

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE MEDICINA HUMANA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

Validez diagnóstica de nanopartículas de hierro comparada con el método molecular GeneXpert para diagnóstico de tuberculosis pulmonar

Área de investigación:

Enfermedades infecciosas y tropicales

Autora:

Castañeda Paredes, Valeria Sofía

Jurado evaluador:

Presidente: Fernández Gómez, Victor Javier

Secretario: Angelats Silva, Luis Manuel

Vocal: Arroyo Sánchez, Gisel Eliana

Asesor:

Castañeda Sabogal, Alex Napoleón

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5182-2640>

TRUJILLO – PERÚ

2024

Fecha de Sustentación: 29/05/2024

Validez diagnóstica de nanopartículas de hierro comparada con el método molecular GeneXpert para diagnóstico de tuberculosis pulmonar

INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %	1 %	1 %	1 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	transparencia.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1 %
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1 %

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%



DR. ALEJANDRA POLEÓN CASTAÑEDA SABOGAL
C.M.B. 21221 E.N.E. 13725
MÉDICO INFECTOLOGO
D.T.O. DE MEDICINA

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, **Alex Napoleón Castañeda Sabogal**, docente del Programa de Estudio de Pregrado de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, asesor de la tesis de investigación titulada "**Validez diagnóstica de nanopartículas de hierro comparada con el método molecular GeneXpert para diagnóstico de tuberculosis pulmonar**", de la autora **Valeria Sofía Castañeda Paredes** dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud del 1 %. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el día 10 de julio del 2024.
- He revisado con detalle dicho reporte de la tesis titulada "Validez diagnóstica de nanopartículas de hierro comparada con el método molecular GeneXpert para diagnóstico de tuberculosis pulmonar" y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las normas establecidas por la Universidad.

Ciudad y fecha: Trujillo, 10 de julio del 2024



DR. ALEX NAPOLEON CASTAÑEDA SABOGAL
C.M.P. 21221 R.N.E. 13725
MEDICO INFECTOLOGO
D.T.O. DE MEDICINA


Castañeda Sabogal, Alex Napoleón

DNI: 17939232

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5182-2640>



Castañeda Paredes, Valeria Sofía

DNI: 70550574

DEDICATORIA

A mi hermana que, desde el otro lado del arcoíris, me cuida los pasos para ser una gran médico como ella lo hubiera sido alguna vez, por ser quien me ilumina en sueños cuando más la necesito, y me da claridad en cada decisión que tomo desde hace 13 años. A ti, Calita. Estoy cumpliendo nuestro sueño.

A mi hermana Viviana, que a pesar de no entender nada del mundo de la medicina, me ha escuchado hablar sin parar sobre este proyecto con tanto entusiasmo como con miedo y ha sabido darme serenidad para seguir.

A mis padres, que desde niña me enseñaron el amor por la medicina, cuando hacíamos sobremesa y compartían sus experiencias diarias sobre los pacientes. Desde aquel momento supe que quería ser como ustedes. Mami, papi, ya casi somos colegas.

A mi mamá Nilda, quien siempre me dice que soy “su doctorita”. El tiempo quizás borre la memoria, pero el amor es el que perdura.

A Esther, quien ha sido y es como una segunda madre para mí, que ha confiado en cada paso que doy y me ha cuidado desde que tengo memoria. Este logro también es para ti.

A aquella persona especial que conocí durante el internado y me enseñó que *la medicina es más que ciencia, sino un arte junto a la complejidad del cuerpo humano*; me motivó cada día a seguir dando todo de mí con charlas nocturnas, discusión de casos clínicos de nuestros pacientitos que me permitió reafirmar que la medicina es mi pasión. Este también va para ti. Tú sabes quién eres.

AGRADECIMIENTOS

Gracias, mami, por andar detrás de mí apoyándome, aconsejándome, y regañándome; por ser mi ejemplo a seguir y enseñarme qué clase de médico quiero y debo ser en la vida y que, “*si no sé algo, entonces lo leo; y si no entiendo, pregunto*”. Gracias por tu paciencia y amor, por ser mi soporte emocional cuando más lo necesitaba incluso si tú lo necesitabas más.

Gracias, papi porque, a pesar de todo, me cuidas y velas por mí; por ser mi asesor y batallar conmigo en todo este proceso para la tesis; por inculcarme el amor a la infectología y ser mi maestro. Ya estamos en la recta final.

Gracias Vivi, porque me aguantas todas las tonterías que hago y, aunque cada año me tienes menos paciencia y te cuestionas cómo compartimos genes, siempre estás defendiéndome y enseñándome que, de todo error, viene un aprendizaje. Gracias por permitirme ser tu hermana menor.

Gracias, Copito y Canela, mis perritos, que se desvelaban conmigo estudiando, acompañándome, preparando exposiciones y estando en mis clases virtuales. Son los mejores compañeros de clase. Sé que Copito ladra feliz desde arriba.

Gracias, Esther, por siempre preocuparte por si comía o había dormido cuando me veías cansada por el estudio y me dabas aliento para continuar esforzándome y alcanzar cada objetivo, gracias por siempre cuidar de mí.

Gracias, mamá Nilda, porque desde chiquita me has enseñado la resiliencia, a no quedarme callada y siempre decir lo que pienso, por ese carácter terco que compartimos y que nos ha impulsado a conseguir nuestras metas.

Gracias, R, por pasar miles de horas hablando conmigo de medicina, aprendiendo juntos y cuidándome en el internado, por la paciencia infinita y las discusiones sin sentido. Nunca había sentido que hablar de medicina fuera tan divertido como lo es contigo, por las noches de makis y las tardes de playa. Te llevo conmigo siempre.

RESUMEN

Objetivo: Determinar si la prueba de GMNP tiene similar validez diagnóstica que el método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad, durante el periodo enero – diciembre de 2022 – 2023.

Materiales y método: Se desarrolló un estudio observacional, transversal, prospectivo, analítico, de tipo prueba diagnóstica en el que a través de muestreo aleatorio simple, se seleccionaron pacientes con sospecha de TBC pulmonar que acudieron al PCT de la Red Asistencial La Libertad y brindaron muestras de esputos para GeneXpert como GMNP y determinar la validez diagnóstica a través de la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, tomando como Gold Standard al cultivo. La validez diagnóstica de ambas pruebas fueron comparadas con la prueba Chi cuadrado, considerando un valor significativo para $p < 0.05$.

Resultados: Se recolectó 92 muestras de esputo, estas se sometieron a GeneXpert y a la prueba de GMNP, y se compararon con el cultivo. Se obtuvo: positivos 38% con GeneXpert vs. 39.1% con GMNP; negativos 62% con GeneXpert vs. 60.9% con GMNP. La sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, y precisión diagnóstica con el GeneXpert fueron del 100%. Con GMNP, la sensibilidad fue 100%, especificidad 99.2%; valores predictivos positivo y negativo de 98.4% y 100% respectivamente, con precisión diagnóstica del 99.4%. Al comparar ambas pruebas, no se observó diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros evaluados ($p > 0.05$).

Conclusión: Los parámetros diagnósticos de ambas pruebas son similares, por lo que también hay correspondencia diagnóstica entre ellas. No hay evidencias de que GeneXpert sea mejor que GMNP o viceversa, por lo que, ambas permiten el diagnóstico de TBC pulmonar al tener validez diagnóstica similares.

Palabras clave: Tuberculosis pulmonar, GeneXpert, nanopartículas, GMNP, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, precisión diagnóstica, validez diagnóstica.

ABSTRACT

Objective: To determine if the GMNP test has similar diagnostic validity as the GeneXpert molecular method for the diagnosis of pulmonary TB in suspected patients who attend the PCT of the La Libertad Healthcare Network, during January - December 2022 - 2023.

Materials and method: An observational, cross-sectional, prospective, analytical, diagnostic test-type study was developed in which, through simple random sampling, patients with suspected pulmonary TB who attended the PCT of the La Libertad Healthcare Network were selected and provided sputum samples for GeneXpert as GMNP and determine diagnostic validity through sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, taking culture as the Gold Standard. The diagnostic validity of both tests was compared with the Chi square test, considering a significant value for $p < 0.05$.

Results: 92 sputum samples were collected, subjected to GeneXpert and GMNP testing, and compared to culture. The results were: 38% positive with GeneXpert vs. 39.1% with GMNP; negative 62% with GeneXpert vs. 60.9% with GMNP. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and diagnostic accuracy with the GeneXpert were 100%. With GMNP, sensitivity was 100%, specificity 99.2%; positive and negative predictive values of 98.4% and 100% respectively, with diagnostic accuracy of 99.4%. When comparing both tests, no statistically significant differences were observed between the evaluated parameters ($p > 0.05$).

Conclusion: The diagnostic parameters of both tests are similar, so there is also diagnostic correspondence between them. There is no evidence that GeneXpert is better than GMNP or vice versa, therefore, both allow the diagnosis of pulmonary TB by having similar diagnostic validity.

Keywords: Pulmonary tuberculosis, GeneXpert, nanoparticles, GMNP, sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, diagnostic accuracy, diagnostic validity.

PRESENTACIÓN

De acuerdo con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antenor Orrego, presento la Tesis de investigación Titulada "Validez diagnóstica de nanopartículas de Hierro comparada con el método molecular GeneXpert para diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar", un estudio observacional de tipo prueba diagnóstica, que tiene como objetivo determinar si la prueba de GMNP tiene similar validez diagnóstica que el método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad, durante el periodo enero – diciembre de 2022 – 2023. Con la finalidad de contribuir al diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar con apoyo de la nanomedicina como lo es el uso de nanopartículas para implementar un nuevo método diagnóstico.

Por lo tanto, someto la presente Tesis para obtener el Título de Médico Cirujano a evaluación del Jurado.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN:	9
1.1.	Problema de investigación:	9
1.2.	Objetivos:	12
1.3.	Justificación del estudio:	12
II.	MARCO DE REFERENCIA	13
2.1.	Antecedentes del estudio:	13
2.2.	Marco teórico:	14
2.3.	Marco conceptual:	15
2.4.	Sistema de hipótesis:	16
2.5.	Variables e indicadores (cuadro de operacionalización de variables):	17
III.	METODOLOGÍA:	20
3.1.	Tipo y nivel de investigación:	20
3.2.	Población y muestra del estudio:	20
3.3.	Diseño de investigación:	23
3.4.	Técnicas e instrumentos de investigación:	23
3.5.	Procesamiento y análisis de datos:	23
IV.	RESULTADOS:	26
4.1.	Análisis e interpretación de resultados:	26
4.2.	Docimasia de hipótesis:	30
V.	DISCUSIÓN:	30
VI.	CONCLUSIONES:	34
VII.	RECOMENDACIONES:	35
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	35
	ANEXOS:	39

I. INTRODUCCIÓN:

1.1. Problema de investigación:

La tuberculosis (TBC) es una de las enfermedades infecciosas categorizada dentro de las diez principales que ha causado globalmente mayor cantidad de muertes sobrepasando, incluso, al VIH/SIDA. Afecta a todos los países, sin importar el sexo, la raza o la edad, por lo cual podemos considerar a la TBC como un problema de salud pública de tamaño epidémico cuyas estadísticas mundiales en el 2018 dadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) estiman 10.0 millones de casos nuevos, y creciendo; teniendo a la cabeza a India (27%), China (14%) y la Federación de Rusia (9%) con la mayor parte de la carga mundial (1). La TBC con resistencia a medicamentos (TBC-MDR) es otro problema incluido y que, acompaña y dificulta aún más el control, siendo Perú uno de los 30 países considerados con alta carga de TBC-MDR (2).

