Controversias en el uso del derivado proteico purificado de tuberculina (PPD) y las nuevas técnicas en la detección in vitro de los niveles de interferón gamma (IGRAs) en un país con alta tasa de infección por tuberculosis

28 min.

Doctores del Servicio de Neumonología del Hospital de Clínicas nos presentan en este trabajo un análisis sobre las ventajas y desventajas de los diferentes métodos de diagnóstico de infección latente por tuberculosis en países de áreas endémicas.

Federico G Craviotto, Leticia Limongi.
Hospital de Clínicas "José de San Martín" Universidad de Buenos Aires. Servicio de Neumonología.

Rev Am Med Resp 2012; 2: 44-53

Correspondencia
Federico Craviotto
Domicilio Postal: Carlos Pellegrini 930, (1718) San Antonio de Padua, Buenos Aires, Argentina
Correo electrónico:

OPTI® CCA-TS
OPTI® CCA
Analizadores de gases en sangre portátiles

OPTIMedical

OPTI® R
Analizador de gases en sangre de mesada

OPTI® CCA-TS
Autocalibración.
Mínimo mantenimiento.
Aspiración automática de la muestra.
Pantalla sensible al tacto.
Cassette de un solo uso.
Mayor perfil de medición.
tHb y Sat O_2 medidas.

OPTI® CCA
Autocalibración.
Mínimo mantenimiento.
Aspiración automática de la muestra.
Cassette de un solo uso.
Amplio perfil de medición.
tHb y Sat O_2 medidas.

OPTI® R
Autocalibración.
Mínimo mantenimiento.
Aspiración automática de la muestra.
Cassette reutilizable.
Amplio perfil de medición.
tHb y Sat O_2 medidas.
Auto QC.

Ideal para laboratorios, quirófanos, UTI, perfusionistas.

BG ANALIZADORES S.A.
Aráoz 86 | C1414DPB | C .A.B.A. | Argentina | Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876 | Fax: 54-11 4856-5652
bga@bganalizadores.com.ar | www.bganalizadores.com.ar

BG Analizadores

fedecraviotto@hotmail.com
Teléfono: 0220-4825226

Introducción

La tuberculosis (TB) constituye un problema actual para la Organización Mundial de la Salud (OMS) dado el incremento progresivo del número de casos en los últimos años basado en el deterioro de la infraestructura sanitaria, la progresiva expansión del SIDA a nivel mundial y el incremento de la pobreza y el hambre en los países en desarrollo.

Ya en 1991 la OMS reporta una incidencia de 8.400.000 nuevos casos de TB en el mundo, lo cual se corresponde con una tasa de 141 nuevos casos por cada 100 mil habitantes[1].

Dicha epidemia está producida por el bacilo *Micobacterium* tuberculosis que se trasmite, por vía aérea, a través de las gotitas de pflügge de pacientes con enfermedad activa a individuo sano. Una vez que los bacilos llegan al organismo, se produce una respuesta inflamatoria constituida por macrófagos que fagocitan los bacilos; se liberan citocinas que atraen neutrófilos, macrófagos y linfocitos T, que segregan factor de necrosis tumoral alfa e interferón gamma. Esta situación constituye la infección tuberculosa. Luego el bacilo puede permanecer latente en los macrófagos sin producir síntomas (infección tuberculosa latente), o progresar a enfermedad (5-10% de los infectados). Se estima que de cada 100 personas expuestas a *Micobacterium tuberculosis* por contactos conocidos, sólo 50 se van a infectar. Por lo cual, el individuo infectado es un "enfermo tuberculoso en potencia" y es aquí donde radica uno de los pilares del control de la enfermedad en los países desarrollados[2].

En la mayoría de ellos, la incidencia de TB en sus poblaciones está por debajo de 10/100.000 habitantes. En nuestro país, según el informe del Instituto Nacional de Epidemiología y Enfermedades Respiratorias "Emilio Coni", se notificaron en el 2006, 11.068 casos de TB, lo que representó una tasa de 28.4 casos por cada 100.000 habitantes.

La notificación de casos en Argentina ha disminuido en los últimos años, lo cual no significa que la incidencia sea menor, dado que existe un importante subregistro de la enfermedad[3].

Tanto para prevenir la aparición de la enfermedad como para conocer cuál es el riesgo en una población, se necesita un método confiable de detección de la infección tuberculosa. En el último siglo, el método utilizado es la prueba de la tuberculina por inoculación intradérmica del derivado proteico purificado (PPD); pero en los recientes años han aparecido métodos de cuantificación de la respuesta inmunitaria, denominados pruebas de interferón gamma (IGRAs).

El objetivo de este trabajo es analizar las ventajas y desventajas de cada método de diagnóstico de infección latente por tuberculosis en países de áreas endémicas.

Prueba de la tuberculina

Esta técnica descubierta por Florence Seibert en EE.UU. utiliza la inyección de un derivado proteico que pone en evidencia el estado de hipersensibilidad previo del organismo frente a dicha sustancia. En la actualidad se emplea la PPD obtenida tras el filtrado de cultivo de *Micobacterium tuberculosis* esterilizado y concentrado.

La tuberculina utilizada en Europa es la PPD RT-23. En EE.UU. existen dos preparaciones, Aprisol y Tubersol, ambas con respuesta similar a la RT-23. Hasta inicios de los 90 el PPD RT-23 era distribuido a través de la OMS en los países de América Latina y empleado en los centros de salud para realizar las pruebas.

Falsos positivos y negativos

La PPD está constituida por antígenos no exclusivos de *Micobacterium tuberculosis* compartidos por otras micobacterias no tuberculosas (*M. bovis, M. avium*, etc), hecho que pudiera ser responsable de falsos positivos ante un individuo con prueba tuberculínica positiva. Existen otras situaciones, como inadecuada técnica con formación de hematoma, o infección, individuos vacunados con BCG o individuos no sensibilizados a *Micobacterium tuberculosis* que reciben tranfusiones sanguíneas de sensibilizados que a su vez podrían alterar la interpretación de la prueba[1,2].

