

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE MEDICINA

**“SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA PARA EL
DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE MENINGITIS
TUBERCULOSA: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICO**

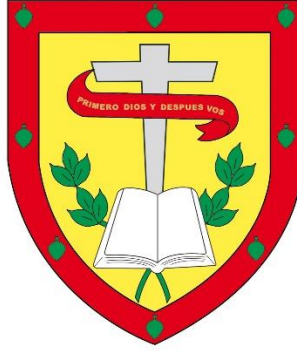
AUTOR: PABLO XAVIER SARMIENTO MOLINA

DIRECTOR: DR. JULIO OJEDA

CUENCA - ECUADOR

2021

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE MEDICINA

**“SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA PARA EL DIAGNÓSTICO
TEMPRANO DE MENINGITIS TUBERCULOSA: REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICO**

AUTOR: PABLO XAVIER SARMIENTO MOLINA

DIRECTOR: DR. JULIO OJEDA

CUENCA - ECUADOR

2021

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD

Pablo Xavier Sarmiento Molina portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0104872064**. Declaro ser el autor de la obra: **“SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE MENINGITIS TUBERCULOSA”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 24 de Noviembre del 2021


Pablo Xavier Sarmiento Molina
C.I. 0104872064

DEDICATORIA

A mis padres Enrique Sarmiento y Cristina Molina, quienes fueron un pilar fundamental en mi vida, y me enseñaron a salir adelante con un apoyo incondicional en cada instante de mi vida sin importar mis caídas y mis logros.

A mis hermanos Santiago y Jocelyn quienes con sus consejos y guías han sido parte fundamental de la construcción de este proyecto de vida.

A mi hija Khloe Isabella que a pesar del destino y tristes designios de la vida no está a mi lado pero que nunca salió de mi mente y corazón.

A mi Sammy que por obra del destino llegó a mi vida con amor y me ayudó a encontrar mi rumbo.

AGRADECIMIENTO

Primero al ser supremo a mi Dios que con sus enseñanzas me guio en un camino lleno de obstáculos, pero con gratificantes premios, A mis padres que cada día estuvieron pendiente de mi y de mi avance a mi Tutor Julio Ojeda que estuvo presente en cada momento hasta la culminación de mi trabajo de graduación, a todos que de una o otra manera aportaron en con un granito de arena en este logro tan importante en mi vida.

RESUMEN

1.1 Antecedentes. La tuberculosis meníngea (TBM) es una forma grave de tuberculosis extrapulmonar y su diagnóstico precoz es muy difícil y conduce a presentar una discapacidad grave o morir. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la precisión de la secuenciación metagenómica de próxima generación (mNGS) para TBM e identificar una nueva prueba para el diagnóstico temprano de TBM.

1.2 Metodología. Se buscaron artículos publicados en Embase, PubMed, Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure y Wanfang Data hasta el 30 de octubre de 2021 en busca de estudios que evaluaran la eficacia de mNGS para el diagnóstico de TBM. Luego, se comparó la precisión entre mNGS y las pruebas estándar.

1.3 Resultados. Los estudios más representativos demuestran superioridad de la mNGS sobre las demás evaluaciones de referencia, alcanzando una sensibilidad de 80% y especificidad del 100%.

1.4 Palabras clave: Tuberculosis, Meningeal"[Mesh] OR "Meningeal Tuberculoses" OR "Meningeal Tuberculosis" OR "Tuberculoses, Meningeal" OR "TB Meningitis"

ABSTRACT

2.1 Background: Meningeal tuberculosis (Meningeal TBM) is a severe form of extrapulmonary tuberculosis and its early diagnosis is very difficult and leads to severe disability or death. The present study aimed to evaluate the accuracy of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for TBM and to identify a new test for early diagnosis of TBM.

2.2 Methodology: We searched Embase, PubMed, Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure, and Wanfang Data published articles up to October 30, 2021, for studies evaluating the efficacy of mNGS for TBM diagnosis. We then compared the accuracy between mNGS and standard tests.

2.3 Results: The most representative studies demonstrate the superiority of mNGS over the other reference assessments, achieving a sensitivity of 80% and specificity of 100%.

2.4 Keywords: Tuberculosis, Meningeal"[Mesh] OR "Meningeal Tuberculosis" OR "Meningeal Tuberculosis" OR "Tuberculoses, Meningeal" OR "TB Meningitis"

ÍNDICE

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad	I
UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	IV
1. RESUMEN	V
1.1 Antecedentes.	V
1.2 Metodología.	V
1.3 Resultados.	V
1.4 Palabras clave:.....	V
2. ABSTRACT	VI
2.1 Background:	VI
2.2 Methodology:.....	VI
2.3 Results:	VI
2.4 Keywords:	VI
ÍNDICE.....	VII
3. INTRODUCCIÓN.	1
4. OBJETIVO.	2
5. METODOLOGÍA.	2
5.1 Diseño.	2
5.2 Estrategia de búsqueda.	2
5.3 Criterios de elegibilidad.....	3
5.4 Pacientes.	4
5.5 Bibliométrica.	4
6. RESULTADOS.	4
1.1. Tabla 1. Signos y síntomas en casos de Tuberculosis Meníngea	7
7. DISCUSIÓN	7
8. CONCLUSIONES	10
9. BIBLIOGRAFÍA	11
10. GLOSARIO	14
11. ANEXOS	16
1.2. Tabla 1. Signos y síntomas en casos de Tuberculosis Meníngea	16

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO
INSTITUCIONAL..... 17

Secuenciación metagenómica para el diagnóstico temprano de meningitis tuberculosa: revisión bibliográfica

INTRODUCCIÓN.