La detección de esta enfermedad es fundamental para el pronóstico en cualquier persona. Los más afectados de la población peruana son personas de bajo nivel educativo y de escasos recursos económicos, ya sean desempleados o con un salario precario (3), que no pueden acceder a buenos servicios de salud o que desconocen de estos para recibir un diagnóstico adecuado y precoz con un posterior tratamiento de calidad que permita la curación de la TBC. Uno de los mayores retos a nivel nacional en nuestro país está en la atención y prevención integral de la TBC, además de la falta de información y monitorización de los casos nuevos y prevalentes, a pesar de haber la ley N° 30287 “Ley para la Prevención y Control de la Tuberculosis en el Perú” aprobada ya en 2016 mediante el Decreto Supremo N° 021-2016-SA (4).

Existen distintos métodos para el diagnóstico de TBC como la baciloscopia (BK) del esputo a través de la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) o fluorescencia convencional, el cultivo en medio Lowestein-Jensen (LJ) (5) y el Xpert MTB/Rif o también llamado GeneXpert. Cada uno de estos tiene su ventaja y desventaja. La que más se usa y es un estudio de rutina en los centros de salud es la baciloscopia. A pesar de ser el

método más fácil, económico y accesible, este solo permite detectar aquellas bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR) y no identificar específicamente al *M. tuberculosis*. El cultivo, por otro lado, es un método seguro y certero con mayor sensibilidad que sí logra aislar a la micobacteria permitiendo así el diagnóstico definitivo, sin embargo tiene limitaciones en cuanto al costo y el tiempo para obtener los resultados el cual varía entre 6 a 8 semanas (5,6). En cuanto al GeneXpert, como prueba molecular que permite detectar a la bacteria en tiempo real, tiene a favor la alta sensibilidad y el tiempo ya que se realiza en dos horas, pero los costos son mucho más elevados que el cultivo (6).

En los últimos años, la nanotecnología en el campo de la medicina está captando mucho la atención de los investigadores y esto se debe a que la utilización de sustancias, productos y/o materiales en tamaño nanométrico se puede aplicar en terapia farmacológica, el desarrollo de vacunas, métodos diagnósticos e imagenología, dispositivos portátiles e implantes, entre otros (7). Un componente importante en la nanomedicina son las nanopartículas (NP), que pueden asociarse a otras sustancias como los metales, y de esta manera, obtienen multifuncionalidad como la de ser un biosensor usado en diagnóstico. Esto aumenta increíblemente su sensibilidad y especificidad. Por ejemplo, se han diseñado biosensores utilizando nanotecnología que combina compuestos metálicos adaptados con capacidad de responder a cambios fisicoquímicos en una región biológica, como lo es la pared celular del *Mycobacterium* o secuencias de sus ácidos nucleicos (8). También se ha usado microsensores inmunofluorescentes con campos eléctricos, que permiten identificar un límite de 200 unidades formadoras de colonias (UFC/mL) en muestras de esputo con un tiempo de procesamiento y lectura de aproximadamente 30-45 minutos y un costo muy bajo (9); sin embargo, el uso de equipos electrónicos o tecnología montada en laboratorio, dificulta su aplicabilidad en lugares de bajos recursos económicos.

Por eso, aparece como propuesta el uso de nanopartículas de hierro

glicosiladas para el diagnóstico de TBC en muestras de esputo. Esta técnica se fundamenta en la unión de las NP de hierro a la cual se adhiere glucano formando así nanopartículas magnéticas funcionalizadas con glucano (GMNP), lo que le permite unirse de manera irreversible a la pared celular y, con la ayuda de un magneto, las NPs arrastran a las bacterias hacia el punto donde se ubica el imán, permitiendo la unión de grandes grupos de bacterias haciéndolas visibles (10).

Existen estudios que confirman que es factible poder usar las GMNP para la detección precisa de tuberculosis pulmonar a partir de muestras de esputo, con la gran ventaja de ser rápidas, no requerir la experiencia de un microscopista, pues puede ser leído por una persona medianamente entrenada y ser económicamente accesible pues el costo de cada prueba bordea 0.50 USD (11).

Por lo tanto, la utilización de las nanopartículas aplicadas a la detección de TBC cobra gran relevancia. No solo es la manera en que esto puede ayudar facilitando el diagnóstico tanto en tiempo como en costos y a través de un procedimiento sencillo; sino, la precisión que se viene observando en estudios mencionados previamente. Por ello se pretende en este estudio, confirmar la validación mostrada anteriormente, pero usando como método comparativo el método molecular GeneXpert. El aporte de este estudio será la integración de la técnica de nanopartículas en el diagnóstico de TBC pulmonar; por lo que bajo estas premisas se formuló la siguiente pregunta: ¿Tiene similar validez diagnóstica la prueba de GMNP en comparación con el método molecular GeneXpert en el diagnóstico de TBC pulmonar en muestras de esputo de pacientes con sospecha que acuden al Programa de Control de Tuberculosis (PCT) de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud durante enero-diciembre de 2022-2023?

1.2. Objetivos:

A. Objetivo General:

Determinar si la prueba de GMNP tiene similar validez diagnóstica que el método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad – EsSalud.

B. Objetivos Específicos:

- Precisar las principales características sociodemográficas de los pacientes cuyas muestras fueron recolectadas.
- Evaluar la validez a través de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la prueba GMNP para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud.
- Evaluar la validez a través de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud.
- Comparar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la prueba de GMNP y del método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad – EsSalud.

1.3. Justificación del estudio:

El empleo de las nanopartículas de hierro para la detección de TBC pulmonar tiene gran relevancia científica ya que facilita el diagnóstico acortando el tiempo y los costos mediante un procedimiento sencillo, y teniendo una validez diagnóstica muy alta observada previamente en anteriores estudios. Es por ello que con este estudio se busca confirmar esta validación mostrada previamente, pero usando como método comparativo el GeneXpert. El aporte de este estudio será la integración

de la técnica de nanopartículas en el diagnóstico de TBC pulmonar.

II. MARCO DE REFERENCIA

2.1. Antecedentes del estudio:

Gordillo-Marroquin et al., en un experimento en el cual usa muestras de esputo de pacientes con diagnóstico comprobados de Tuberculosis pulmonar determinó la concentración adecuada de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con glucano utilizadas en un ensayo de biosensores colorimétricos a base de nanopartículas magnéticas (NCBA) y evaluó la concentración óptima para aumentar la extracción, concentración y detección de bacilos ácido-alcohol resistentes. El recuento de BAAR con la técnica de ZN fue 4059 bacilos y con GMNP fue 5977, aumentando el NCBA en un 47%, mostrando el efecto de extracción y concentración. La relevancia clínica de este resultado es que un conteo por debajo de 5000 en el ZN se consideraría un caso paucibacilar y probablemente conduciría a un resultado falso negativo en entornos convencionales, aumentando el riesgo de transmisión de Tuberculosis mientras que con NCBA, el recuento de bacilos ácido-alcohol resistentes es cercano a 6000, lo que aumenta la posibilidad de un resultado positivo. (10)

Briceño et al., en un estudio observacional prospectivo comparativo para evaluar la sensibilidad y especificidad de la prueba de NCBA, empleando muestras de esputos de pacientes con sospecha de TBC pulmonar y comparando con la tinción ZN para BAAR, encontraron que el NCBA presentó sensibilidad y especificidad clínica de 100.0% y 99.7% respectivamente (IC 95%) comparado con el Gold-Standard que fue el cultivo. (12)

Otra experiencia similar utilizando el mismo método es la de Bhusal et al., quienes, también en un estudio prospectivo comparativo, combinaron principios de nanotecnología para el diagnóstico rápido y asequible, y estudiaron concentraciones muy bajas de bacilos ácido-rápidos (AFB) en muestras de esputo, a fin de determinar la sensibilidad y especificidad

del método, usando como Gold standard la prueba molecular de GeneXpert que detecta ADN de *Mycobacterium*, encontrando sensibilidad y especificidad similar al GeneXpert: 95% - 100% (IC 95%), mientras que en la microscopia la sensibilidad fue de 40.0%. (11)

2.2. Marco teórico:

Existen diferentes métodos para el diagnóstico de TBC pulmonar en su fase activa. Entre los clásicos y que se han venido empleando desde antes de 1900, está la tinción Ziehl-Neelsen y el cultivo. La primera viene a ser una técnica de coloración donde la muestra empleada es esputo emitido por el paciente. Se ha visto que la sensibilidad de la prueba va aumentando a medida que se recolectan muestras seriadas de esputo. Esta técnica es la que se emplea de forma rutinaria debido a las características microbiológicas que presenta el *M. tuberculosis* en su pared celular: resistir a la decoloración con alcohol ácido, por ello su denominación de BAAR. Por otro lado, el cultivo de esputo, si bien es una técnica lenta debido a que el bacilo demora en crecer entre 30 a 60 días aproximadamente, se ha visto que tiene otros beneficios aparte del diagnóstico, como llevar un control del tratamiento y la vigilancia de la resistencia a drogas antituberculosas. (13)

Entre los métodos diagnósticos actuales que han tomado mayor importancia se encuentra el GeneXpert, que es un ensayo de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real que identifica el material genético del *M. tuberculosis* y si hay presencia o no de resistencia a rifampicina. Las muestras son variadas, desde esputo hasta líquido pleural, cefalorraquídeo, entre otros. Se ha visto que con muestras respiratorias, su sensibilidad llega a un 85% y la especificidad a un 98% (13,14)

Ahora, en los últimos años está tomando bastante relevancia la aplicación de la nanotecnología al campo de la salud, que busca llevar las cosas a un nivel “nano” para el mejor aprovechamiento de sus propiedades. Los productos de esta incluyen nanomateriales para la administración de fármacos y medicina regenerativa, así como nanopartículas con actividades antibacterianas o nanoestructuras

funcionales utilizadas para la detección de biomarcadores como nanobiochips, nanoelectrodos o nanobiosensores. (15)

El uso de nanopartículas en la parte de detección de enfermedades como lo es la TBC pulmonar está teniendo resultados prometedores como se ha visto en estudios donde la sensibilidad llega a más del 95% y la especificidad cerca al 100% (11). Sin embargo, para medir la validez diagnóstica de este nuevo método se requiere emplear el Gold standard más preciso, por lo que, en este caso, se pretendió usar la determinación de la viabilidad del *M. tuberculosis* en agar Lowenstein-Jensen, como expresión de la existencia de este germen. Si la nueva prueba con NPs se acerca en su sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, a la que muestre el cultivo (Gold standard), entonces la validez y precisión diagnóstica de las NPs será alta.