Además, circunstancias dependientes del individuo pueden desencadenar falsos negativos, tales como infección viral,

MEGANALIZAR
Tecnología y Calidad al servicio de la Salud
- El Megalaboratorio Institucional más completo de Cuyo
- Alta tecnología y bajos costos
- Participación constante en programas de control de calidad Externo

- Endocrinología
- Marcadores Tumorales
- Hematología
- Química Clínica
- Inmunoserología
- Virología
- Inmunología

Sede Laboratorio I Montecaseros 2478 Mendoza I Tel. 0261 4373241/42 I mega@analizar-lab.com.ar
Administración I Belgrano 925 Mendoza I Tel. 0261 4236647/9125/9333 I asocbioqmza@speedy.com.ar / abmrecepcion@speedy.com.ar

vacunaciones con virus vivos, situaciones de inmunosupresión o tratamiento con fármacos que disminuyan la respuesta inmunitaria; las edades extremas de la vida como recién nacidos en quienes dada la inmadurez del sistema inmune, hasta los 6 meses de vida no existe una respuesta adecuada a la tuberculina; en ancianos la respuesta inmune se debilita y puede interpretarse como falso negativo; al repetirse la técnica pasada una semana, se pone de manifiesto la positividad (efecto Booster). A su vez, una PPD en malas condiciones así como una inadecuada técnica de Mantoux, tanto en administración como en su lectura, pueden llevar a falsos negativos de la prueba[1,2,4].

Indicaciones de la prueba

La prueba tuberculínica, como toda prueba diagnóstica, tan sólo debería ser usada en aquellas personas en que su resultado pueda derivarse a una intervención terapéutica.

En la TB sólo existen dos posibilidades de intervención terapéutica, la del tratamiento de los enfermos y la de la quimioprofilaxis o tratamiento preventivo de los infectados con alto riesgo de padecer TB[1,2,6] (Tabla 1).

Ventajas y desventajas

La prueba se ha utilizado en todo el mundo durante más de un siglo como ayuda en el diagnóstico de la TB tanto latente como activa. Un resultado positivo de la PPD se asocia con un mayor riesgo de TB activa actual o futura[1,2,3,5].

La prueba tuberculínica ha demostrado en demasía su eficacia en la detección de TB ya que es una técnica de muy bajo costo; para poder utilizarse no requiere de una gran infraestructura; es preferible para la realización en niños menores de 5 años. El requerimiento de una segunda visita para la lectura de la prueba cutánea puede ser ventajosa (facilitando la aplicación de otra prueba diagnóstica o el comienzo de la quimioprofilaxis) y presenta sencillez operacional.

Sin embargo, es verdad que con el tiempo ciertas limitaciones han ido aflorando y están asociadas con el uso de la prueba[7], como una prueba válida requiere una buena administración por el método de Mantoux con la inyección intradérmica. Además, los pacientes deben volver a un proveedor de atención médica para la lectura de la prueba; presencia de errores en la lectura de la misma; los falsos positivos pueden resultar del contacto con micobacterias no tuberculosas o la vacunación con el bacilo de Calmette-Guerin (BCG), ya que el material de la prue-

Tabla 1. Indicaciones de la prueba tuber-culínica

- Convivientes y contactos de enfermos tuberculosos.
- Personas cuya radiografía de tórax presente imágenes compatibles con tuberculosis inactiva.
- Personas con sospecha clínica y/o radiológica de padecer enfermedad tuberculosa.
- Personas que si están infectadas tienen mayor riesgo para el desarrollo de enfermedad tuberculosa: infección por HIV, adictos a drogas por vía parenteral, marginados sociales y extranjeros procedentes de países de alta incidencia.
- Enfermedades inmunosupresoras: leucemias, linfomas, neoplasias y otras.
- Terapia inmunosupresora prolongada, anti-TNF alfa y candidatos a trasplante.
- Personas que constituyen un riesgo social y epidemiológico si desarrollan una tuberculosis activa: cuidadores de guarderías infantiles, personal docente, sanitario o carcelario.
- Estudios epidemiológicos y control de programas antituberculosos.

ba contiene los antígenos que están en la BCG y micobacterias no tuberculosas deteminadas y pérdida de sensibilidad, con generación de falsos negativos en pacientes con alteración de la inmunidad celular (inmunodeprimidos, infección tuberculosa activa).

Nuevas técnicas de diagnóstico "in vitro" de la tuberculosis

Respuesta inmune frente a la infección tuberculosa

Una de las moléculas más importantes en el control de la TB es el interferón gamma (INF-γ). Esta citoquina, producida por los linfocitos T CD4+, CD8+ y las células natural killer (NK), activa a los macrófagos infectados con la consiguiente liberación de IL-1 y factor de necrosis tumoral γ (TNF-γ) que limitan el crecimiento y multiplicación de las micobacterias. Aunque la producción de interferón per se es insuficiente en el control de la TB, su participación es imprescindible en la respuesta inmune protectora frente a dicho microorganismo. Los individuos con deficiencias en los receptores o en los genes de esta molécula son más susceptibles de padecer infecciones micobacterianas más frecuentes y más graves[2].

Basado en dicho hallazgo, en el año 2001, surge el Quantiferón (QFT), primer IGRA (Interferon Gamma Release Assay) aprobado por la FDA para la ayuda en el diagnóstico de infección por Micobacterium tuberculosis. Esta prueba utiliza un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para medir la cantidad de interferón Gamma (INF-γ) producido en respuesta a péptidos derivados de proteínas específicas de *Micobacterium tuberculosis*, como principios de secreción antigénica de destino 6 (ESAT-6) y filtrado de cultivo de proteínas 10 (CFP-10). Estas proteínas están presentes en *Micobacterium tuberculosis* y estimulan la liberación medible de INF-γ en la mayoría de las personas infectadas, pero que están ausentes en las cepas de la vacuna BCG y de la mayoría de las micobacterias no tuberculosas2. Sin embargo, ESAT-6 y CFP-10 están presentes en *M. kansasii, M. szulgai y M. marinum* y la sensibilidad a estos organismos podría contribuir a la liberación de INF-γ en respuesta a estos antígenos y causar resultados falsos positivos[8].