La Tuberculosis (TB) es una amenaza para la salud mundial (1). Una buena parte de individuos mueren como producto de enfermedades relacionadas con la alta proporción de infectados anualmente con TB. En el año 2018, hubo alrededor de 10 millones de nuevos casos alrededor del mundo y cerca de 1.45 millones de muertes por TB (2). Además, de entre todas las causas infecciosas de muerte, la TB es la principal (2). Adicional a esto, el agente que produce la tuberculosis a nivel pulmonar (TBP), *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) puede causar también tuberculosis extrapulmonar (TBEP) (3). Entre todos los tipos de TBEP, la Tuberculosis Meníngea (TBM) es el tipo de TBEP más letal.

Los casos de TBM a nivel mundial son relativamente pocos, (1%–5%) de todos los casos nuevos de TB, el 50% de ellos pueden morir o presentar discapacidad severa (4). La dificultad para obtener un diagnóstico y tratamiento tempranos, es la principal causa de esta cifra de muertes (5), por tanto, el diagnóstico temprano puede mejorar significativamente el pronóstico de la TBM. Las técnicas convencionales para detectar *mycobacterium* no son suficientes en escenarios tempranos de la enfermedad (4). El método más usado que resulta rápido, sencillo y disponible es la baciloscopia, sin embargo, su escasa sensibilidad (22-80% de los cultivos positivos) (6), ha limitado la capacidad diagnóstica de la prueba. El frotis de bacilos acidorresistentes (BAAR) es el método más económico y conveniente para el diagnóstico de TB. Sin embargo, su sensibilidad en el líquido cefalorraquídeo (LCR) es extremadamente baja ($\leq 15\%$), especialmente en ausencia de microscopistas profesionales en el laboratorio (6). El cultivo de micobacterias en el LCR y el frotis de BAAR tiene una sensibilidad extremadamente baja y estos métodos requieren mucho tiempo. Por tanto, los resultados de los cultivos no pueden utilizarse como indicador de un diagnóstico precoz (7). Por tanto, debería mejorarse el diagnóstico precoz y rápido de la TBM.

En este contexto, las pruebas de diagnóstico molecular, como por ejemplo las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), siglas en inglés, han facilitado el diagnóstico temprano y rápido de la TB (8). De manera representativa la *Xpert® MTB / RIF* (Cepheid, Sunnyvale, CA) es un NAAT representativo que se utiliza ampliamente no solo para la detección de MTB, sino, además, para la resistencia bacteriana a la

Rifampicina, todo en una misma prueba (9). Adicional, de acuerdo con la recomendación de la Organización Mundial de la Salud, se utiliza como prueba inicial para el diagnóstico de TBM (10).

Con el avance de la tecnología de diagnóstico molecular, se desarrolla la secuenciación metagenómica de próxima generación (mNGS), siglas en inglés, que nos permite obtener información sobre la secuencia genómica del ADN de los microorganismos. Esta tecnología innovadora tiene un método objetivo y detallado acerca del contenido total del ADN o ARN de todos los patógenos actualmente conocidos (11). Esto ha hecho que su uso se extienda de manera creciente (12). Definitivamente supera los métodos usados actualmente en países en vías de desarrollo, lo relevante además, que la mNGS podría detectar microorganismos patógenos de una amplia gama de muestras clínicas, incluyendo LCR (11, 13, 14). Incluso, estudios recientes han demostrado que la sensibilidad y especificidad de mNGS para detectar bacterias patógenas son significativamente mejores que las del cultivo (15). Pese a ello hay estudios controversiales sobre la detección de ADN de MTB basada en mNGS para TBM (16, 17). Por lo tanto, este estudio evaluó y comparó la eficacia de mNGS para el diagnóstico de TBM utilizando muestras de LCR versus las pruebas estándar de referencia, como nueva técnica para el diagnóstico temprano de TBM.

OBJETIVO.

Describir de manera comparativa el método de secuenciación metagenómica para el diagnóstico temprano de la Meningitis Tuberculosa versus el estándar de referencia.

METODOLOGÍA.

4.1 Diseño. Se realiza un estudio de tipo documental con estrategia sistematizada.

4.2 Estrategia de búsqueda. La estrategia utilizada para el diseño de la pregunta de investigación fue PICO.

Pacientes: Se incluyó los estudios con pacientes diagnosticados con TBM tanto vía mNGS, como con las pruebas estándar de referencia, sin restricción de género, edad o nación.