2.3. Marco conceptual:

A. Validez diagnóstica:

Cuando hablamos de la validez diagnóstica de una prueba, nos referimos al grado en que dicha prueba determina, mide o identifica lo que se supone que debe determinar, medir o identificar permitiendo diferenciar entre dos o más condiciones (por ejemplo, pacientes sanos versus pacientes enfermos) y cuán exacto o certero es, y esta validez se puede examinar mediante 3 criterios como la representatividad, constatación y determinación.

Los parámetros de probabilidad (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo) son los que permiten medir la validez diagnóstica de una prueba. (16)

B. Nanopartículas:

Las nanopartículas son producto de la nanotecnología, que es la ingeniería que se encarga de reducir ciertas partículas a nanoescala (10^{-9} m). La aplicación de estas en el campo de la medicina abarca desde el nanodiagnóstico como en la terapéutica mediante la creación de tipos diferentes de NP para su uso en sistemas de administración de fármacos o agentes bioactivos que incluyen liposomas, nanocápsulas de NP poliméricas, micelas poliméricas y

dendrimeros; y los elementos inorgánicos que se han empleado y evaluado su actividad biológica son el aluminio, el cobre, el oro, la plata, el hierro, entre otros. (17,18)

C. Método molecular GeneXpert:

El GeneXpert es una técnica molecular para el diagnóstico de TBC que ofrecen mayor rapidez, teniendo una sensibilidad y especificidad similar al cultivo, que es el Gold standard para el diagnóstico de TBC. Los beneficios es que no requiere de una infraestructura especializada ni de personal altamente calificado, por lo que se considera tener menor complejidad que otras pruebas. Además, reduce el riesgo de contaminación cruzada y del personal del laboratorio. La rapidez con la que precisa el diagnóstico es menor a dos horas y permite identificar si existe o no resistencia a la rifampicina, uno de los medicamentos de primera línea de TBC. (19)

D. Tuberculosis pulmonar

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa endémica del Perú, ocupando el décimo quinto lugar de las causas de muerte. Es causado por bacterias de la familia *Mycobacteriaceae* siendo las más importantes son: la humana, la bovina y la aviaria (tanto la humana como la bovina son patógenas para el hombre). En causante más frecuente es *M. tuberculosis* y esta se transmite principalmente por vía aérea a través de la inhalación de microgotas en aerosoles cuando una persona enferma habla, tose o estornuda. De esta forma llegan al pulmón, específicamente al alvéolo y entran en los macrófagos donde se reproducen y posteriormente son liberados diseminándose por vía hematogena-linfática. (4,20)

2.4. Sistema de hipótesis:

A. Hipótesis nula (Ho):

Ho: La prueba de GMNP tiene la misma precisión diagnóstica que el método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud.

B. Hipótesis alterna (Ha):

Ha: La prueba de GMNP no tiene la misma precisión diagnóstica que el método molecular GeneXpert para el diagnóstico de TBC pulmonar en pacientes con sospecha que acuden al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud.

2.5. Variables e indicadores (cuadro de operacionalización de variables):

Variable	Definición conceptual	Definición operacional
Método molecular GeneXpert	Método de detección diagnóstica rápida y molecular para <i>M. tuberculosis</i> que emplea la amplificación del ácido nucleico y permite, además, identificar resistencia a rifampicina (19)	Detección molecular a través de la amplificación de ácido nucleico en muestras de esputo de 5 mL y con expectoración mucopurulenta emitida por la mañana y procesado dentro de las 3 horas de ser emitido.
Método diagnóstico con nanopartículas de hierro	Método de detección de <i>M. tuberculosis</i> utilizando GMNP, tinción carbol fucsina, añadiendo etanol y HCl y uso de azul de metileno como contratinción; que se adhieren irreversiblemente a la pared celular del <i>M. tuberculosis</i> . (12)	Frotis de esputo recolectado de la primera muestra de la mañana, y procesado dentro de las 3 horas de emitido, mezclado con el GMNP, que permite observar, bajo un microscopio de campo brillante, presencia de grupos rojos en forma de varilla rodeados de nanopartículas marrón oscuro, producto del agrupamiento del GMNP con el <i>M. tuberculosis</i> (GMNP-Mt) adheridas al usar un imán en el parte inferior de la lámina, que atrae a todas las nanopartículas en un solo punto. (12)

Diagnóstico de tuberculosis pulmonar	Enfermedad causada por el <i>M. tuberculosis</i> , que se caracteriza por dar reacción granulomatosa caseificante en los órganos tejidos que invade el germen y que principalmente es Pulmón, aunque puede presentarse en cualquier localización. (21)	Muestra con prueba positiva en el procesamiento realizado con el cultivo en agar Lowenstein – Jensen para tuberculosis y que se interpreta como la presencia <i>M. tuberculosis</i> viables.
Covariable	Definición conceptual	Definición operacional
Edad	Tiempo de existencia desde el nacimiento hasta la muerte. (22)	Tiempo medido en años desde el nacimiento hasta el momento de la realización del proyecto de investigación.
Sexo	Condición que distingue biológicamente al hombre y la mujer. (23)	Se toma en cuenta el sexo de nacimiento y no el género con el que el paciente se sienta identificado.
Nivel socioeconómico	Posición de un individuo/hogar dentro de una estructura social jerárquica. (24)	Condición social basada en condición laboral (empleado, subempleado, desempleado) el salario mensual y poder adquisitivo que le permite satisfacer sus necesidades básicas familiares, que se expresa: <ul style="list-style-type: none"> - Bajo - Medio - Alto

Contacto con casos de TBC	Cualquier persona que tiene o ha tenido exposición con un caso índice diagnosticado con tuberculosis ya sea intra o extradomiciliario. (25)	Presencia de una persona con tuberculosis, con o sin tratamiento en su entorno familiar, laboral o social cercano, en los últimos 30 días.
---------------------------	---	--

Variable	Tipo	Escala de medición	Indicador	Índice
Variable de Intervención:				
Método molecular GeneXpert	Cualitativa	Nominal	-Positivo -Negativo	1 = positivo 0 = negativo
Método diagnóstico con nanopartículas de He	Cualitativa	Nominal	-Positivo -Negativo	1 = positivo 0 = negativo
Variable de Respuesta				
Diagnóstico de tuberculosis pulmonar	Cualitativa	Nominal	-Positivo -Negativo	1 = positivo 0 = negativo
Covariables				
Edad	Cuantitativa	Continua	Años	Cuantificación de años, vg. 20 años, 32 años, 50 años, etc
Sexo	Cualitativa	Nominal	-Hombre -Mujer	0 = Mujer 1 = Hombre
Nivel socioeconómico	Cualitativa	Nominal	-Bajo -Medio	0 = Bajo 1 = Medio

			-Alto	2 = Alto
Contacto con paciente TBC	Cualitativa	Nominal	-Sí -No	1 = Sí 0 = No

III. METODOLOGÍA:

3.1. Tipo y nivel de investigación:

Esta investigación fue de tipo aplicada y el nivel, comparativo (26).

3.2. Población y muestra del estudio:

A. Población:

Todos los pacientes asegurados con sospecha de TBC pulmonar que acudieron al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud durante el periodo 2022 – 2023.

B. Muestra y muestreo:

a. UNIDAD DE ANÁLISIS:

Pacientes con sospecha de TBC pulmonar que acudieron al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud durante el periodo 2022 – 2023 que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión.

b. UNIDAD DE MUESTREO

Muestras de esputos de los pacientes con sospecha de TBC pulmonar que acudieron al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud durante el periodo 2022 – 2023.

c. TAMAÑO MUESTRAL:

Para realizar el cálculo muestral, se utilizó la fórmula para estudios de comparación de dos pruebas diagnósticas, que es la siguiente:

$$n = \frac{\left\{ Z\alpha\sqrt{(1+C)\bar{\Pi}(1-\bar{\Pi})} + Z\beta\sqrt{(Cp_1q_1 + p_2q_2)} \right\}^2}{(C)IC^2}$$

En donde:

$Z\alpha = 1,64 \rightarrow$ confiabilidad al 95%

$Z\beta = 80\% = 0.80 \rightarrow$ potencia de prueba.

$C = (1:1) \rightarrow$ relación entre los componentes de ambos grupos

$$\Pi = p_1 + p_2 / 2 \rightarrow (0.95 + 0.88) / 2 = \mathbf{0.915}$$

- p_1 = valor de la sensibilidad de prueba 1 (nanopartículas de He) $\rightarrow 95\% = \mathbf{0.95}$ (12)
- $q_1 = 1 - p_1 \rightarrow 1 - 0.95 = \mathbf{0.05}$
- p_2 = valor de la sensibilidad de prueba 2 (Prueba molecular GeneXpert) $\rightarrow 88\% = \mathbf{0.88}$ (27)
- $q_2 = 1 - p_2 \rightarrow 1 - 0.88 = \mathbf{0.12}$

IC = **0.05** \rightarrow Amplitud del intervalo de confianza aceptado

$$n = \frac{\left\{ (1.64)\sqrt{(1+1)(0.915)(1-0.915)} + (0.80)\sqrt{1(0.95)(0.05) + (0.88)(0.12)} \right\}^2}{1(0.10)^2}$$

$$n = 92.1$$

El tamaño muestral total comprendió 92 pacientes.

d. MUESTREO:

Se obtuvo el número de sujetos de investigación usando muestreo aleatorio simple:

- Se construyó una tabla de números aleatorios que contuviese el triple de números del tamaño muestral calculado, empleando la función "ALEATORIO.ENTRE" de Excel.
- Cada paciente que cumplía los criterios de inclusión y no tenga exclusiones (explicados más adelante), se le cotejaba con el primer número de la tabla de números aleatorios y se verificaba si correspondía a un número par o impar. En caso de que fuera par, se seleccionaba para el estudio. Si era impar, no.
- La lectura de la tabla de números aleatorios fue por columnas, empezando por la primera de la izquierda y siguiendo el sentido vertical. Al terminar con esa columna, se pasó a la segunda columna, nuevamente iniciando desde el primer número de la segunda columna.