En el año 2005, la prueba Quantiferon-TB Gold (QFT-G) se convirtió en el segundo IGRA aprobado por la FDA como ayuda para el diagnóstico de infección por *Micobacterium tuberculosis*. Para la prueba QFT-G, alícuotas separadas de la sangre entera fresca se incuban con los controles y con dos mezclas de péptidos por separado, uno en representación de ESAT-6 y la otra que representa a CFP-10.

Las directrices del 2005 de QFT-G indicaron que la prueba puede ser utilizada en todas las circunstancias en que se recomendó una prueba tuberculínica, incluidas las investigaciones de contactos, evaluación de inmigrantes recientes, los programas de serie, y las pruebas de vigilancia para el control de infección.

En octubre de 2007, la prueba Quantiferon-TB Gold In Tube (QFT-GIT) se convirtió en el tercer IGRA aprobado por la FDA como ayuda para el diagnóstico.

Control de materiales y antígenos para la prueba QFT-GIT, están contenidos en tubos especiales para recoger la sangre, lo que permite una prueba más directa de sangre fresca. Un tubo contiene antígenos de prueba que consisten en una mezcla única de 14 péptidos que representan las secuencias de aminoácidos de ESAT-6 y CFP-10 y parte de la secuencia de TB 7.7. Los dos tubos de acompañamiento sirven como controles negativos y positivos: el tubo de control negativo contiene heparina sola, y el tubo de control positivo contiene heparina, dextrosa y fitohemaglutinina. Un mililitro de sangre se recoge en cada uno de los tubos, se mezcla con reactivos, y se incuba durante 16-24 horas. Se separa el plasma y la concentración de INF-γ se determina usando el mismo ELISA sensible empleado para la prueba QFT-G.

En julio de 2008, T-Spot se convirtió en el cuarto IGRA en ser aprobado. Para esta prueba, las células monoclonales de sangre periférica se incuban con los materiales de control y dos mezclas de péptidos, uno en representación de toda la secuencia de aminoácidos de ESAT-6 y la otra en representación de la secuencia completa de aminoácidos de la CFP-10. La prueba utiliza un ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISpot) para detectar el aumento del número de células que secretan INF-γ después de la estimulación con el antígeno en comparación con el control[2,8,9].

Ventajas y desventajas de los IGRAs

Estas nuevas técnicas presentan a favor que evitan la subjetividad en la interpretación de los resultados. La prueba cutánea es de difícil interpretación por personal no entrenado; la determinación puede repetirse inmediatamente; obtención rápida de los resultados; se elimina la segunda visita de lectura, evitando las pérdidas; fácil estandarización y aplicación en el laboratorio; mejora los resultados en vacunados con BCG y las reacciones cruzadas con micobacterias ambientales; mejora los resultados en niños pequeños y ancianos; mejora los resultados en inmunodeprimidos (más estudiado en HIV+); mantiene la privacidad y disminuye la ansiedad y la preocupación por el resultado; evita repeticiones (período ventana de la tuberculina, efecto booster, etc.) y aunque el costo de la prueba es más elevado, esto debe ser matizado por la mejor relación costo-efectividad, disminución en el número de horas laborales perdidas por el paciente y la reducción significativa de precio que supondrá el aumento de consumo de los IGRAs.

Pero también hay que tener en cuenta que son técnicas más caras; necesitan de un laboratorio y de personal adiestrado en su realización; no son totalmente específicas de *Micobacterium tuberculosis* (comparten antígenos con *M. kansasii, M. szulgei y M. marinum*); requieren de una mayor infraestructura; presentan problemas derivados de la punción venosa, especialmente en niños; además de existencia de resultados indeterminados y de no distinguir entre infección latente y enfermedad, las cuales son consideradas desventajas de las mismas.

Autoanalizadores para Química Clínica

Miura

I.S.E.
Autoanalizadores de Química Clínica
Origen: Italia

2 AÑOS DE GARANTÍA

Miura One

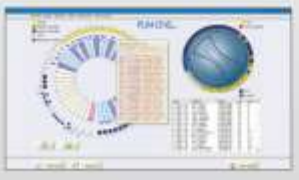
Miura 200

Miura 500

I.S.E. S.R.L. es una empresa italiana con 30 años de experiencia en investigación y desarrollo en la producción de instrumental de laboratorio.

Autoanalizadores para química clínica e inmunoturbidimetría en sus modelos Miura One, Miura 200 y Miura 500. Con lector de código de barras y posibilidad de incorporar módulo Ion Selectivo. Conexión a sistema de gestión.

Consulte por Planes de Comodato



Sistema

Analizador automático de acceso aleatorio para química clínica, proteínas plasmáticas, drogas de abuso y electrolitos.
Rendimiento Miura 500: 300 pruebas por hora hasta 500 con el módulo ISE a bordo.
Rendimiento Miura 200: 240 pruebas por hora hasta 480 con el módulo ISE a bordo.
Rendimiento Miura One: 120 pruebas por hora hasta 180 con el módulo ISE a bordo.

BG ANALIZADORES S.A.
Aráoz 86 | C1414DPB | C.A.B.A. | Argentina
Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876 | Fax: 54-11 4856-5652
bga@bganalizadores.com.ar | www.bganalizadores.com.ar

BG Analizadores

Sensibilidad de las pruebas

Como no existe un gold estándar diagnóstico para la infección tuberculosa, varios estudios han evaluado estas nuevas pruebas sustituyendo infectados por enfermos por TB. En realidad, no se conoce si la sensibilidad determinada en "verdaderos positivos con TB activa" es directamente extrapolable a los infectados no enfermos, que es el grupo para el cual han sido diseñadas estas pruebas. En ellos sólo se puede confirmar la infección por la aparición de enfermedad, lo que requiere estudios longitudinales prospectivos, con un tiempo prolongado de seguimiento[8]. Estos estudios son criticables desde el punto de vista ético, ya que en ellos no se aplicaría quimioprofilaxis para proteger de la enfermedad a los contactos probablemente infectados. Una alternativa son los estudios de cohorte, en que se seleccionan poblaciones con distinta magnitud de riesgo de infección y se compara en ellas la respuesta a la prueba a evaluar versus la estándar. Es preciso destacar que el error de más graves consecuencias en estas pruebas es una baja sensibilidad porque implica dejar sin eventual control o protección a los verdaderos infectados no detectados.