Intervención: Los estudios en los que el diagnóstico se realizó mediante mNGS

Comparable: Los estudios en los que se usó como herramienta diagnóstica todas las pruebas estándar de referencia (cultivo de MTB, la reacción en cadena de la

polimerasa (PCR) y la tinción de bacilo acidorresistente (AFB) por sus siglas en inglés).

Outcomes: Resultados en español, tanto de los métodos convencionales, como de la mNGS.

No hubo restricciones de idioma en nuestro proceso. La estrategia de búsqueda de PubMed se enumeró de la siguiente manera:

#1 "Tuberculosis, Meningeal"[Mesh] OR "Meningeal Tuberculoses" OR "Meningeal Tuberculosis" OR "Tuberculoses, Meningeal" OR "TB Meningitis" OR "TB Meningitides" OR "Tubercular Meningitis" OR "Meningitides, Tubercular" OR "Meningitis, Tubercular" OR "Tubercular Meningitides" OR "Meningitis, Tuberculous" OR "Meningitides, Tuberculous" OR "Tuberculous Meningitides" OR "Tuberculous Meningitis" OR "Tuberculosis Meningitis" OR "Meningitides, Tuberculosis" OR "Meningitis, Tuberculosis" OR "Tuberculosis Meningitides" OR "Tuberculous Hypertrophic Pachymeningitis" OR "Hypertrophic Pachymeningitides, Tuberculous" OR "Hypertrophic Pachymeningitis, Tuberculous" OR "Pachymeningitides, Tuberculous Hypertrophic" OR "Pachymeningitis, Tuberculous Hypertrophic" OR "Tuberculous Hypertrophic Pachymeningitides"

#2 "Extrapulmonary tuberculosis" OR "Extra pulmonary tuberculosis"

#3 "Meningitis"[Mesh] OR Meningitides OR Pachymeningitis OR Pachymeningitides

#4 "Cerebrospinal Fluid"[Mesh] OR "Cerebrospinal Fluids" OR "Fluid, Cerebrospinal" OR "Fluids, Cerebrospinal" OR "Cerebro Spinal Fluid" OR "Cerebro Spinal Fluids" OR "Fluid, Cerebro Spinal" OR "Fluids, Cerebro Spinal" OR "Spinal Fluid, Cerebro" OR "Spinal Fluids, Cerebro"

#5 "Metagenomic Next-Generation Sequencing" OR mNGS

Se utilizaron fórmulas de búsqueda similares para las bases de datos Cochrane Library, Embase, CNKI y Wanfang.

4.3 Criterios de elegibilidad. Se incluyeron diferentes tipos de estudios, como estudios de casos y controles, retrospectivos y prospectivos. Se incluyeron los estudios originales de texto completo que evaluaron la eficacia de mNGS para el diagnóstico de MTB. Los valores verdadero positivo (TP), falso positivo (FP), falso negativo (FN) y verdadero

negativo (TN) del ensayo se pueden extraer o calcular directamente de los estudios. Sin embargo, se excluyeron los informes de casos, los artículos escritos en idiomas distintos del español y el inglés, los estudios con <10 muestras, los informes de conferencias y los resúmenes sin artículos completos.

Se realizaron búsquedas de estudios que evaluaron la precisión diagnóstica de mNGS para MTB en Embase, PubMed, Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) y Wanfang Database hasta el 30 de octubre de 2021.

4.4 Pacientes. Se seleccionaron estudios con pacientes diagnosticados de MTBM vía mNGS, sin restricciones de género, edad o nación. Por otro lado

4.5 Bibliométrica. Se seleccionó artículos publicados en revistas rankeadas entre cuartil 1-4, según el portal Scimago Journal Rank.

RESULTADOS.

La aplicación de la mNGS en el diagnóstico de la TBM se mantiene poco caracterizada, pese a sus beneficios en la detección de resistencia bacteriana. Aquí, analizamos algunos estudios muy destacados que comparan la diferencia de efectividad, en términos de sensibilidad y especificidad entre las pruebas estándar de referencia (cultivo de MTB, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la tinción de bacilo acidorresistente (AFB) por sus siglas en inglés) y la mNGS.

En el estudio realizado por Wang et al. (15), de diseño retrospectivo se detallaron los datos de pacientes con TBM que habían tomado tanto mNGS como pruebas convencionales, incluido el cultivo de MTB, la PCR y la AFB, 23 pacientes diagnosticados con TBM 12 fueron clasificados como diagnóstico definitivo y 11 con diagnóstico clínico, es decir, basándose en las manifestaciones clínicas, en la evidencia del patógeno, parámetros del LCR, imágenes cerebrales, y respuesta al tratamiento. Con la mNGS se identificó secuencias para MTB en 18 muestras (18/23, 78.26%). En los pacientes con diagnóstico definitivo de TBM, la sensibilidad de mNGS, AFB, PCR, y cultivo para detectar MTB en la primera muestra de LCR fue de 66.67, 33.33, 25, and 8.33%, respectivamente. La especificidad de cada método fue del 100%.