Con esta técnica se obtuvo el número requerido calculado en el tamaño muestral.

C. Criterios de selección:

Se seleccionó las muestras de todos los pacientes que acudan al PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud por sospecha de TBC pulmonar referidos de la Unidad de Neumología, Medicina Interna e Infectología.

a. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Se incluyó las muestras de los pacientes que cumplan con los siguientes criterios:

- Paciente con sospecha de TBC pulmonar sin restricción de edad, género, nivel socioeconómico ni comorbilidad.
- Que sean sintomáticos respiratorios: Tos productiva al menos por 15 días de duración.
- Que cumpla con las dos consultas al PCT a fin de dejar una muestra de esputo en cada una de ellas.
- Que existan información epidemiológica completa proporcionada por el paciente en la hoja de registro de sospecha de Tuberculosis.
- Que tenga formulario de solicitud de examen diagnóstico (investigación de BAAR y/o cultivo para *M. tuberculosis*) según formato del PCT.

b. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Se excluyó las muestras de los pacientes que cumplan con los siguientes criterios:

- Muestras que tengan contenido hemático o el paciente tenga hemoptisis.
- Muestras que sean saliva o que tengan más de 10 células epiteliales por campo de alta resolución (400X) o menos de 25 polimorfonucleares o monocitos por campo de alta resolución (400X).
- Muestra con más de 4 horas de ser emitida.
- Que hayan tenido diagnóstico previo de Tuberculosis de cualquier localización, en especial, pulmonar.
- Pacientes en tratamiento actual de Tuberculosis de cualquier localización.

- Paciente que ha culminado tratamiento en los últimos 6 meses.
- Muestras de baciloscopia de control.
- Muestra que luego de obtener resultado del cultivo, se obtuvo Micobacterias atípicas.

3.3. Diseño de investigación:

Se desarrolló un estudio observacional, transversal, prospectivo, analítico, tipo prueba diagnóstica. (28)

3.4. Técnicas e instrumentos de investigación:

La técnica que se empleó fue la observación, a través de microscopía electrónica.

El instrumento utilizado para recolectar los datos fue la “Ficha de solicitud de investigación bacteriológica en Tuberculosis” (ANEXO N°01, tomado del Manual de Normas de Procedimientos para la Prevención y Control de la Tuberculosis) (29).

3.5. Procesamiento y análisis de datos:

A. Procesamiento:

Se realizó las solicitudes de permisos y autorizaciones respectivos para tener acceso a la recolección de las muestras para el proyecto y la información de las fichas de solicitud de examen del PCT de la Red Asistencial La Libertad - EsSalud.

Una vez obtenidos los permisos se procedió a seleccionar a los pacientes que acudían al Consultorio del PCT para despistaje de TBC pulmonar a través de baciloscopia de esputo usando una secuencia de números aleatorios con el fin de precisar qué muestras ingresarían al estudio, recolectándose 5 muestras de esputo por día del total que acuden a dejar sus muestras para despistaje (promedio de 12-15 muestras).

Luego se procedió a registrar la información recolectada por la enfermera responsable del PCT de cada centro de salud que conforma la Red Asistencial La Libertad – EsSalud, que consta en la

“Ficha de solicitud de investigación bacteriológica en Tuberculosis”
(ANEXO N°1).(29)

Las muestras seleccionadas fueron de esputo matinal, en un frasco de boca ancha, que no tenga más de 3 horas de ser emitida, la cual fue tratada como sigue:

- Se obtuvo de la muestra principal, tres alícuotas de 5 mL, en 3 tubos diferentes:
 - a. **TUBO 1:** Muestra para tratamiento con GMNP.
 - b. **TUBO 2:** Muestra para GeneXpert.
 - c. **TUBO 3:** Muestra para cultivo (Gold Standard).
- Los tubos de las alícuotas fueron agitados manualmente o invirtiéndolos entre 10-20 veces. Luego se dejó reposar por 5 minutos para volverlos a agitar/invertir entre 10-20 veces más.
- Usando un bastidor magnético, se separó las bacterias que han formado complejo con las nanopartículas (5-10 min dependiendo de la viscosidad del esputo); quedando solo el complejo Mt–GMNP, descartándose el sobrenadante y retirándose los tubos del bastidor magnético.
- Del tubo 1, se suspendió otra vez el contenido remanente del tubo que contiene el complejo MT–GMNP mediante la adición de 500 µL de buffer fosfato salino (PBS) 0,01 M mezclándose manualmente mediante agitación manual 10 veces. Se procedió a hacer un extendido del preparado homogenizado y se observó al microscopio. Esta observación fue realizada exclusivamente por una persona a quien se le entrenó previamente en la preparación y lectura de la prueba.
- Se envió tanto el tubo 2 para procesamiento con GeneXpert y el tubo 3 para cultivo al laboratorio de micobacteriología del HACVP, que fue realizado por profesionales diferentes al que procesó la muestra del tubo 1. Ninguno de los tres tuvo acceso a los resultados obtenidos de cada tubo, salvo el que procesaron.
- Los resultados de la baciloscopía de esputo con ZN serán

obtenidos del mismo laboratorio de micobacteriología de los hospitales de la Red Asistencial La Libertad – EsSalud.

- La información de los resultados de ambos tubos y de la baciloscopía fue colocada en una base de datos codificada, con acceso único para el investigador, protegido por una contraseña y actualizada diariamente.
- Las GMNP fueron gentilmente proporcionadas por la Dra. Evangelyn Alocilja, creadora del método, College of Engineering, Nano Biosensor Laboratory, Michigan State University, USA.
- La base de datos fue construida en Excel (Office 365 Versión 2006).

B. Estadística Descriptiva:

Los resultados obtenidos se mostraron según distribución de frecuencias de las variables cualitativas en tablas de contingencia (2x2) para comparaciones entre el método experimental, el comparativo y el Gold Standard. Las variables cualitativas propias del estudio fueron expresadas en proporciones y/o porcentajes. Las variables demográficas como edad, sexo, nivel socioeconómico y contacto con caso TBC, fueron expresadas en tablas de doble entrada en función de su naturaleza: Las numéricas en medidas de tendencia central como media, mediana, moda y de dispersión como desviación estándar; las categóricas, en proporciones o porcentajes. Algunas variables fueron mostradas en gráficos de barras y sectores para su mayor entendimiento.

C. Estadística Analítica:

A fin de contrastar la hipótesis del estudio, se realizó la prueba de Chi Cuadrado para las variables cualitativas que se enfrentaron en la tabla de contingencia, para buscar asociación estadística, que fue considerada significativas para un α menor a 5% ($p < 0.05$).

D. Estadígrafos propios del estudio:

Los estadígrafos usados en un diseño de prueba diagnóstica fueron: la sensibilidad y especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN), para cada una de las propuestas de examen diagnóstico a usar en el estudio comparado con el Gold

Standard. Se calculó además los intervalos de confianza al 95%.
 El procesamiento estadístico de estos datos fue realizado con el soporte del Paquete Estadístico IBM SPSS Versión 25.0

IV. RESULTADOS:

4.1. Análisis e interpretación de resultados:

Tabla 1. Características sociodemográficas de los pacientes sintomáticos respiratorios analizados (n= 92)

	Frecuencia	Porcentaje
Edades		
18 a 45	53	57.6
46 a 64	28	30.4
65 a más	11	12.0
Sexo		
Masculino	78	84.8
Femenino	14	15.2
Centro Asistencial		
HVLE	23	25.0
HACVP	20	21.7
La Esperanza	06	6.5
El Porvenir	09	9.8
Florencia de Mora	06	6.5
Moche	07	7.6
Chocope	09	9.8
Ascope	00	00.0
Casagrande	00	00.0
Pacasmayo	00	00.0
Albretch	00	00.0
Virú	12	13.0
Nivel Socioeconómico		
Nivel A	00	00
Nivel B	04	4.3
Nivel C	56	60.9

	Nivel D	32	34.8
	Nivel E	00	00
Contacto o exposición			
	no	42	45.7
	si	26	28.3
	Desconocido	24	26.1
GeneXpert			
	Negativo	57	62.0
	Positivo	35	38.0
GMNP			
	Negativo	56	60.9
	Positivo	36	39.1
Cultivo			
	Negativo	57	62.0
	Positivo	35	38.0

En la tabla 1 se describen las características sociodemográficas de los pacientes cuyas muestras de esputo fueron analizadas. La mayoría de los pacientes fueron provenientes del hospital Lazarte (HVLE) en un 25.0% y del HACVP con 21.7%. No se captó ningún paciente proveniente de Ascope, Casagrande, Pacasmayo o Albretch.

Se dividió a los pacientes según su edad en intervalos de: 18 a 45 años, 46 a 64 años y 65 años a más. Se observó que más de la mitad de los pacientes tenían entre 18 y 45 años (57.6%), mientras que era menos frecuente el diagnóstico de tuberculosis en pacientes mayores de 65 años (12.0%).

Hubo, además, predominio del sexo masculino con respecto al sexo femenino (84.8% vs 15.2%).

También se analizó el nivel socioeconómico, siendo el nivel C aquel del que provenían más de la mitad de todos los pacientes (60.9%); mientras que, por otro lado, no se obtuvo pacientes ni del nivel A como del nivel E.

De todos los pacientes, solo un 28.3% refirió haber tenido contacto o

exposición a tuberculosis pulmonar, mientras que casi la mitad de ellos negaba haberlo tenido (45.7%) y otro tanto refería no tener conocimiento de ello (26.1%).

Al realizar el procesamiento de las muestras de esputos de los pacientes, tanto con GeneXpert como con GMNP, los resultados salieron similares: Fueron positivos 38% con GeneXpert vs. 39.1% con GMNP, mientras que los resultados negativos fueron: 62% con GeneXpert vs. 60.9% con GMNP.

Tabla 2. Resultado de Muestras de esputo procesadas con GeneXpert y Cultivo de M tuberculosis

		Cultivo M. tuberculosis		
		Positivo	Negativo	Total
GeneXpert	Positivo	35	0	35
	Negativo	0	57	57
	Total	35	57	92

Parámetro	Cálculo	IC 95% Inferior-Superior
Sensibilidad	100%	(94.17, 100)
Especificidad	100%	(97.04, 100)
Valor Predictivo Positivo	100%	(94.17, 100)
Valor Predictivo Negativo	100%	(97.04, 100)
Precisión diagnóstica	100%	(98, 100)

En la tabla 2, se observa que tanto la sensibilidad como especificidad alcanzada con el GeneXpert fueron del 100%, con valores predictivos positivo y negativo de igual manera con 100%; permitiendo calcular una precisión diagnóstica de 100%.