En los últimos años se han publicado artículos, la mayoría proveniente de países con baja incidencia de TB, en los que se compara la positividad de las pruebas de INF-γ (IGRAs) con la prueba tuberculínica en poblaciones muy diversas en cuanto a tamaño y características. Según una revisión sistemática de 38 estudios publicados entre 2004 y 2008, la sensibilidad media de estas pruebas en casos de TB con confirmación bacteriológica fue la siguiente: QFT-G: 0.78, QFT-GIT: 0.70 y T-Spot: 0.90. La sensibilidad media de la prueba cutánea fue 0.77. De acuerdo a este análisis T-Spot sería más sensible que las otras dos IGRAs y la prueba cutánea.

En general, en los contactos de casos de TB, en familias de inmigrantes y en trabajadores de la salud con mediano o alto riesgo de infección la prueba cutánea presenta mayor porcentaje de resultados positivos que QFT-G, QFT-GIT o T-Spot. En varios de estos estudios la discrepancia entre los resultados de IGRAs y prueba cutánea es llamativa. Por otra parte, en niños con alta sospecha de enfermedad, si bien se halla mayor positividad con la prueba tuberculínica, las diferencias son poco significativas. En una población con HIV/ SIDA y baja prevalencia de infección tuberculosa, la concordancia entre la prueba cutánea, QFT-GIT y T-Spot fue muy baja. En pacientes con < 200 células CD4/µl en sangre la prueba cutánea fue negativa y las pruebas IGRAs tuvieron en general resultados "indeterminados". Sería recomendable realizar estudios similares en sitios donde ambas infecciones (HIV y TBC) son prevalentes[2,8].

En un estudio realizado en Brasil, zona con una incidencia similar de TB, como en nuestro país se observó que las pruebas cutáneas positivas fueron más frecuentes que los IGRAs positivos en contactos que cohabitaban con casos de TB. En base a esto, la decisión de iniciar quimioprofilaxis a los contactos debe seguir guiándose por la respuesta a la prueba cutánea[4].

Se podría considerar que, en general, la prueba tuberculínica tiene mayor sensibilidad, aunque los mayores porcentajes de respuestas positivas podrían también deberse a una menor especificidad. Con este razonamiento, en Gran Bretaña se adoptó el QFT-G como prueba confirmatoria de infección reciente después de una prueba cutánea positiva. Cabe señalar que las respuestas a las pruebas IGRAs parecen ser dinámicas y, especialmente las débiles, fluctúan en el tiempo. Recientemente se observó una importante variación en las respuestas sucesivas de los sujetos estudiados por T-Spot y QFT-GIT, con aparentes conversiones y reversiones en 7/26 (27%)[2,8,9]. Hasta el momento, tampoco existe evidencia de que las pruebas de INF-γ permitan diferenciar entre infección y enfermedad. En teoría eso sería posible, si se les incorporan antígenos marcadores específicos, ya sea de infección latente o de enfermedad activa. Investigaciones en este sentido están también contempladas, en relación al desarrollo de un kit IGRA diagnóstico producido en el país.

Especificidad

La entidad en que se mide, sujetos sin aparente riesgo de infección, resulta de variable confiabilidad como controles. Mazurek et al la estimaron en una población de reclutas de la marina de Estados Unidos considerada de bajo riesgo. La especificidad de la prueba tuberculínica, con límites ≥ 10mm y ≥ 15mm fue respectivamente 98.4 y 99.1%, y la de QFT y QFT-G 92.3 y 99.8% en ese orden. Las diferencias de especificidad entre la prueba cutánea ≥ 15mm y QFT-G no fueron significativas[8,9]. Por otra parte, los reclutas nacidos en países de alta prevalencia tuvieron una probabilidad 26 a 40 veces mayor que el resto de presentar prueba cutánea positiva y QFT-G negativo.
En el meta-análisis citado, se hallan en adultos de regiones con baja incidencia de tuberculosis, para ambos QFT (G y GIT), una especificidad de 0.99 donde la BCG no se aplica, y 0.96 donde se vacuna, lo que indicaría que si bien en estos IGRAs se emplean antígenos "específicos", la respuesta cruzada con BCG no desaparece totalmente. El valor medio para especificidad, incluyendo ELISPOT y T-Spot, fue 0.93; y para el T-Spot sólo llegó a 0.87. La especificidad de la prueba cutánea tuberculínica en áreas sin BCG fue de 0.97, pero resultó baja y variable en donde se vacuna, dependiendo si esta se aplica sólo al nacer, después de la infancia o si hay múltiples vacunaciones[4,8].

Toda la información parece confirmar que la esperada relación inversa entre sensibilidad y especificidad se sigue cumpliendo. Debemos recordar además, que tanto la prueba tuberculínica, como las pruebas de INF-γ son una medida indirecta de exposición del huésped a *Micobacterium tuberculosis* y sólo son pruebas suplementarias en el diagnóstico de enfermedad e indicativas u orientadoras en el de infección. En ningún caso alcanzan sensibilidad o especificidad de 100%.

Controversias

La introducción en los últimos años de las pruebas basadas en la liberación de interferón gamma (IGRAs) suponen el primer avance que se produce para el diagnóstico de infección latente

tuberculosa. La prueba de tuberculina es hoy en día la prueba diagnóstica vigente con mayor antigüedad en su uso, inyectada mediante el procedimiento de Mantoux, es usada desde hace 100 años.