Yan et al. (16), diseñaron un estudio con diseño también retrospectivo, en el cual incluyeron a 51 pacientes, de los cuales, 45 fueron diagnosticados como TBM (38 definitivos, 5 probables, 2 posibles) y 6 casos sin TBM. Utilizando el diagnóstico final como estándar de referencia, la sensibilidad, especificidad, VPP (valor predictivo positivo) y VPN (valor predictivo negativo) de mNGS en LCR para TBM fueron 84,44%

(38/45, 69,94% -93,01%), 100% (6/6, 51,68% -100%), 100% (40/40, 88,57% -100%) y 46,15% (6/13, 20,40% -73,88%). La sensibilidad diagnóstica de mNGS (84,4%) fue significativamente mayor que la de AFB (0%, P = 0,000), cultivo usando técnica MGIT960® (22,2%, P = 0,000), MTB PCR (24,4%, P = 0,000) y Xpert MTB / RIF (40%, P = 0,000).

En un estudio, en cambio de diseño prospectivo, realizado por Zhou et al. (17), encontraron que de 123 pacientes que se presentaron con sospecha de infección activa por TB, 105 pacientes se sometieron a pruebas de tuberculosis sincrónicas con cultivo, Xpert y mNGS en muestras clínicas que incluían esputo, líquido cefalorraquídeo, pus, etc. En total, 45 de 105 participantes tenían un diagnóstico clínico final de infección activa por tuberculosis, incluidos 13 casos de tuberculosis pulmonar y 32 casos de tuberculosis extrapulmonar. En comparación con el diagnóstico clínico final, la mNGS produjo una sensibilidad del 44% para todos los casos de TB activa, que fue similar a Xpert (42%) pero mucho más alta que los métodos convencionales (29%). Con un solo resultado falso positivo, mNGS tuvo una especificidad del 98% en nuestro estudio. La mNGS produjo una sensibilidad significativamente mayor en las muestras de pretratamiento (76%) que en las de postratamiento (31%) (P = 0,005), lo que también fue cierto para Xpert y los métodos convencionales. Combinando Xpert y mNGS juntos, el estudio identificó 27 de 45 casos de TB activa (60%), incluidos los 13 casos identificados con el método convencional, y el resultado alcanzó significación estadística en comparación con los métodos convencionales (prueba de McNemar P <0,001).

Por otro lado, en Beijing China se realiza un estudio multicéntrico en 6 hospitales docentes, realizado por Xing et al. (18), se inscribieron 213 pacientes con enfermedades infecciosas y no infecciosas del SNC desde noviembre de 2016 hasta mayo de 2019; la tasa de detección positiva de mNGS de infecciones definidas del SNC fue del 57,0%. Con un número de lectura específico de la especie (SSRN) ≥ 2 , el rendimiento de mNGS en el diagnóstico de encefalitis viral definida y / o meningitis fue óptimo (área bajo la curva [AUC] = 0,659, intervalo de confianza del 95% [IC] = 0,566-0,751); la tasa de positividad fue del 42,6%. Con un número de lectura específico de género ≥ 1 , el rendimiento de mNGS en el diagnóstico de meningitis tuberculosa (definitiva o probable) fue óptimo (AUC = 0,619, IC del 95% = 0,516-0,721); la tasa de positividad fue del 27,3%. A SSRN ≥ 5 o 10, el rendimiento diagnóstico fue óptimo para la meningitis bacteriana definida (AUC = 0,846, IC del 95% = 0,711-0,981); la sensibilidad fue del 73,3%. Las sensibilidades de mNGS (a SSRN ≥ 2) en el diagnóstico de meningitis criptocócica y aspergilosis cerebral fueron 76,92 y 80%, respectivamente.

En un estudio realizado por Garg (19) con los métodos fenotípicos convencionales (microscopía y cultivo de líquido cefalorraquídeo), en más del 50% de los pacientes no se consigue la confirmación microbiológica. Además, estos métodos tardan mucho tiempo en proporcionar resultados concluyentes. El resultado negativo no descarta la infección del cerebro por *Mycobacterium tuberculosis*. Los métodos genotípicos, como la reacción en cadena de la polimerasa IS 6110 y el sistema de ensayo automatizado Xpert M MTB / RIF, mejoraron el diagnóstico de TBM, ya que los resultados están disponibles rápidamente. El ensayo Xpert MTB / RIF, además, detecta la resistencia a la rifampicina. Xpert MTB / RIF Ultra es una tecnología avanzada que tiene una sensibilidad más alta (60-70%).