Tabla 3. Resultado de Muestras de esputo procesadas con GMNP y Cultivo de M tuberculosis

		Cultivo M. tuberculosis		
		Positivo	Negativo	Total
GMNP	Positivo	35	1	36

Negativo	0	56	56
Total	35	57	92

Parámetro	Cálculo	IC 95% Inferior-Superior
Sensibilidad	100%	(94.17, 100)
Especificidad	99.21%	(95.64, 99.86)
Valor Predictivo Positivo	98.41%	(91.54, 99.72)
Valor Predictivo Negativo	100%	(97.02, 100)
Precisión diagnóstica	99.47%	(97.05, 99.91)

En la tabla 3, se observa nuevamente parámetros para medir la validez diagnóstica, pero esta vez de la prueba experimental de GMNP. Se observa que la sensibilidad alcanzada fue del 100%, la especificidad del 99.2%; mientras que los valores predictivos positivo y negativo fueron de 98.4% y 100% respectivamente, logrando así una precisión diagnóstica del 99.4%

Tabla 4. Análisis estadístico de GeneXpert y GMNP (IC 95%)

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	PD
GeneXpert	100.0% (94.17–100.0)	100.0% (97.04–100.0)	100.0% (94.17–100.0)	100.0% (97.04–100.0)	100.0% (98.0–100.0)
GMNP	100.0% (94.17–100.0)	99.21% (95.64–99.86)	98.41% (91.54–99.72)	100.0% (97.02–100.0)	99.47% (97.05–99.91)

VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. PD: Precisión diagnóstica

En la tabla 4, se observa la comparación entre ambas pruebas GMNP y GeneXpert realizadas a las muestras de esputo, habiendo valores similares entre ellos.

Tabla 5. Comparación entre GeneXpert y GMNP según sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y precisión diagnóstica

	GeneXpert	GMNP	chi cuadrado	p
Sensibilidad	100	100		
Especificidad	100	99.21		
VPP	100	98.41	0.00879	> 0.05
VPN	100	100		
Precisión diagnóstica	100	99.47		

VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo.

En la tabla 5 se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y la precisión diagnóstica calculados tanto para GeneXpert como para GMNP ($p > 0.05$).

4.2. Docimasia de hipótesis:

Si la precisión diagnóstica de la prueba de GMNP no difiere significativamente de la validez diagnóstica del GeneXpert, entonces ambas pruebas pueden ser usadas en el diagnóstico de TBC pulmonar.

V. DISCUSIÓN:

De acuerdo con los datos obtenidos en la experiencia realizada del presente estudio, observamos que casi la mitad de los pacientes que brindaron muestras de esputo provenían de grandes establecimientos como el Hospital Víctor Lazarte Echegaray (25.0%) y del Hospital de Alta Complejidad “Virgen de la Puerta” (21.7%). Estos hospitales debido a que son de alto nivel (III y IV nivel, respectivamente) están implementados para la atención y manejo de los casos de tuberculosis, por lo que son los principales centros hospitalarios de los que provienen la población del estudio. De estos pacientes, predominaron los adultos jóvenes (edad media entre 18 y 45 años) quienes corresponden a gran parte de la población económicamente activa. En el estudio realizado por Soto et al. Se determinó que la edad con mayor predominio eran los que tenían entre 15 y 44 años (74%) similar a lo reportado en el presente estudio.

De aquella población, se obtuvo una relación hombre – mujer de 1,7 a diferencia de este estudio donde se obtuvo 5,6. En ambos casos predomina el sexo masculino, sin embargo, en este estudio es marcada el predominio de hombres. Con respecto al contacto o exposición previa a un paciente que haya tenido TBC, se halló que casi la mitad refería no haber tenido contacto, mientras que la cuarta parte de la población de este estudio desconocía el hecho. Haciendo comparación con la revisión de Soto et al., ellos encontraron también que un 60% negaba el contacto con casos de TBC (30).

Dentro de las características sociodemográficas también se analizó el nivel socioeconómico de los pacientes. El sector con mayor predominio fue el nivel C. Generalmente se afirma que las zonas de mayor concentración de casos suelen ser con frecuencia áreas de pobreza y hacinamiento, ya que la tuberculosis es una enfermedad que guarda bastante relación con factores de riesgo sociales (30). Sin embargo, se encontró que siendo el nivel C un nivel intermedio el que tenía mayor población con casos de TBC, mientras que no se obtuvo ningún paciente del nivel E, puede hacer pensar que la falta de acceso a servicios de salud o el mismo desconocimiento de esta enfermedad es lo que limitó a la obtención de pacientes de dicho nivel.

Al realizar el procesamiento de las muestras de esputo con GeneXpert se obtuvo valores de 100% en todos los parámetros de validez diagnóstica. El uso de la prueba molecular GeneXpert fue aprobada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2010 demostrando que, en aquel entonces y hasta ahora, es un método tecnológico y relativamente novedoso que se basa en la detección de la reacción en cadena de polimerasa en tiempo real. Esta prueba ubica y amplifica regiones de consenso de ácidos nucleicos para detectar ADN de *M. tuberculosis*. Esto lo realiza en dos fases con dos pares de iniciadores, la primera hace una PCR para amplificar una región extensa del ADN que contiene la secuencia diana y en la segunda fase, esa amplificación realizada anteriormente actúa como molde para amplificar una región interna más pequeña, con la finalidad de detectar el patrón genético IS6110, mejorando la sensibilidad y especificidad del GeneXpert. Esto permite revelar existencia del ADN del *M. tuberculosis* ya que dicha secuencia es

única para esta especie lo que hace que esta prueba tenga una altísima sensibilidad y especificidad que lo hace comparable al cultivo, que es el Gold standard (31) (32).

Además de tener una alta sensibilidad para el diagnóstico de TBC, también se considera como la más rentable de todas las pruebas ya que los resultados se obtienen rápidamente sin necesidad de realizar un procesamiento extra de la muestra, por lo que, a su vez, también se ahorra recursos humanos. Este buen costo – beneficio que se obtiene con el GeneXpert permite que el diagnóstico sea lo más precoz posible y así iniciar el tratamiento correspondiente inmediatamente. Sin mencionar que, además, también detecta cepas que son resistentes a la rifampicina, fármaco de primera línea empleado en el tratamiento de TBC. Esto se realiza a través de la identificación de mutaciones en el gen *rpoB* (31). De esta manera, se optimiza el tiempo no solo en el diagnóstico si no en el tratamiento (32). A pesar de las bondades del GeneXpert en el diagnóstico de TBC, la gran desventaja es que es un método caro en nuestro país, bordeando precios que van hasta 500 soles. Precio que no todos los niveles socioeconómicos pueden ser capaces de cotizar.

Por otro lado, el cultivo tiene alta fiabilidad para el diagnóstico de tuberculosis, debido a que la positividad con esta prueba revela no solo la presencia del *M. tuberculosis* sino también permite detectar la viabilidad de dicho germen. Si en la muestra no se detectan bacterias vivas, no crecerán en el cultivo, por lo que saldría negativo descartando el diagnóstico de TBC. Es por ello por lo que se le considera el Gold Standard. Sin embargo, la sensibilidad puede disminuir si es que el procesamiento de la muestra no es el adecuado y no es realizado por un profesional conocedor de los procedimientos. Otra desventaja es el tiempo de demora en que salen los resultados: Esto varía entre 14 y 60 días aproximadamente, por lo que rara vez se considera una prueba de primera línea para diagnosticar tuberculosis ya que retrasaría el inicio del tratamiento, aunque no se excluye como una prueba confirmatoria en lo que se va iniciando el manejo para TBC (32).

En este presente estudio, el objetivo fue valorar un nuevo método diagnóstico como lo es la prueba de GMNP, que se basa en el uso de nanotecnología que ya viene implementándose desde hace algunos años en el campo de la medicina. En los estudios realizados por Gordillo – Marroquín et al., y Briceño et al., se explica cómo es el funcionamiento de estas nanopartículas que al ser sensibilizadas con glicano permiten aislar al *M. tuberculosis* al adosarse de forma irreversible a su pared celular. Posteriormente, se confirma mediante la observación de este complejo Mt–GMNP. Debido a que las nanopartículas están hechas de hierro, un metal magnético, esto le confiere propiedades paramagnéticas a las nanopartículas, que se ven expresadas cuando se utiliza un campo magnético como lo es el imán en la superficie inferior de la lámina portaobjetos de tal manera que conglo mer a todos los complejos Mt-GMNP observándose como grumos rojos en forma de varilla rodeados de nanopartículas marrones (10,12).

Este procedimiento solo demora aproximadamente 20 minutos teniendo un costo de medio dólar (11). Si lo comparamos con los otros métodos previamente analizados, el uso de GMNP es mucho más beneficioso en cuestión de tiempo y costo por ser mucho más rápido e increíblemente más barato que el uso de GeneXpert y el cultivo. Además de ello, la sensibilidad es altísima como la del Gold standard siendo del 100%, al igual que la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo que son casi del 100%, por lo que su precisión diagnóstica es del 99.4%, congruente con lo reportado por Briceño et al. (12)

En el análisis estadístico del GeneXpert y GMNP, observamos que los parámetros diagnósticos del GMNP se equiparan con los del GeneXpert, siendo prácticamente iguales por lo que este método recientemente implementado presenta ciertas ventajas por tan alta costo-efectividad y rapidez en determinar los resultados. Esto se debe a que las nanopartículas al unirse irreversiblemente a la Micobacteria permiten su detección de cualquier forma, inclusive en muestras paucibacilares a comparación de los otros métodos que disminuyen su sensibilidad en estos casos. En el estudio realizado por Gordillo – Marroquín et al., se observó que el uso de GMNP en

el NCBA aumentó un 47% el recuento de BAAR mostrando su efecto de concentración de bacterias, y siendo relevante debido a que un recuento por debajo de 5000 en una muestra analizada con Zielh-Nielsen se considera como paucibacilar pudiendo conllevar a un falso negativo e incrementando el riesgo de transmisión de un paciente subdiagnosticado a otro. Con el GMNP, el recuento de BAAR es cerca de 6000, por lo que hay más posibilidades de que el resultado salga positivo permitiendo un diagnóstico precoz, y, de esta forma, iniciar inmediatamente con el tratamiento y disminuir el riesgo de transmisión (10).