Se evaluarán las diferentes situaciones en las cuales está discutido el uso tanto de la PPD como de los IGRAs, tratando de aclarar los interrogantes que presentan.

Diagnóstico de TB activa: para una persona con una prueba tuberculínica positiva, el riesgo de desarrollar TB activa se estima en un 5-10%. Sin embargo, los datos longitudinales son muy poco capaces en lo que respecta a los IGRAs para predecir el riesgo. La introducción de los IGRAs no resuelve el viejo problema conocido de la prueba tuberculínica: no distingue entre infección latente y enfermedad. Por lo tanto, su utilidad es muy limitada en la práctica clínica diaria4. Sin embargo, mayor interés presentan estas pruebas como parámetro de ayuda para excluir enfermedad, especialmente en formas de difícil diagnóstico como son las TB de localización extrapulmonar o las pulmonares no bacilíferas. Hasta más de un tercio de los pacientes con TB confirmada puede presentar un IGRA negativo. Las causas de la progresión de TB latente a enfermedad son uno de los grandes enigmas que tratan de resolver los investigadores en la materia[4,5,8,10].

Diagnóstico de infección latente tuberculosa: mucha más atención se ha prestado al papel de los IGRAs como complemento de la prueba tuberculínica en el diagnóstico de la TB latente. Sin embargo, se presenta una dificultad no solventable: la evaluación de estas técnicas adolecen de la inexistencia de un patrón de referencia con el que confirmar los resultados. La tuberculina presenta problemas de sensibilidad y de especificidad y no puede ser el "gold Standard". Por lo cual no se dispone de otro marcador de TB latente[11]. En general, pero no de manera unánime, los IGRAs se relacionan mejor que la prueba cutánea con el grado de exposición al bacilo. Es este hecho en lo que se basa la suposición de que los IGRAs son más indicativos de existencia de TB latente que la prueba cutánea. Esta situación se hace más evidente en aquellas personas que han sido vacunadas con BCG. Los IGRAs tendrán su utilidad el día que puedan demostrar su valor pronóstico de progresión a enfermedad. Hasta el momento, sólo la prueba tuberculínica lo ha conseguido[8,10,13].

El estudio de los contactos: varios informes de contactos han incluido resultados de la prueba QFT-TGI y T-Spot. Una mayor exposición reciente estaba más fuertemente asociada con resultados IGRAs positivos que con resultados de prueba tuberculínica positiva, lo que sugiere que IGRA podría ser mejor que la prueba cutánea en la detección de infección reciente. Las personas que presentan menor exposición reciente fueron más propensas a ser positivas por la prueba cutánea que por IGRAs, lo que sugiere que la

prueba tuberculínica podría haber sido mejor que IGRAs en la detección de infección a distancia que estaba presente antes de la exposición reciente[8].

Pacientes inmunocomprometidos: los pacientes con un deterioro de la inmunidad celular tienen un riesgo elevado de desarrollar la enfermedad en caso de infectarse. Así, mientras en la población no inmunodeprimida el riesgo de padecer TB es del 10% a lo largo de toda la vida; en los pacientes HIV, el riesgo es del 10% anual. Por desgracia en este contexto, con un riesgo tan elevado de desarrollar una TB, la prueba de la tuberculínica cuando es negativa, no es muy valorable. Esta situación puede traducir un verdadero negativo o un falso negativo como consecuencia de la anérgia. En esta situación, los IGRAs pueden tener una importante utilidad, teniendo en cuenta que tienen un control mitógeno positivo que nos ayuda a conocer si un resultado no positivo es un verdadero negativo o un indeterminado, que traduce errores técnicos o una marcada inmunosupresión. Los datos disponibles sugieren que el T-Spot es más sensible que la prueba de la tuberculina y el QFT-G[2,4,8].

Vacunados con BCG: el inconveniente principal de la prueba cutánea es el tipo de antígenos utilizados. El PPD contiene una serie de proteínas que no son específicas de *Micobacterium tuberculosis* sino que se comparten con otras especies. Esto hace que el test sea poco específico por las reacciones cruzadas en individuos previamente expuestos a otras micobacterias, en especial ambientales y *M. bovis*. También responderán al test las personas vacunadas con BCG. De esta manera los IGRAs como presentan péptidos en todas las especies patógenas del complejo *Micobacterium tuberculosis*, pero presuntamente ausente en BCG y en la mayor parte de las micobacterias ambientales, mejorarían los resultados en las personas vacunadas con la BCG y las reacciones cruzadas con dichas micobacterias[4,8].

Costo y costo-efectividad: se necesitan servicios rápidos de transporte de muestras refrigeradas para los IGRAs, y para el procesamiento. Todo esto y el personal calificado, limita la realización de pruebas a laboratorios con un cierto grado de complejidad. El costo de la prueba tuberculínica fue determinado considerando sólo reactivos y materiales. A estos se les agregarían los de implementación y mantenimiento de un programa de tuberculina en trabajadores de salud. Para la aplicación y lectura de la prueba cutánea se debe contar con espacio apropiado, refrigerador, jeringas y personal de enfermería especializado. Se requiere una segunda visita para la lectura, lo que se anota usualmente como una desventaja frente a los IGRAs. Sin embargo, esa segunda visita puede ser ventajosa, ya que facilita la aplicación de otras pruebas diagnósticas o el comienzo de la quimioprofilaxis. Las pruebas IGRAs también requieren una segunda visita para recepción de resultados y consulta clínica. Una estrategia recomendada en países de baja incidencia de TB consiste en aplicar la tuberculina a todos los contactos de casos, y un IGRA como prueba confirmatoria, sólo a los que resultan prueba cutánea positiva. En donde la incidencia es mediana o alta, como ocurre en toda América Latina, se debe privilegiar la sensibilidad para no perder oportunidades, ya sea de prevenir la enfermedad mediante quimioprofilaxis o de completar su diagnóstico y tratamiento. A esto se agregan las ventajas de costo y la sencillez operacional de la prueba cutánea en los estudios[2,4,8,10].

