruebas moleculares y en relación con los reportes en la literatura, obedecen a factores intrínsecos a la prueba (umbral de detección de ADN o eficiencia de iniciadores) o a factores externos (degradación, volumen insuficiente, inadecuada preparación de la muestra) es algo que requiere más estudios (28).

Interesantemente, los resultados de 3 de los 17 pacientes (23.4%) clasificados como TBP y 2 pacientes en el otro grupo, mostraron niveles de ADA por debajo del punto de corte de 40U/L con prueba molecular positiva. Si bien existe la posibilidad de degradación de la muestra origen del resultado negativo, Datos similares han sido reportados por los autores de dos estudios recientes que plantean, como hipótesis, una disminución en los

niveles de actividad enzimática de ADA en líquido pleural en relación a variables como, edad avanzada y estatus de fumador activo de los pacientes (29,30). Algo que consideramos no tendría ningún efecto probable sobre las pruebas moleculares dado que estas están basadas en la detección de DNA bacteriano y no en la medición indirecta de actividad enzimática.

Finalmente, y como mostramos en los resultados, el diagnóstico de tuberculosis pleural, fue descartado en un número no despreciable de pacientes con resultados de laboratorio altamente sugestivos del mismo. Consideramos que estos resultados evidencian una realidad de la práctica clínica de muchos de nuestros centros hospitalarios, donde ante la no disponibilidad inmediata de estos resultados, solo la clínica del paciente y el criterio médico, dirigen la toma de decisiones, aumentando así la probabilidad de incurrir en errores diagnósticos.

Este estudio tiene varias limitaciones, a saber, la no posibilidad de comparar los resultados de líquido pleural con resultados histopatológicos que hubiera permitido refinar la clasificación diagnóstica, la ausencia de datos debido a sub-registro en las historias clínicas en los centros participantes. Adicionalmente, el número limitado de la muestra no permite efectuar una aproximación precisa para la medición de las características operativas de las pruebas diagnósticas utilizadas.

En conclusión, este estudio proporciona datos sobre las características clínicas y las principales pruebas diagnósticas disponibles en la actualidad para el abordaje del paciente con derrame pleural y sospecha de TBP. Aporta además, información valiosa al debate acerca de la inclusión de pruebas moleculares de forma rutinaria en la práctica clínica, brindando al clínico herramientas adicionales para la toma de decisiones clínicas.

Bibliografía

1. OMS global tuberculosis report. 2015;8–35.
2. Ospina M, Mancel E, Pacheco O, Quijada H. Boletín Epidemiológico Semanal Sivigila. Número 52, Bogotá. 2015;2015:1–72.
3. Ferreira L, San Jose E, Valdes L. Derrame pleural tuberculoso. Arch Bronconeumol. 2014;50(10):435–43.
4. Udawadia ZF, Sen T. Pleural tuberculosis: an update. Curr Opin Pulm Med. 2010 Jul;16(4):399–406.
5. Valdés L, Alvarez D, San José E, Penela P, Valle JM, García-Pazos JM, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. Arch Intern Med. 1998 Oct 12;158(18):2017–21.
6. Diacon AH, Van de Wal BW, Wyser C, Smedema JP, Bezuidenhout J, Bolliger CT, et al. Diagnostic tools in tuberculous pleurisy: A direct comparative study. Eur Respir J. 2003;22(4):589–91.
7. Liang QL, Shi HZ, Wang K, Qin SM, Qin XJ. Diagnostic accuracy of adenosine deaminase in tuberculous pleurisy: A meta-analysis. Respir Med. 2008;102(5):744–54.
8. Jiang J, Shi H-Z, Liang Q-L, Qin S-M, Qin X-J. Diagnostic value of interferon-gamma in tuberculous pleurisy: a metaanalysis. Chest. 2007;131(4):1133–41.
9. Jiménez Castro D, Díaz Nuevo G, Pérez-Rodríguez E, Light RW. Diagnostic value of adenosine deaminase in nontuberculous lymphocytic pleural effusions. Eur Respir J. 2003;21(2):220–4.
10. Porcel JM, Esquerda A, Bielsa S. Diagnostic performance of adenosine deaminase activity in pleural fluid: A single-center experience with over 2100 consecutive patients. Eur J Intern Med. 2010;21(5):419–23.
11. Pai M, Flores LL, Hubbard A, Riley LW, Colford Jr JM. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculous pleuritis: A systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2004;4.