El rendimiento de Xpert MTB / RIF se probó en 1730 pacientes con sospecha de estar afectados por MDR-TB pulmonar o susceptible a fármacos de Perú, Azerbaiyán, Sudáfrica e India. Entre los pacientes con cultivo positivo, una única prueba Xpert MTB / RIF directa identificó el 98,2% (551 de 561) de los casos de tuberculosis con baciloscopia positiva y el 72,5% (124 de 171) de aquellos con baciloscopia negativa. La prueba fue específica en 604 (99,2%) de 609 pacientes no afectados por TB. Una segunda prueba Xpert MTB / RIF entre pacientes con baciloscopia de esputo negativo y cultivo positivo de tuberculosis aumentó la sensibilidad en un 12,6% y una tercera en un 5,1%, hasta alcanzar el 90,2%. En comparación con la DST fenotípica, el ensayo Xpert MTB / RIF identificó correctamente el 97,6% (200 de 205) de los pacientes con cepas resistentes a la rifampicina y el 98,1% (504 de 514) de los que tenían cepas sensibles a la rifampicina. La secuenciación resolvió todos los casos menos dos a favor de Xpert MTB / RIF (20).

El paciente habitual con TBM se presenta con una enfermedad febril progresiva subaguda que pasa por tres fases discernibles. La enfermedad comienza con un pródromo de malestar, lasitud, febrícula y cefalea intermitente, a veces una vaga molestia en el cuello o la espalda y un cambio sutil de personalidad. En 2 a 3 semanas, surge una fase meningítica más bien definida a medida que el paciente experimenta cefalea prolongada, meningismo, vómitos, confusión leve y varios grados de parálisis y signos del tracto largo (21-23). En esta etapa, el ritmo de la enfermedad puede acelerarse rápidamente a la fase paralítica: delirio seguido de estupor y coma, convulsiones, déficits múltiples de CN, hemiparesia y hemiplejía. En el caso no tratado, la muerte ocurre comúnmente dentro de las 5 a 8 semanas posteriores al inicio de la enfermedad. En los niños, el dolor de cabeza es menos común, mientras que la irritabilidad, la inquietud, la anorexia y los vómitos prolongados son síntomas prominentes, especialmente en los muy pequeños (24). Las convulsiones son más

comunes en los niños y pueden ocurrir en las primeras etapas de la enfermedad. La Tabla 1 enumera los síntomas y signos comunes al momento de la presentación, y la frecuencia informada, para 195 pacientes según los datos recopilados de cuatro series clínicas en países separados del mundo occidental (22, 23, 25, 26).

1.1. *Tabla 1. Signos y síntomas en casos de Tuberculosis Meníngea*

SIGNOS Y SÍNTOMAS	FRECUENCIA REPORTADA
Fiebre	20-70
Cefalea	25-70
Irritación meníngea	35-90
Letargia/somnolencia	25-30
Vómitos	30-70
Confusión/delirium	30-65
Signos neurológicos focales	25-40
Parálisis	20-35
Hemiparesia	5-30

Fuente: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28281443/> (27).

En una revisión sistemática realizada por Seo (28), solo en estudios pediátricos, se seleccionaron 8 estudios que incluían 652 muestras. La sensibilidad y la especificidad combinadas de Xpert para todas las muestras fueron del 71% (IC del 95%: 0,63 a 0,79) y del 97% (IC del 95%: 0,95 a 0,99), respectivamente. El área bajo la curva de resumen de características operativas del receptor (sROC) fue 0,89. Para los tejidos o aspirados de los ganglios linfáticos, la sensibilidad y la especificidad combinadas de Xpert fueron del 80% (IC del 95%: 0,70 a 0,88) y del 94% (IC del 95%: 0,89 a 0,97), respectivamente; para el líquido cefalorraquídeo (LCR), estos valores fueron 42% (IC del 95%: 0,22 a 0,63) y 99% (IC del 95%: 0,95 a 1,00), respectivamente.

DISCUSIÓN

La tuberculosis sigue siendo la principal causa de mortalidad a pesar de todo tipo de desarrollos en cuidados médicos, incluidos diagnósticos y medicamentos. Representa

una amenaza continua a los programas y servicios de salud y un desafío para los profesionales de la salud, esta situación se agrava en sistemas de salud con infraestructura y tecnología deficientes. La coinfección con el VIH, es el factor responsable de la escalada de la tuberculosis.

La mayoría de los casos de infección con MTB da como resultado una infección latente asintomática y aproximadamente una de cada diez infecciones latentes progresa a TB activa si no se trata, con una mortalidad de alrededor del 50 por ciento de los infectados. La situación se agrava, además, con la aparición de resistencia a un fármaco, o a múltiples fármacos

La TB es difícil para diagnosticar debido a la aparición tardía de los síntomas, de modo que una persona actúa como reservorio de bacilos de tuberculosis con potencial para infectar a otros. Del mismo modo, se hace difícil de detectar mediante frotis de esputo convencional microscopía (baciloscopia).