Errores de lectura: los valores de corte establecidos para la prueba cutánea, según la medida de la induración producida en la piel pueden clasificar mal a los individuos de acuerdo con infección o no. Por otra parte estos valores varían en las diferentes normativas e inducen a confusión. Del mismo modo se muestra que los valores de corte de los IGRAs recomendados por los fabricantes pueden no ser adecuados[2,10].

Convenio

El acuerdo entre las pruebas para la infección por *Micobacterium tuberculosis* varía ampliamente. Este se ha visto afectado por los criterios de interpretación de la prueba, la prevalencia de la infección y la proporción de infecciones que se confirmó microbiológicamente, las estimaciones de la exposición reciente y remota, la edad, la raza, la vacunación previa con BCG, prueba cutánea reciente, y las enfermedades coexistentes, incluyendo la infección por micobacterias no tuberculosas y condiciones con inmunosupresión. El aumento de la edad es un riesgo para la infección por *Micobacterium tuberculosis*, debido a un mayor tiempo de exposición potencial y porque las personas de edad podrían haber estado vivos cuando la TB era más frecuente. La asociación de edad avanzada con la prueba tuberculínica positiva y los resultados IGRAs generalmente se atribuyen a las infecciones por *Micobacterium tuberculosis* que se acumulan con el tiempo. La observación de estudios en los que aumenta la edad, se asoció más fuertemente con los resultados de prueba tuberculínica que con resultados IGRAs sugiriendo que una prueba cutánea puede ser más sensible que un IGRA en la detección de infecciones a distancia que se produjo años antes.

Las investigaciones que examinan el efecto de la inyección de PPD en posteriores IGRAs han producido resultados contradictorios, las diferencias de resultado probablemente son atribuibles a diferencias en la población de estudio, el calendario de las pruebas IGRAs después de la inyección de PPD, el formato IGRA, etc. Otros estudios que examinan el efecto de la inyección de PPD en las respuestas de INF-γ son necesarios para definir la frecuencia, magnitud, tiempo de inducción, y la longevidad de IGRA aumenta después de una prueba cutánea.

La incertidumbre existe con respecto a la reproducibilidad de los estudios IGRAs en pacientes individuales y el significado clínico de las fluctuaciones de medir las respuestas de INF-γ. Los estudios han revelado fluctuaciones considerables en las respuestas de INF-γ con las pruebas de serie en los pacientes individuales. Estas fluctuaciones pueden atribuirse a las limitaciones en la precisión de IGRA o registradas en las respuestas de INF-γ en el paciente. Algunos aumentos en respuesta de INF-γ podrían atribuirse a una nueva infección o aumentar después de una prueba cutánea. Algunos disminuyen en respuesta de INF-γ en las personas

CentraLab

Laboratorio
para Laboratorios

Acumulamos una amplia
trayectoria

Nos destaca nuestra
calidad analítica

Contamos con
tecnología de punta

Ponemos a su servicio un equipo de
destacados profesionales

cap ACCREDITED™

ISO 9001
BUREAU VERITAS
Certification

Endocrinología | Biología Molecular | ADN - Filiación | Inmunología
Autoinmunidad | Toxicología | Pesquisa Neonatal | Cromatografía | Virología

Consulte el listado de prácticas
en nuestro Sitio Web

número de **ATENCIÓN AL CLIENTE**

(011) 3220-5010

Callao 25 2° Piso D | Buenos Aires | República Argentina

www.centralab.com.ar

individuales que pueden ser atribuidos al tratamiento antituberculoso. Sin embargo, en su mayor parte, las fluctuaciones en las respuestas de INF-γ entre series de pacientes individuales comunicadas en los estudios siguen sin explicación y no son específicas[8].

Consideraciones

Debido a las dificultades administrativas y logísticas relacionadas con la prueba cutánea, los IGRAs son atractivas ayudas diagnósticas para detectar la infección por *Micobacterium tuberculosis*. A diferencia de la prueba cutánea, los resultados de los IGRAs pueden estar disponibles dentro de las 24 horas sin necesidad de una segunda visita. En ensayos de laboratorio, IGRAs no están sujetos a prejuicios y a los errores asociados con la colocación y la lectura de la PPD. Sin embargo, los errores en la recogida, el etiquetado o el transporte de muestras de sangre, o la realización y la interpretación de estas pruebas pueden disminuir la exactitud IGRA. Además, la disponibilidad de IGRA está limitada por la necesidad de una muestra de sangre y la posibilidad de retrasos como consecuencia de las distancias a los laboratorios. El costo de un IGRA es sustancialmente mayor que el de la prueba tuberculínica.

Recomendaciones

Recomendaciones generales para el uso de IGRA

– La prueba de tuberculina e IGRAs se deben utilizar como ayuda en el diagnóstico de la infección por *Micobacterium tuberculosis*. Estas pruebas pueden utilizarse con fines de vigilancia o para identificar personas que puedan beneficiarse del tratamiento;
– IGRA debe ser realizado e interpretado de acuerdo a protocolos establecidos. El uso de formatos de prueba aprobados por la FDA debe llevarse a cabo;
– Tanto la interpretación estándar de la prueba cualitativa y las medidas de análisis cualitativo deben incluirse junto con los criterios utilizados para la interpretación;
Uso del deriavdo proteico purificado de tuberculina en nuevas técnicas para tratamiento de tuberculosis
– Disposición para el ensayo IGRA debe hacerse antes de la toma de sangre para asegurarse de que la muestra se recoge en los tubos adecuados, y que las pruebas se pueden realizar en el plazo requerido;
– Antes de implementar IGRA, cada institución y programa debe evaluar la disponibilidad, el costo total y los beneficios por su propio entorno y;
– Al igual que con la prueba cutánea, IGRA no debe ser utilizado para la prueba de personas que tienen un bajo riesgo para la infección y la progresión a TB activa si está infectado. Incluso con una especificidad de la prueba que se acerca al 99%, cuando la prevalencia de la infección por *Micobacterium tuberculosis* es < 1%, la mayor parte de los resultados positivos serán falsos positivos[8].