No se observó diferencias significativas entre los parámetros de validez diagnóstica de GeneXpert como de GMNP ($p < 0.05$), lo que nos quiere decir que, estadísticamente hablando, ambas pruebas son iguales: Se observó que el GeneXpert tiene correspondencia diagnóstica con el cultivo al igual que el GMNP, por lo que ambas pruebas son iguales en lo que respecta a precisión diagnóstica a pesar de basarse en diferentes principios, es por eso que ambas pueden ser utilizadas para el diagnóstico de TBC pulmonar sin que una sea superior a la otra dentro estrictamente de parámetros diagnósticos. Sin embargo, si consideramos las ventajas que nos ofrece el uso de nanopartículas, como la rapidez, la sencillez del procedimiento y el costo tan mínimo, el implementar la prueba la GMNP en el Perú, considerado país endémico de TBC, disminuiría el riesgo de transmisión al ser una prueba asequible y rápida, que no requiera de instrumentación sofisticada más que un microscopio electrónico.

VI. CONCLUSIONES:

1. La mayor población con TBC pulmonar diagnosticada provino de un nivel socioeconómico C, predominando adultos jóvenes y siendo la mayor parte de sexo masculino.
2. Se determinó que el GeneXpert posee sensibilidad y especificidad del 100% al igual que el cultivo, por lo que se considera que ambos tienen correspondencia diagnóstica.
3. El análisis de la prueba de GMNP obtuvo valores altísimos en sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo cercanos al 100%,

igualando al cultivo.

4. La comparación realizada entre ambas pruebas analizadas de GeneXpert y GMNP evidenció que los parámetros diagnósticos de ambos son similares, por lo que también hay correspondencia diagnóstica entre estas pruebas.
5. No hay evidencias que prueben que la prueba molecular GeneXpert sea mejor que GMNP o viceversa, por lo tanto, ambas pruebas permiten el diagnóstico de TBC pulmonar al tener validez diagnóstica similares.

VII. RECOMENDACIONES:

Se recomienda realizar mayores investigaciones respecto al uso del GMNP en casos de TBC extrapulmonar, ya que habiendo demostrado su eficacia en el diagnóstico de TBC pulmonar incluyendo casos paucibacilares, el que también sea altamente sensible para casos extrapulmonares permitiría el reemplazo de las técnicas diagnósticas empleadas actualmente mejorando la situación epidemiológica en nuestro país al detectar mayor número de casos precozmente.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. TB Statistics [Internet]. TBFACTS. [citado 2 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://tbfacts.org/tb-statistics/>
2. High burden TB countries - 2021 update [Internet]. TBFACTS. [citado 2 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://tbfacts.org/high-burden-tb/>
3. Ambrosio, JC, Thériault A. Determinantes socioeconómicos y demográficos de incidencia de la tuberculosis extensamente resistente en el Perú y costos asociados a su tratamiento. 2018; Disponible en: https://repositorio.up.edu.pe/bitstream/handle/11354/2256/JuanC_Tesis_Maestria_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Alarcón V, Alarcón E, Figueroa C, Mendoza-Ticona A. Tuberculosis en el Perú: situación epidemiológica, avances y desafíos para su control. Rev Peru Med Exp Salud Publica. abril de 2017;34(2):299-310.
5. Arévalo Barea AR, Alarcón Terán H, Arévalo Salazar DE. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN TUBERCULOSIS; LO CONVENCIONAL Y LOS AVANCES TECNOLÓGICOS EN EL SIGLO XXI. Rev Médica Paz. 2015;21(1):75-85.
6. Arias M F, Herrera M T. Nuevos métodos para el diagnóstico de la

- tuberculosis. *Rev Chil Enfermedades Respir.* diciembre de 2016;32(4):254-9.
7. Pelaz B, Alexiou C, Alvarez-Puebla RA, Alves F, Andrews AM, Ashraf S, et al. Diverse Applications of Nanomedicine. *ACS Nano.* 28 de marzo de 2017;11(3):2313-81.
 8. Wang S, Inci F, De Libero G, Singhal A, Demirci U. Point-of-Care assays for Tuberculosis: Role of Nanotechnology/Microfluidics. *Biotechnol Adv.* julio de 2013;31(4):438-49.
 9. Kim JH, Lee KH, Cangelosi GA, Chung JH. Immunofluorescence microtip sensor for point-of-care tuberculosis (TB) diagnosis. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2015;1256:57-69.
 10. Gordillo-Marroquín C, Gómez-Velasco A, Sánchez-Pérez HJ, Pryg K, Shinnors J, Murray N, et al. Magnetic Nanoparticle-Based Biosensing Assay Quantitatively Enhances Acid-Fast Bacilli Count in Paucibacillary Pulmonary Tuberculosis. *Biosensors.* 12 de diciembre de 2018;8(4):128.
 11. Bhusal N, Shrestha S, Pote N, Alocilja EC. Nanoparticle-Based Biosensing of Tuberculosis, an Affordable and Practical Alternative to Current Methods. *Biosensors.* 24 de diciembre de 2018;9(1):1.
 12. Briceno RK, Sergeant SR, Benites SM, Alocilja EC. Nanoparticle-Based Biosensing Assay for Universally Accessible Low-Cost TB Detection with Comparable Sensitivity as Culture. *Diagnostics.* 13 de diciembre de 2019;9(4):222.
 13. Dubón GEF, Galo OMR, Valladares DEV, Fernanda K, Ramírez M. TUBERCULOSIS PULMONAR Y MÉTODOS DIAGNÓSTICOS LABORATORIALES ACTUALES. 2018;10.
 14. Zifodya JS, Kreniske JS, Schiller I, Kohli M, Dendukuri N, Schumacher SG, et al. Xpert Ultra versus Xpert MTB/RIF for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults with presumptive pulmonary tuberculosis. *Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 2021 [citado 27 de mayo de 2022];(2). Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD009593.pub5/full/es>
 15. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules.* 27 de diciembre de 2019;25(1):112.
 16. Torregroza-Diazgranados E de J. Pruebas diagnósticas: Fundamentos de los estudios diagnósticos, evaluación de la validez e interpretación clínica de sus resultados. *Rev Colomb Cir.* 9 de marzo de 2021;36(2):193-204.
 17. Mishra S. Nanotechnology in medicine. *Indian Heart J.* 2016;68(3):437-9.
 18. Rudramurthy GR, Swamy MK. Potential applications of engineered

- nanoparticles in medicine and biology: an update. *J Biol Inorg Chem JBIC Publ Soc Biol Inorg Chem*. diciembre de 2018;23(8):1185-204.
19. Martínez-Romero MR, Secretário-Chilemo T, Lemus-Molina D, Mederos-Cuervo LM, Sardiñas-Aragón M, García-León G, et al. Evaluación del Xpert MTB RIF para el diagnóstico de tuberculosis y detección de resistencia a rifampicina en grupos vulnerables. *NCT Neumol Cir Tórax*. 2019;78(3):284-9.
 20. Barba Evia JR. Tuberculosis. ¿Es la pandemia ignorada? *Rev Mex Patol Clínica Med Lab*. 2020;67(2):93-112.
 21. Tuberculosis - ClinicalKey [Internet]. [citado 2 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/book/3-s2.0-B9780323532662003088>
 22. edad - Definición - WordReference.com [Internet]. [citado 2 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.wordreference.com/definicion/edad>
 23. sexo - Definición - WordReference.com [Internet]. [citado 2 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.wordreference.com/definicion/sexo>
 24. Vera-Romero OE, Vera-Romero FM. Evaluación del nivel socioeconómico: presentación de una escala adaptada en una población de Lambayeque. 2013;5.
 25. Norma_técnica_de_salud_para_el_control_de_la_tuberculosis20190716-19467-rmxgh7.pdf [Internet]. [citado 27 de mayo de 2022]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/342511/Norma_t%C3%A9cnica_de_salud_para_el_control_de_la_tuberculosis20190716-19467-rmxgh7.pdf
 26. Martínez de Sánchez AM. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN. PRINCIPIOS TEÓRICO-METODOLÓGICOS Y PRÁCTICOS PARA SU CONCRECIÓN. *Anu Esc Arch IV 2012-2013*. :37-63.
 27. Berra TZ, Bruce ATI, Alves YM, Ramos ACV, Giacomet CL, Arcêncio RA. Impacto de la prueba rápida molecular GeneXpert® MTB/RIF en la detección de tuberculosis: tendencias temporales y territorios vulnerables. :11.
 28. Ochoa Sangrador C. Diseño y análisis en investigación [Internet]. 2019. Disponible en: https://www.aepap.org/sites/default/files/documento/archivos-adjuntos/artl_2019_libro_diseno_y_analisis_de_investigacion.pdf
 29. MINSA - DPCTB :: Dirección de Prevención y Control de la Tuberculosis [Internet]. [citado 26 de mayo de 2022]. Disponible en: <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/formatos.aspx>
 30. Soto Cabezas MG, Munayco Escate CV, Escalante Maldonado O, Valencia Torres E, Arica Gutiérrez J, Yagui Moscoso MJA. Perfil epidemiológico de la tuberculosis extensivamente resistente en el Perú, 2013-2015. *Rev Panam*

Salud Pública. 23 de septiembre de 2020;44:e29.

31. Lugo DAR, Castañeda LPV, Apráez JIL, Herazo JRG, Preciado CC. Xpert MTB/RIF Ultra: innovación en el diagnóstico de la tuberculosis. Univ Medica. 2021;62(1):1-15.
32. Berra TZ, Gomes D, Ramos ACV, Alves YM, Bruce ATI, Arroyo LH, et al. Effectiveness and trend forecasting of tuberculosis diagnosis after the introduction of GeneXpert in a city in south-eastern Brazil. PLoS ONE. 28 de mayo de 2021;16(5):e0252375.