El diagnóstico microbiológico de la TB, desde un inicio se ha basado en métodos convencionales como la microscopia, el cultivo y la identificación fenotípica. El método más rápido y disponible es la baciloscopia, que se basa en la observación directa de bacilos ácido-alcohol resistentes mediante diversas tinciones (Ziehl-Neelsen o auramina). Sin embargo, su escasa sensibilidad global (22-80% de los cultivos positivos) (29), ha restringido su capacidad diagnóstica, sobre todo en las áreas geográficas donde la incidencia de la TB es baja y en las formas extrapulmonares de esta

En este escenario y con los resultados expuestos, las pruebas genotípicas brindan esperanzador panorama, para quienes aún no están familiarizados con esta nueva técnica me permito exponer que, en cuanto a la metagenómica, Segre (4), hace una definición bastante clara en el sitio web del Instituto Nacional del Genoma Humano de la siguiente manera: "Metagenómica está formada por dos palabras "meta" y "genómica". La genómica es la obtención de la secuencia de ADN, pero meta implica que lo estamos haciendo al mismo tiempo con muchos organismos. Y metagenómica se utiliza generalmente cuando estamos estudiando las comunidades microbianas en el que no se pueden separar un microorganismo de otro. Como que podría haber dos bacterias que crecen juntas, así que cuando se toma la secuencia de ADN, se está obteniendo la secuencia de ADN de ambas a la vez". Una vez tomada la lectura del ADN-ARN, son traducidos a un lenguaje que pueda ser leído (secuenciación) y se compara con todas las huellas genéticas conocidas de las bases de datos existentes

Por tanto, la metagenómica es el estudio de una colección del material genético (genomas) de una comunidad mixta de organismos.

En cuanto a la TBM, la secuencia de eventos que conduce a la enfermedad clínica neurológica comienza con la diseminación hematológica de *Mycobacterium tuberculosis* (bacilemia) que sigue a la infección pulmonar primaria o la TB de reactivación tardía en otras partes del cuerpo. Sin embargo, a diferencia de la patogenia de la meningitis bacteriana piógena, esta bacteriemia no traspasa la barrera hematoencefálica para producir una invasión inmediata de las meninges y el espacio subaracnoideo. En cambio, durante la fase bacilémica, un número escaso de bacilos se dispersa por la sustancia del cerebro, las meninges y los tejidos adyacentes, lo que lleva a la formación de múltiples focos granulomatosos pequeños de diversos tamaños y grados de encapsulación (tubérculos). La proliferación y la coalescencia continuas de los tubérculos dan como resultado focos caseosos más grandes. Tales lesiones, si se localizan adyacentes al ependyma o pia, pueden posteriormente romperse hacia el espacio subaracnoideo, produciendo meningitis. Lo que podría explicar lo insidioso de las manifestaciones clínicas.

Las pruebas genotípicas utilizan transcripción mediada con amplificación de una porción del genoma específico para el complejo MTB, lo que permite la identificación de los bacilos en el LCR. Además, detectan mutaciones en genes que se sabe que están asociados con resistencia a los fármacos antituberculosos. Estas dos características de mNGS, tiene una ventaja enorme sobre sus comparables actuales, por el hecho de anticiparse en el diagnóstico y permitir iniciar un tratamiento oportuno aún cuando las cifras de sensibilidad no son tan altas como se esperaría.

CONCLUSIONES

La situación de los diagnósticos TBM seguirá siendo sombría, si las tecnologías de bajo costo no están ampliamente disponibles. Hasta entonces, los médicos siguen confiando en su perspicacia clínica para iniciar un tratamiento empírico contra la tuberculosis.

Métodos genotípicos son rápidos y tienen mayor sensibilidad y especificidad.

La OMS ahora recomienda Xpert sobre las pruebas convencionales para el diagnóstico de TB en los ganglios linfáticos y otros tejidos, y como la prueba inicial preferida para el diagnóstico de meningitis por TB. Esta prueba está disponible en el Ecuador desde el año 2015 en los laboratorios del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI).

En personas que se presume que tienen TB extrapulmonar, el método de mNGS, o el Xpert, pueden ser útiles para confirmar el diagnóstico. La sensibilidad de Xpert varía entre diferentes muestras extrapulmonares, mientras que, para la mayoría de las muestras, la especificidad es alta, la prueba rara vez arroja un resultado positivo para personas sin TB (definida por cultivo). Xpert es preciso para la detección de resistencia a la rifampicina. Para las personas con presunta meningitis tuberculosa, el tratamiento debe basarse en el juicio clínico y no debe retenerse únicamente en un resultado de Xpert, como es práctica común cuando los resultados del cultivo son negativos.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Geneva, Switzerland; 2019.
2. Donovan J, Thu DDA, Phu NH, Dung VTM, Quang TP, Nghia HDT, et al. Xpert MTB/RIF Ultra versus Xpert MTB/RIF for the diagnosis of tuberculous meningitis: a prospective, randomised, diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(3):299–307
3. Yu G, Zhong F, Ye B, Xu X, Chen D, Shen Y. Diagnostic Accuracy of the Xpert MTB/RIF Assay for Lymph Node Tuberculosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int.* 2019;2019(1):1-12.
4. Cresswell FV, Tugume L, Bahr NC, Kwizera R, Bangdiwala AS, Musubire AK, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for the diagnosis of HIV-associated tuberculous meningitis: a prospective validation study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(3):308–17.
5. Sheu JJ, Yuan RY, Yang CC. Predictors for outcome and treatment delay in patients with tuberculous meningitis. *Am J Med Sci.* 2009; 338: 134–39.
6. Bahr NC, Boulware DR. Methods of rapid diagnosis for the etiology of meningitis in adults. *Biomark Med.* 2014; 8: 1085–103.
7. Bahr NC, Nuwagira E, Evans EE, Cresswell FV, Bystrom PV, Byamukama A, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculous meningitis in HIV-infected adults: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(1):68–75.
8. Tyagi S, Sharma N, Tyagi JS, Haldar S. Challenges in pleural tuberculosis diagnosis: existing reference standards and nucleic acid tests. *Future Microbiol.* 2017; 12:1201–18.
9. Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, Dheda K, Denkinger CM, Schumacher SG, et al. Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;8(8):4-248.
10. Bahr NC, Marais S, Caws M, van Crevel R, Wilkinson RJ, Tyagi JS, et al. Tuberculous Meningitis International Research Consortium. GeneXpert MTB/Rif to Diagnose Tuberculous Meningitis: Perhaps the First Test but not the Last. *Clin Infect Dis.* 2016;62(9):1133–5.
11. Miao Q, Ma Y, Wang Q, Pan J, Zhang Y, Jin W, et al. Microbiological Diagnostic Performance of Metagenomic Next-generation Sequencing When Applied to Clinical Practice. *Clin Infect Dis.* 2018;67(2):231–40.