Prueba de selección

La selección de la prueba más adecuada o la combinación de pruebas para la detección de la infección por *Micobacterium tuberculosis* debe hacerse sobre la base de las razones y el contexto para la prueba, la disponibilidad de las mismas, y la rentabilidad global. Los resultados de los estudios que examinan la sensibilidad, especificidad, y el acuerdo para IGRA y prueba cutánea varían con respecto a qué prueba es mejor. Aunque los datos sobre la exactitud de IGRA y su capacidad para predecir la posterior TB activa son limitados, hasta la fecha las principales deficiencias se han notificado en estudios con diferentes poblaciones.

Un IGRA se puede utilizar en lugar de una prueba tuberculínica en todas las situaciones en que el CDC recomienda pruebas cutáneas como una ayuda en el diagnóstico de infección por *Micobacterium tuberculosis*, con las preferencias y consideraciones especiales que se toman. A pesar de la indicación de una preferencia en estos casos, el uso de la prueba alternativa es una práctica aceptable de salud médica y pública[8].

Situaciones en las que IGRAs es preferible, pero una prueba cutánea es aceptable

Un IGRA se prefiere para las personas pertenecientes a grupos que tienen bajas tasas de volver a tener una lectura de prueba cutánea. Por ejemplo, el uso de un IGRA podría aumentar la terminación de prueba de las tasas para las personas sin hogar y los consumidores de drogas8, y se prefiere para las personas que han recibido BCG. El uso de IGRA en esta población se espera que aumente la especificidad de diagnóstico y mejore la aceptación del tratamiento para la TB latente.

Situaciones en las que una prueba tuberculínica es preferible, pero un IGRA es aceptable

La prueba tuberculínica es preferible para los niños menores de 5 años. El uso de un IGRA en relación con la prueba cutánea ha sido defendido para aumentar la sensibilidad diagnóstica en este grupo de edad. Recomendaciones sobre el uso de IGRA en los niños también han sido publicadas por la Academia Americana de Pediatría[8].

Situaciones en las que un test cutáneo o IGRA es usado sin preferencia.

Un IGRA o una prueba tuberculínica puede ser utilizada sin preferencia a los contactos recientes de las personas que se sabe o que se sospecha que tienen TB activa con consideraciones especiales para las pruebas de seguimiento. IGRA ofrece la posibilidad de detectar la infección por *Micobacterium tuberculosis* con mayor especificidad que un test cutáneo. Además, a diferencia de estos, IGRA no aumenta los resultados posteriores de prueba y se puede completar a raíz de una visita del paciente individual. Si los IGRAs se van a utilizar en las investigaciones de contacto, los resultados negativos obtenidos con anterioridad a 8 semanas después de la exposición general, deben ser confirmados por pruebas repetidas 8-10 semanas después de la exposición final[8]; además un IGRA o un test cutáneo puede ser utilizado sin preferencia para la detección periódica de las personas que pueden tener la exposición a *Micobacterium tuberculosis*, con consideraciones especiales con respecto a las conversiones y reversiones. Las ventajas incluyen la capacidad de obtener resultados después de una sola

visita, prueba de dos pasos no es necesaria para IGRA, porque las pruebas IGRAs no aumentan los resultados posteriores de prueba. Desventajas de IGRA en este contexto incluyen un mayor riesgo de conversión de prueba debido a los resultados IGRAs falsos positivos con pruebas de seguimiento de los trabajadores de atención de salud de bajo riesgo que han dado negativo en el examen previo. Conversión de la prueba cutánea se define como un cambio de negativo a positivo con un aumento de > 10mm de induración dentro de 2 años, esta se asocia con un mayor riesgo de TB activa. Una conversión IGRA se define como un cambio de negativo a positivo dentro de 2 años sin tener en cuenta la magnitud del cambio en la respuesta de la TB. Por otra parte, una asociación entre una conversión IGRA y riesgo de enfermedad posterior no ha sido demostrada[8].

Situaciones en las que ambas pruebas pueden ser consideradas

Se recomiendan ambas pruebas cuando la prueba inicial es negativa en las siguientes situaciones: 1) cuando el riesgo de infección, el riesgo de progresión y el riesgo de un mal resultado se incrementan o 2) cuando existe sospecha clínica de TB activa y la confirmación de la infección por *Micobacterium tuberculosis* se desea[8]; utilizando un IGRA y una prueba cutánea, uno también puede ser útil cuando la prueba inicial es positiva en las siguientes situaciones: 1) cuando la evidencia de infección es necesaria para alentar el cumplimiento o 2) en personas sanas que tienen un bajo riesgo de infección y progresión. En el primer caso, un resultado positivo de IGRA puede inducir a una mayor aceptación del tratamiento para la TB latente en comparación con un test cutáneo positivo solo. En esta última situación, que requiere un resultado positivo de la segunda prueba aumenta la probabilidad de que el resultado refleje una infección y la repetición de IGRA o prueba cutánea puede ser útil cuando el resultado inicial IGRA es indeterminado, límite, o no es válida y persiste una razón para la prueba. Una segunda prueba también puede ser útil cuando las mediciones de ensayo de la primera son inusuales (como cuando el valor nulo es mayor que lo habitual para la población analizada).

Gestión médica

Los diagnósticos de infección por *Micobacterium tuberculosis* y las decisiones sobre el manejo médico o la salud pública no deben basarse en IGRA o en los resultados de una prueba tuberculínica solamente, sino que deben incluir la consideración de epidemiología y la historia clínica.

Las personas con una prueba tuberculínica positiva o el resultado IGRA deben ser evaluadas para la probabilidad de infección por *Micobacterium tuberculosis*, de los riesgos de progresión a TB activa si están infectados, y para los signos y síntomas (8). Si los riesgos, signos y síntomas están presentes, la evaluación adicional está indicada para determinar si la persona tiene TB latente o TB activa.