ANEXOS:

Anexo 01: Ficha de solicitud de investigación bacteriológica en Tuberculosis

DISA/DIRESA: Red de Salud:

EES: 2. Servicio: Cama N°

3. Apellidos y Nombres Edad Sexo

Hist. Clínica DNI Teléfono

Dirección:

Provincia: Distrito:

Referencia: Correo electrónico:

4. Tipo de Muestra: Espudo Otro Especificar:

5. Antecedente de tratamiento: Nunca Tratado Antes tratado: Recaida Abandono Recup. Fracaso

6. Diagnóstico: S.R. Seg. Diagnóstico Rx Anormal Otro

7. Control de tratamiento: Mes Esq. TB sensible Esq. DR Esq. MDR Esq. XDR Otros

8. Ex. solicitado: Baciloscopia: 1ra M 2da M Otras (especificar N°) Cultivo

Prueba de Sensibilidad: Rápida Especificar: Convencional Especificar:

Otro examen (especificar):

9. Factores de riesgo TB resistente a medicamentos:

10. Fecha de obtención de la muestra: 11. Calidad de la muestra: Adecuada Inadecuada

12. Datos del solicitante:

Apellidos y Nombres:

Teléfono celular: Correo:

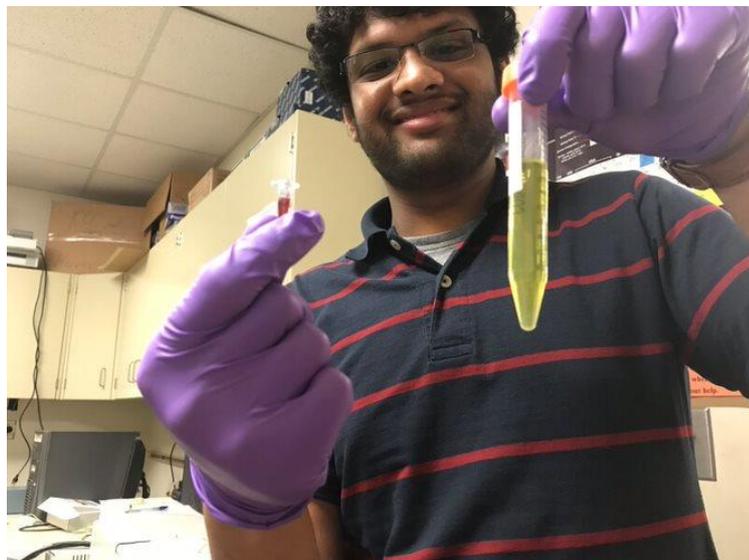
13. Observaciones:

14. RESULTADOS: (PARA SER LLENADO POR EL LABORATORIO)						
Fecha	Procedimiento	N° de Registro de Laboratorio	Aspecto macroscópico	Resultados (solo marcar casilla correspondiente)		
				Negativo Anotar (-)	N° BAAR/ Colonias	POSITIVO (Anotar: +, ++, +++ con color rojo)
	Baciloscopia					
	Cultivo					

15. Apellidos y Nombres del Laboratorista: 16. Fecha de entrega:

17. Observaciones:

Anexo 02: Preparación y lectura de nanopartículas



Anexo 03: Resolución de decanato que aprueba proyecto de investigación



UPAO

Facultad de Medicina Humana
DECANATO

Trujillo, **21 de diciembre del 2022**

RESOLUCION N° 3216-2022-FMEHU-UPAO

VISTO, el expediente organizado por Don (ña) **CASTAÑEDA PAREDES VALERIA SOFÍA** alumno (a) del Programa de Estudios de Medicina Humana, solicitando **INSCRIPCIÓN** de proyecto de tesis Titulado **"VALDEZ DEL MÉTODO DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO COMPARADA CON EL MÉTODO MOLECULAR GENEXPERT PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR"**, para obtener el **Título Profesional de Médico Cirujano**, y;

CONSIDERANDO:

Que, el (la) alumno (a) **CASTAÑEDA PAREDES VALERIA SOFÍA** ha culminado el total de asignaturas de los 12 ciclos académicos, y de conformidad con el referido proyecto revisado y evaluado por el Comité Técnico Permanente de Investigación del Programa de Estudios de Medicina Humana, de conformidad con el Oficio N° **1243-2022-CI-FMEHU-UPAO**;

Que, de la Evaluación efectuada se desprende que el Proyecto referido reúne las condiciones y características técnicas de un trabajo de investigación de la especialidad;

Que, de conformidad a lo establecido en la sección III – del Título Profesional de Médico Cirujano y sus equivalentes, del Reglamento de Grados y Títulos Artículo del 26 al 29, el recurrente ha optado por la realización del **Proyecto de Tesis**;

Que, habiéndose cumplido con los procedimientos académicos y administrativos reglamentariamente establecidos, por lo que el Proyecto debe ser inscrito para ingresar a la fase de desarrollo;

Estando a las consideraciones expuestas y en uso a las atribuciones conferidas a este despacho;

SE RESUELVE:

- Primero.- AUTORIZAR** la inscripción del Proyecto de Tesis Titulado **"VALDEZ DEL MÉTODO DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO COMPARADA CON EL MÉTODO MOLECULAR GENEXPERT PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR"**, presentado por el (la) alumno (a) **CASTAÑEDA PAREDES VALERIA SOFÍA** en el registro de Proyectos con el N° **4407** por reunir las características y requisitos reglamentarios declarándolo expedito para la realización del trabajo correspondiente.
- Segundo.- REGISTRAR** el presente Proyecto de Tesis con fecha **21.12.22** manteniendo la vigencia de registro hasta el **21.12.24**.
- Tercero.- NOMBRAR** como Asesor de la Tesis al profesor (a) **CASTAÑEDA SABOGAL ALEX NAPOLEON**.
- Cuarto.- DERIVAR** a la Señora Directora del Programa de Estudios de Medicina Humana para que se sirva disponer lo que corresponda, de conformidad con la normas Institucionales establecidas, a fin que el alumno cumpla las acciones que le competen.
- Quinto.- PONER** en conocimiento de las unidades comprometidas en el cumplimiento de lo dispuesto en la presente resolución.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.



c.c. Facultad de Medicina Humana
RMBU
Asesor(a)
Inscripción
y posterior
Archivo

Dra. KATHERINE LOZANO PERALTA
Decana (e)



Dra. Elena Adela Cáceres Andonaire
Secretaria Académica

Anexo 04: Constancia de Institución donde se ha desarrollado propuesta de investigación



PERU

Ministerio de Trabajo y Promoción del Empleo

Seguro Social de Salud EsSalud



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

RED ASISTENCIAL LA LIBERTAD
OFICINA DE CAPACITACION, INVESTIGACION Y DOCENCIA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA

PI N° 136 CIYE- O.C.IY D-RALL-ESSALUD-2022

CONSTANCIA N° 136

El presidente del Comité de Investigación de la Red Asistencial La Libertad – ESSALUD, ha aprobado el Proyecto de Investigación Titulado:

"VALIDEZ DIAGNÓSTICA DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO COMPARADA CON EL MÉTODO MOLECULAR GENEXPERT PARA DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR"

VALERIA SOFIA CASTAÑEDA PAREDES

Al finalizar el desarrollo de su proyecto deberá alcanzar un ejemplar del trabajo desarrollado vía virtual al email (capacitacionrall@gmail.com), según Directiva N° 04-IETSI-ESSALUD-2016, a la Oficina de Capacitación, Investigación y Docencia - GRALL, caso contrario la información del Trabajo de Investigación no será avalada por ESSALUD.

EsSalud
Comprometidos contigo

Trujillo, 18 de noviembre del 2022


Dr. Andrés Sánchez Reyna
PRESIDENTE
Comité de Investigación
Red Asistencial La Libertad



Dra. Rosa Lozano Ybañez
JEFE OCIYD-G
RED ASISTENCIAL LA LIBERTAD


NIT: 9070-2022-325

www.essalud.gob.pe

Jr. Independencia N° 543-547
Trujillo
La Libertad – Perú



Anexo 05: Constancia de asesor

CONSTANCIA DE ASESORÍA

El que suscribe Dr. Alex Napoleón Castañeda Sabogal, docente de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, hace constar que me comprometo a brindar asesoramiento correspondiente para el desarrollo de proyecto de tesis titulado "VALIDEZ DIAGNÓSTICA DE NANOPARTÍCULAS DE HIERRO COMPARADO CON EL MÉTODO MOLECULAR GENEXPERT PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR" de la estudiante VALERIA SOFÍA CASTAÑEDA PAREDES, de la Escuela de Medicina Humana.

Se expide el presente para los fines que estime conveniente.

Trujillo, 20 de marzo del 2024



DR. ALEX NAPOLEÓN CASTAÑEDA SABOGAL
C.M.P. 21221 R.N.E. 13725
MEDICO INFECTOLOGO
D.T.O. DE MEDICINA


Alex Napoleón Castañeda Sabogal
CMP 21221 – 13725
Docente UPAO ID 000041823

FE DE ERRATAS

Se advirtieron de ciertos errores a causa de la inaccesibilidad de ciertos instrumentos o materiales, y el retraso que esto implicaría, por lo que, a continuación, se detallan:

- En la pág. 21, en el subtítulo **3.4 << Técnicas e instrumentos de investigación >>** se menciona el uso de “microscopía electrónica”, debe decir “microscopía óptica”.
- En la pág. 32, en el título **V. << DISCUSIÓN >>** se menciona en el último párrafo, última línea, “...que no requiera de instrumentación sofisticada más que un microscopio electrónico”. Debe decir “**microscopio óptico**” en lugar del término “**microscopio electrónico**”.

LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES

Se realiza el levantamiento de observaciones brindadas por el **Dr. Victor Fernández Gómez** a la tesis titulada “Validez Diagnóstica de Nanopartículas de Hierro comparada con el Método Molecular GeneXpert para diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar”, las cuales se mencionan a continuación:

1. Incluir antecedentes de casuística de Tuberculosis Pulmonar en la Red asistencial de EsSalud en el periodo de estudio.

La información fue obtenida del Programa de Prevención y Control de Tuberculosis – Red Asistencial La Libertad, según el Informe Operacional de Tuberculosis, durante el año 2022, se examinaron 8255 pacientes sintomático respiratorio (SR), de los cuales 139 fueron diagnosticados con TB pulmonar a través de baciloscopía positiva; mientras que, durante el año 2023, se examinaron 12281 pacientes SR de los cuales 203 tuvieron baciloscopía positiva.

2. Incluir más artículos relacionados al tema de estudio que se compare con GeneXpert.

El estudio realizado se considera como una prueba de concepto, ya que el uso de nanopartículas de hierro como un biosensor para diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar está siendo estudiado y aún se encuentra en prueba, con la finalidad de demostrar su efectividad y así crear un proyecto más grande. Los únicos estudios disponibles actualmente relacionados al tema son 1) el de Gordillo – Marroquín et al. (2018), quienes emplearon un biosensor colorimétrico basado en nanopartículas magnéticas de hierro (NCBA) comparándolo con la baciloscopía en muestras paucibacilares de pacientes provenientes del programa de Tuberculosis de la Región Sierra, Jurisdicción Sanitaria II Chiapas, México; 2) el de Bhusal et al. (2018), quienes de igual manera emplearon el NCBA comparando con el Zielh Neelsen siendo el GeneXpert como Gold Standard en Nepal; 3) Briceño et al. (2019), quienes emplearon el NCBA comparado con Zielh Neelsen contrastado con el cultivo como Gold Standard en La Libertad, Perú. El uso de nanopartículas de hierro se está desarrollando por lo que es aún un método novedoso y todos estos estudios, incluida la tesis a presentar y la tesis de doctorado del asesor son parte de un programa de estudios basado en nanopartículas pertenecientes a un grupo internacional de 14 investigadores de 14 países diferentes llamado *Global Alliance for Rapid Diagnostics* (GARD) fundada por la creadora del método de nanopartículas, Dra. Evangelyn Alocilja.

3. Dentro de la metodología, describir cómo se realizó el proceso de nanopartículas en el hospital, en qué área, quién lo procesó y si tuvo entrenamiento; cómo se realiza el procesamiento y cómo se interpreta los resultados en el hospital.