12. i XC, Zhou LF, Li CY, Shi YJ, Wu ML, Zhang Y, et al. Reduction of Human DNA Contamination in Clinical Cerebrospinal Fluid Specimens Improves the Sensitivity of Metagenomic Next-Generation Sequencing. *J Mol Neurosci*. 2020;70(5):659–66.
13. Ai JW, Li Y, Cheng Q, Cui P, Wu HL, Xu B, et al. Diagnosis of local hepatic tuberculosis through next-generation sequencing: Smarter, faster and better. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(3):178–81.
14. Parize P, Muth E, Richaud C, Gratigny M, Pilmis B, Lamamy A, et al. Untargeted next-generation sequencing-based first-line diagnosis of infection in immunocompromised adults: a multicentre, blinded, prospective study. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23(8):574.
15. Wang S, Chen Y, Wang D, Wu Y, Zhao D, Zhang J, et al. The Feasibility of Metagenomic Next-Generation Sequencing to Identify Pathogens Causing Tuberculous Meningitis in Cerebrospinal Fluid. *Front Microbiol*. 2019;10:1993.
16. Yan L, Sun W, Lu Z, Fan L. Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of Tuberculosis meningitis in HIV-negative population. *Int J Infect Dis*. 2020;96:270-75.
17. Zhou X, Wu H, Ruan Q, Jiang N, Chen X, Shen Y, et al. Clinical Evaluation of Diagnosis Efficacy of Active Mycobacterium tuberculosis Complex Infection via Metagenomic Next-Generation Sequencing of Direct Clinical Samples. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9(1):1-9.
18. Xing XW, Zhang JT, Ma YB, He MW, Yao GE, Wang W, Qi XK, Chen XY, Wu L, Wang XL, Huang YH, Du J, Wang HF, Wang RF, Yang F, Yu SY. Metagenomic Next-Generation Sequencing for Diagnosis of Infectious Encephalitis and Meningitis: A Large, Prospective Case Series of 213 Patients. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:88.
19. Garg RK. Microbiological diagnosis of tuberculous meningitis: Phenotype to genotype. *Indian J Med Res*. 2019;150(5):448-57.
20. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med*. 2010;363(11):1005-15.

21. Hinman AR. Tuberculous meningitis at Cleveland Metropolitan General Hospital 1959 to 1963. *Am Rev Respir Dis.* 1967;95(4):670-3.
22. Kennedy DH, Fallon RJ. Tuberculous meningitis. *JAMA.* 1979;241(3):264-8.
23. Kent SJ, Crowe SM, Yung A, Lucas CR, Mijch AM. Tuberculous meningitis: a 30-year review. *Clin Infect Dis.* 1993;17(6):987-94.
24. Farinha NJ, Razali KA, Holzel H, Morgan G, Novelli VM. Tuberculosis of the central nervous system in children: a 20-year survey. *J Infect.* 2000;41(1):61-8.
25. Porkert MT, Sotir M, Parrott-Moore P, Blumberg HM. Tuberculous meningitis at a large inner-city medical center. *Am J Med Sci.* 1997;313(6):325-31.
26. Verdon R, Chevret S, Laissy JP, Wolff M. Tuberculous meningitis in adults: review of 48 cases. *Clin Infect Dis.* 1996;22(6):982-8.
27. Leonard JM. Central Nervous System Tuberculosis. *Microbiol Spectr.* 2017 Mar;5(2):1-10
28. Seo YS, Kang JM, Kim DS, Ahn JG. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):14.
29. Alcaide F, Diagnóstico microbiológico actual de la tuberculosis *Enferm Infecc Microbiol Clin;* 35(7):399-402
30. National Human Genome Research Institute [Internet] Bethesda, Maryland NHGRI. [citado 11-nov-2021] Human Genome Program, U.S. Department of Energy, Human Genome Talking Glossary of Genetic Terms Metagenómica. 2019. Disponible en: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Metagenomica>

GLOSARIO

Metagenómica: Estudio de un conjunto de material genético (genomas) de una comunidad tipo mixta, estudio de comunidades microbianas extrayendo y analizando su ADN de forma global.