El diagnóstico de la infección latente de TB activa requiere ser excluido por una evaluación médica, que debe incluir la historia clínica y un examen físico, una radiografía de tórax, y las pruebas de esputo u otras muestras clínicas para detectar la presencia de *Micobacterium tuberculosis*. Ni un test cutáneo ni un IGRA puede distinguir la infección latente de la TB activa. En las personas que tienen síntomas, signos o evidencia radiográfica de TB activa o que están en mayor riesgo de progresión a TB activa, un resultado positivo, debe ser tomado como evidencia de infección por *Micobacterium tuberculosis*. Sin embargo, los resultados negativos IGRA o prueba cutánea no son suficientes para descartar la infección en estas personas, y el juicio clínico determina cuándo y si la evaluación de diagnóstico y tratamiento está indicada[8].

En personas que tienen una probabilidad baja tanto de la infección por *Micobacterium tuberculosis* y de progresión a TB activa si están infectados, un solo IGRA positivo o resultado de la prueba tuberculínica no debe ser tomado como una prueba fiable de la infección. En tales situaciones, el riesgo de infección y de progresión de la enfermedad debe ser reevaluado, y los resultados de la prueba inicial deben ser confirmados[8].

En las personas con resultados discordantes, las decisiones sobre el manejo médico o la salud pública requieren individualizada sentencia en la evaluación de la calidad y la magnitud de cada resultado de la prueba.

Conclusión

Por estas razones, en países como Argentina, la prueba tuberculínica (efectuada con PPD de calidad garantizada, leída e interpretada según normas estándar) resulta un elemento de valor

suficiente para el diagnóstico de la infección tuberculosa. Se debe recordar que, como todas las pruebas diagnósticas, la prueba cutánea no es un fin en sí misma, sino que debe ir seguida de las medidas de prevención, protección y terapéuticas que correspondan, y que para el diagnóstico de enfermedad tuberculosa su valor es sólo complementario.

La PPD es un reactivo cuya producción y control son relativamente sencillos y económicos y que seguirá siendo necesario para el control de la TB, al menos durante una década. Actualmente sólo lo producen unos pocos laboratorios a escala internacional. Por ello es necesario que su producción sea asumida por instituciones nacionales, para cubrir las necesidades del país con menores costos que el importado comercialmente y aun para abastecer a otros países de la región.

La búsqueda de una prueba más específica para el diagnóstico de la infección tuberculosa, con mejor sensibilidad que las actualmente en uso y un costo accesible, constituye un objetivo de interés para la investigación. A ello se agrega la posible aplicación de estos métodos en la exploración de la respuesta inmune para otras infecciones, tanto en salud pública como en veterinaria.

Las discrepancias entre los nuevos métodos y la antigua PPD plantean interrogantes de interés tanto práctico como científico y aún quedan varias cuestiones a resolver respecto al rol de los IGRAs en el diagnóstico de la TB latente. Los estudios prospectivos de cohorte podrían definir cuál de estas pruebas predice mejor la evolución a TB activa, es decir, cuál identifica mejor a las personas que más se beneficiarán con la quimioprofilaxis. Una vez definido esto, la quimioprofilaxis podría restringirse a los que tengan alto riesgo de desarrollar TB y condiciones para cumplirla. Además, tanto el mejor conocimiento sobre las causas de las discordancias entre las pruebas como la identificación de nuevos antígenos podrán contribuir a dilucidar cuestiones sobre la relación entre infección y enfermedad, fundamentales para el control de TB en todo el mundo.

Bibliografía

1. González-Martín J, García-García JM, Anibarro L, et al. Documento de Consenso sobre Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de la Tuberculosis. Servicio de Microbiología, Sección de Neumonología, servicio de enfermedades infecciosas. España. 2010.
2. Cascante JA, Pascal I, Eguía VM, Hueto J. Diagnóstico de la Infección Tuberculosa. Servicio de Neumonología Hospital Virgen del Camino. Pamplona. 2007; 30 supl 1.
3. Brian C, Gaitán C, Pelaya E, Sáenz C. Asociación Argentina de Medicina Respiratoria. Consenso Argentino de Tuberculosis. Capítulo 1: Prevención. 2009.
4. De Cantor IN, Ritacco V. ¿Es suficiente la prueba tuberculínica para el diagnóstico de la infección tuberculosa? Panel de consultores en tuberculosis, OMS, Buenos Aires; CONICET- ANLIS Carlos G. Malbrán. Buenos Aires, 2009; 69: 359-69.
5. Casas Rodríguez S, Alcaide Fernández de Vega F, Santín Cerezales M. Alternativas a la prueba de la tuberculina. Unidad de Tuberculosis del Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario de Bellvitge. España, 2007; 9: 34-7.
6. Pachón I, León SC, Reyes H, de Souza ML, Santín M. Programas de Tuberculosis. Plan para la Prevención y Control de la Tuberculosis. Ministerio de Sanidad y Política social. 2009; 11: 202-11.
7. Vázquez Gallardo R. PROCON. Alternativas a la Prueba de la Tuberculina ¿Es ya el momento de introducir las nuevas pruebas en Galicia? Unidad de Tuberculosis. Servicio de Neumonología. CHUVI. 2007.
8. Recommendations and reports. CDC. MMWR. Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect *Micobacterium tuberculosis* Infection 2010; 59.
9. Comparison of a Whole-Blood Interferon Assay With Tuberculin Skin Testing for Detecting Latent *Micobacterium tuberculosis* Infection. American Medical Association 2010; 286.
10. García L. ¿Es ya el momento de introducir en nuestro medio las nuevas pruebas diagnósticas de la infección tuberculosa? Unidad de Tuberculosis. Complejo Hospitalario de Pontevedra. Pneuma 2007; 9: 41-5.
11. Consensus Statement. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to *M. Tuberculosis*? A TBNET consensus statement. European Respiratory Journal 2009; 33: 956-73.
12. Boletín Epidemiológico Periódico. Situación de la Tuberculosis. Ministerio de la Salud de la Nación. Edición Especial 2009.
13. Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. Interferon release assays for the diagnosis of latent *Micobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis. Eur. Respir. J 2011; 37: 88-99.