12. Trajman A, da Silva Santos Kleiz de Oliveira EF, Bastos ML, Belo Neto E, Silva EM, da Silva Lourenco MC, et al. Accuracy of polimerase chain reaction for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Respir Med.* 2014/05/08. 2014;
13. Villegas M V, Labrada L a, Saravia NG. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase, and interferon-gamma in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest.* 2000 Nov;118(5):1355–64.
14. Light RW. Update on tuberculous pleural effusion. *Respirology.* 2010 Apr;15(3):451–8.
15. Light RW. Pleural effusions. *Med Clin North Am.* 2011;95(6):1055–70.
16. Bandyopadhyay D, Gupta S, Banerjee S, Ray D, Bhattacharya S, Bhattacharya B. Adenosine deaminase estimation and multiplex polymerase chain reaction in diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008/09/25. 2008;12(10):1203–8.
17. Hermans PW, Schuitema AR, Van Soolingen D, Verstyneen CP, Bik EM, Thole JE, et al. Specific detection of Mycobacterium tuberculosis complex strains by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1990/06/01. 1990;28(6):1204–13.
18. Baumann MH, Nolan R, Petrini M, Lee YCG, Light RW, Schneider E. Pleural tuberculosis in the United States: Incidence and drug resistance. *Chest.* 2007;131(4):1125–32.
19. Valdés L, Ferreiro L, Cruz-Ferro E, González-Barcala FJ, Gude F, Ursúa MI, et al. Recent epidemiological trends in tuberculous pleural effusion in Galicia, Spain. *Eur J Intern Med.* 2012;23(8):727–32.
20. Ruan S-Y, Chuang Y-C, Wang J-Y, Lin J-W, Chien J-Y, Huang C-T, et al. Revisiting tuberculous pleurisy: pleural fluid characteristics and diagnostic yield of mycobacterial culture in an endemic area. *Thorax.* 2012;67(9):822–7.
21. Choi H, Chon HR, Kim K, Kim S, Oh K-J, Jeong SH, et al. Clinical and Laboratory Differences between Lymphocyte- and Neutrophil-Predominant Pleural Tuberculosis. *PLoS One.* 2016;11(10):e0165428.
22. Bielsa S, Palma R, Pardina M, Esquerda A, Light RW, Porcel JM. Comparison of polymorphonuclear- And lymphocyte-rich tuberculous pleural effusions. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17(1):85–9.

23. Ferrer J. Tuberculous pleural effusion and tuberculous empyema. *Semin Respir Crit Care Med.* 2001;22(6):637–46.
24. Luzze H, Elliott A, Joloba M, Odida M, Oweka-Onyee J, Al NJ et. Evaluation of suspected tuberculous pleurisy: Clinical and diagnostic findings in HIV-1 positive and HIV negative adults in Uganda. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2001;5(August 2000):746–53.
25. Maartens G, Bateman ED. Tuberculous pleural effusions: increased culture yield with bedside inoculation of pleural fluid and poor diagnostic value of adenosine deaminase. *Thorax.* 1991;46(November 1990):96–9.
26. Mehta PK, Raj A, Singh N, Khuller GK. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis by PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;66(1):20–36.
27. Rosso F, Michelon CT, Sperhacker RD, Verza M, Olival L, Conde MB, et al. Evaluation of real-time PCR of patient pleural effusion for diagnosis of tuberculosis. *BMC Res Notes.* 2011/08/09. 2011;4:279.
28. Sankar S, Ramamurthy M, Nandagopal B, Sridharan G. An appraisal of PCR-based technology in the detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Diagn Ther.* 2011/01/22. 2011;15(1):1–11.
29. Lee SJ, Kim HS, Lee SH, Lee TW, Lee HR, Cho YJ, et al. Factors Influencing Pleural Adenosine Deaminase Level in Patients With Tuberculous Pleurisy. *Am J Med Sci.* 2014;348(5):362–5.
30. Abrao FC, Abreu IRLB De, Miyaki DH, Busico MAM, Younes RN, Ferreira C. Role of adenosine deaminase and the influence of age on the diagnosis of pleural tuberculosis. 2014;18(April):1363–9.