Micobacterium tuberculosis: es un tipo de bacteria muy común en la tuberculosis de tipo aerobia que generalmente ataca a pulmones y otras partes como riñones columna vertebral y cerebro.

Meninges: membranas del sistema nervioso que protegen al cerebro y a la medula espinal localizadas por encima de la corteza cerebral evita introducción de sustancias.

Tuberculosis Meníngea: causada por el micobacterium tuberculosis se disemina en otros lugares como cerebro columna y riñones.

Frotis: extensión que se realiza para estudiar en un portaobjetos para separar lo más posible microorganismos para la detección y confirmación para una enfermedad.

BAAR: es una prueba que ratifica la presencia de bacilos ácido resistentes en un frotis de esputo que a menudo indica presencia de tuberculosis.

Genoma: secuencia de material genético, que es de tipo particular para cada especie contiene información necesaria para que una persona pueda crecer y desarrollarse.

Falso positivo: es un error por el cual al realizar una exploración física o una prueba complementaria su resultado indica una enfermedad determinada, cuando en realidad no la hay.

Falso Negativo: un error en el cual realizamos un tipo de exploración física o una prueba tipo complementaria y se registra normalidad no existe un tipo de alteración, cuando en realidad existe una enfermedad en el paciente.

Verdadero Positivo: en la expresión utilizada en caso de realizar un análisis a un paciente con fin diagnóstico y como conclusión nos indica que una enfermedad determinada está presente en el paciente.

Verdadero negativo: es un tipo de referencia cuando en conclusión luego de un diagnóstico no tiene una enfermedad determinada y de esta manera se llega a confirmar que el paciente no se encuentra enfermo.

Sensibilidad: es la probabilidad en la que clasificamos correctamente a un individuo que está enferma, probabilidad de que para un sujeto obtengamos un resultado positivo dentro de esto existe el test de sensibilidad que como dice es la capacidad para detectar la enfermedad.

Retrospectivo: es un tipo de estudios cuya información se obtuvo anteriormente a su planeación con fines ajenos al trabajo que se realiza de investigación que se puede pretender realizar, es generalmente realizar un vistazo a eventos que ya han ocurrido.

Sincrónica: es el intercambio de información en tiempo real y al mismo tiempo deben encontrarse en línea para ello se utiliza medios de tecnología como videoconferencias llamadas y chat.

Somnolencia: es un trastorno del sueño, una actitud exagerada de esta necesidad fuerte a dormir incluyendo periodos prolongados el enfermo duerme durante el día cuando se queda a quieto o en actos públicos.

Hemiparesia: es una disfunción motora que afecta un lado del cuerpo izquierdo o derecho de origen neurológico que puede repercutir en niños afectando su desarrollo tiene una característica de menor rango de movilidad, fuerza o destreza del miembro afectado.

Delirium: estado mental en el que la persona se encuentra en un estado confundido, desorientado no puede pensar ni recordar puede acompañarse de agitación y alucinaciones.

Confección: infección simultánea de un huésped por parte de múltiples agentes patógenos en el campo de la virología dependiendo del estado del patógeno y del reservorio.

Secuenciación: conjunto de técnicas métodos tipo bioquímicas que nos va a ayudar a determinar el orden de los nucleótidos (A, C, G, T) en un oligonucleótido de ADN ha acelerado significativamente la investigación y los descubrimientos en biología.

Fenotipo: se hace referencia a este término a cualquier rasgo observable de un microorganismo la cual va a abarcar su desarrollo sus propiedades bioquímicas, su fisiología, su comportamiento.

Baciloscopia: es un tipo de prueba utilizada para determinar la presencia de bacilos en una muestra determinada utilizada específicamente en la búsqueda de bacilo de Koch agente de la tuberculosis en una muestra de esputo.

ANEXOS

1.2. *Tabla 1. Signos y síntomas en casos de Tuberculosis Meníngea*

SIGNOS Y SÍNTOMAS	FRECUENCIA REPORTADA
Fiebre	20-70
Cefalea	25-70
Irritación meníngea	35-90
Letargia/somnolencia	25-30
Vómitos	30-70
Confusión/delirium	30-65
Signos neurológicos focales	25-40
Parálisis	20-35
Hemiparesia	5-30

Fuente: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28281443/> (27).

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Pablo Xavier Sarmiento Molina portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0104872064**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “**Secuenciación metagenómica para el diagnóstico temprano de meningitis tuberculosa: revisión bibliográfica**” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **24 de Noviembre de 2021**


.....
Pablo Xavier Sarmiento Molina
C.I. **014872064**