Las nanopartículas de hierro fueron contribución del Grupo de Investigación Alocilja de la Universidad Estatal de Michigan, Estados Unidos. Dentro de la tesis lo que se busca es evaluar la efectividad que viene mostrando en estudios previos y la aplicabilidad de estas en el área de la nanomedicina en nuestro contexto nacional, no se pretende recrear las nanopartículas pues esto entraría en el campo de la biofísica e ingeniería.

Sin embargo, en el estudio de Briceño et al., se describe brevemente la preparación de estas sintetizando magnetita (Fe_3O_4) al usar cloruro de hierro hexahidratado como precursor en una mezcla de etilenglicol y acetato de sodio. Luego, se añadió quitosano previamente polimerizado para modificar la superficie de las nanopartículas y que actúe como cubierta de glucano de estas.

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio del Hospital de Alta Complejidad “Virgen de la Puerta”, y la lectura de estas fue por parte de personal entrenado por el Dr. Briceño, conocedor de la técnica.

Los resultados solo se interpretaron como positivo o negativo contrastando con el GeneXpert y el cultivo, mas no se puede extrapolar dichos valores obtenidos en el contexto hospitalario para toma de decisiones diagnóstica y/o terapéutica ya que, al ser un método que la Organización Mundial de la Salud o alguna entidad sanitaria haya aprobado aún, pues está a nivel de prueba de concepto y lo que se busca con esta tesis es sumar junto con los demás estudios proponerlo como un proyecto mayor, no es ético basarse en los resultados que brindaron las nanopartículas, por lo que estas no interfirieron en el flujo de la toma de decisiones para el diagnóstico de TBC pulmonar que se realiza habitualmente en la Red Asistencial La Libertad.

4. Buscar información que comparte este estudio de nanopartículas con otros métodos moleculares y su uso en ámbitos de escasos recursos con alta prevalencia de TBC para determinar su utilidad en zonas similares a la región.

A pesar de no haber más estudios similares a los expuestos anteriormente, se dispone de información que menciona la idea de emplear nanopartículas como biosensores para diagnóstico con sustancias que posean propiedades magnéticas

como el hierro en sus distintas formas (sea magnetita, maghemita, entre otros) ya que los ferritos especialmente tienen gran biocompatibilidad lo que los hace ideales para diagnóstico como se ha visto en el desarrollo de inmunoensayos tipo sándwich para detección de antígenos presentes en las micobacterias. Aparte, también hay investigaciones con nanopartículas magnéticas, pero con otras sustancias como estreptavidina y biotina para detección de mutación en el gen *rpoB* de la micobacteria que sería responsable de la resistencia a rifampicina. El uso de nanopartículas de hierro aún está siendo estudiado por lo que aún se debe determinar más adelante cómo actuará en formas extrapulmonares o multidrogoresistente.

Observaciones brindadas por el **Dr. Luis Manuel Angelats Silva** a la tesis titulada "Validez Diagnóstica de Nanopartículas de Hierro comparada con el Método Molecular GeneXpert para diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar", las cuales se mencionan a continuación:

5. En la pág. 21, Técnicas de instrumentación, precisar el Modelo, Marca del Microscopio electrónico (es microscopio electrónico de barrido (MEB) o transmisión (MET)).

FE DE ERRATAS. Se advirtieron de ciertos errores a causa de la inaccesibilidad de ciertos instrumentos o materiales, y el retraso que esto implicaría, por lo que, a continuación, se detallan:

- En la pág. 21, en el subtítulo **3.4 << Técnicas e instrumentos de investigación >>** se menciona el uso de "microscopía electrónica", debe decir "microscopía óptica".
- En la pág. 32, en el título **V. << DISCUSIÓN >>** se menciona en el último párrafo, última línea, "...que no requiera de instrumentación sofisticada más que un microscopio electrónico". Debe decir "**microscopio óptico**" en lugar del término "**microscopio electrónico**".

6. En la pág. 22, respecto al TUBO 1, dice "...Se procedió a hacer un extendido del preparado homogenizado y se observó al microscopio. Esta observación fue realizada exclusivamente por una persona a quien se le entrenó previamente en la preparación y lectura de la prueba...". Aquí es necesario mencionar qué microscopio se empleó, magnificación o aumento. Precisar metodología de preparación y observación de la muestra.

Se puede precisar con mayor detalle que el método de GMNP se apoya de la

coloración Zielh – Neelsen (ZN) como base, empleando fucsina básica como tinción, alcohol ácido como decolorante y azul de metileno como contratinción, siguiendo la preparación estandarizada por el MINSA y adicional a esto, es que se acoplan dos pasos más: Añadir las GMNP y usar el bastidor magnético. La concentración que se empleó (basado en hallazgos realizado por Briceño et al.) para el tubo 1 que fue señalado para la prueba de nanopartículas, se empleó 0.5mL de GMNP a una concentración de 10 mg/mL por 1mL de esputo. Este tubo ya contaba con 5mL de esputo previamente obtenido de la muestra principal del cual se tomó 1mL para la prueba específica con GMNP. Para homogenizar la muestra, se agitó manualmente 10 – 20 veces en promedio y se dejó 5 minutos a temperatura ambiente, para repetir la agitación manual. Luego de esto, es que se usó un imán para separar el complejo que se formó entre las GMNP y las micobacterias (complejos Mt – GMNP). Aquí el tiempo de separación magnética varió entre 5 a 10 minutos dependiendo de cuán viscoso era la muestra, y que esto influye en la formación de complejos Mt – GMNP. Posterior a ello, se descartó el sobrenadante. Luego, se añadió 500 uL buffer fosfato salino 0.01 M y se volvió a homogenizar la muestra mediante agitación manual unas 10 veces más. Finalmente, se realizó un frotis con 20 uL aproximadamente en una lámina portaobjeto para visualizar bajo un microscopio de luz a 100X objetivo empleando aceite de inmersión. Las micobacterias, por ser ácido alcohol resistentes quedaron teñidas de rojo/rosado debido a la coloración ZN y por la adición de GMNP, es que se visualizaron pequeños grumos marrones alrededor de las bacterias.

- 7. En la pág. 23, si bien las GMNP fueron proporcionadas, pero vale precisar características como tamaño, morfología. Son importantes estos parámetros de las nanopartículas dado que a menor tamaño tienen mayor eficacia por la razón de Superficie/volumen desde el punto de vista de nanotecnología. Al respecto, en el ANEXO 02 sólo hay imágenes, pero no se describe (se ilustra por lo menos) la preparación ni las técnicas o métodos de caracterización de las nanopartículas de hierro. ¿Puede hacer al menos un diagrama de flujo de obtención de las NPs?**

La Tesis versa sobre la aplicabilidad de un nuevo biosensor basado en nanopartículas para el diagnóstico de tuberculosis, mas no de la confección ni fabricación de estas ya que esto se realiza en el laboratorio de nanotecnología y biosensores de la Facultad de ingeniería de Michigan State University por alumnos de ingeniería, (no de medicina). El interés de probar su utilidad es la poca difusión en el área de diagnóstico de tuberculosis que puede ser en un futuro cercano en el

nuevo paradigma diagnóstico. Este sería el tercer o cuarto estudio específico en diagnóstico de tuberculosis usando estas nanopartículas, por lo que se considera estudio a nivel de proof-of-concept. Al ser un diseño propio de una Universidad extranjera, patentado por su autora, no es posible aún compartir el procedimiento hasta que se pruebe adecuadamente su utilidad. Esta tesis pretende ser parte de estos estudios. Una vez probado adecuadamente se difundirá el proceso para ser usado de manera global, de ser el caso.

La creadora del método: <https://www.egr.msu.edu/alocilja/>

● ● ● ● ● ●

WELCOME TO THE NANO-BIOSENSORS LAB!



Welcome to the Nano-Biosensors Lab! We exist to protect lives through rapid diagnostics.

Our goal is to save lives, protect the nation, and sustain the economy by diagnosing infectious and antimicrobial resistant diseases early, rapidly, inexpensively, and simply through point-of-care nanoparticle-based biosensors. Similarly, we protect consumers from falsified products through our pioneering research on blockchain/nano/bio-enabled anti-counterfeiting technologies.

Dr. Evangelyn C. Alocilja is a professor in the Department of Biosystems and Agricultural Engineering at Michigan State University. She is the founding program director of the Nano-Biosensors Lab, a faculty fellow on entrepreneurship at the Eli Broad College of Business - MSU, a fellow of the American Association for the Advancement of Science (AAAS), a senior member of the US National Academy of Inventors (NAI), and the founder of the Global Alliance for Rapid Diagnostics (GARD), a consortium of scientists worldwide committed to improving global health.



The screenshot shows the website for the Alocilja Nano-Biosensors Lab at Michigan State University. The header includes the university name, a search bar, and navigation links for Home, Projects, Publications, Presentations, & TED Talk, People, News, Global Alliance for Rapid Diagnostics, and Videos. The main content area features the title "NANOPARTICLES FOR RAPID DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS (TB)" and a brief description of the project: "This project synthesizes functionalized magnetic nanoparticles for increasing the sensitivity of acid-fast bacilli smear microscopy and develops biosensors for rapid TB detection in clinical samples."

En el estudio realizado por Briceño et al., se halló a través de microscopía electrónica de transmisión la caracterización de las nanopartículas empleadas. En cuanto a morfología, se las observó de forma esférica; usando un microscopio láser, se determinó que el tamaño promedio era de 159 +- 88 nm; con un sistema de dispersión de luz dinámica, se encontró que la conductividad promedio fue de 0.06 +- 0.04 mS/cm y su superficie estaba cargada positivamente. Además, que era altamente soluble en agua y se mantiene bien a temperatura ambiente (25 a 45°C).

- 8. En la Metodología incluir un párrafo indicando en base a que determina la sensibilidad de detección a través de las imágenes por microscopía (¿electrónica de barrido u óptica?) usando GMNP. Puede tomar como referencia el párrafo resaltado en amarillo en la pág 31.**

Se ha especificado que la sensibilidad y especificidad, así como el valor predictivo positivo y negativo, del método no se basa en imágenes si no en la contrastación

existente entre las pruebas positivas y negativas determinadas por un observador único usando GMNP y las pruebas positivas y negativas determinadas por el GeneXpert, operado por otra persona que desconocía el resultado de las pruebas con GMNP. No se está usando imágenes de microscopía electrónica como se menciona en la Fe de erratas.

9. En resultados es necesario mostrar imágenes obtenidas por microscopía, sustentando que ha funcionado el método por GMPN, es decir, según la literatura se debe observar "...grumos rojos en forma de varilla rodeados de nanopartículas marrones..."

