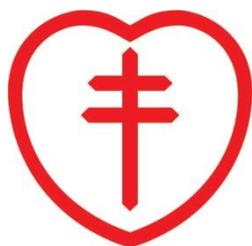


Diagnóstico de Tuberculosis utilizando las nuevas técnicas moleculares rápidas en Uruguay

Xpert MTB/RIF Ultra



Comisión Honoraria para la
**Lucha Antituberculosa y
Enfermedades Prevalentes**



Laboratorio Nacional de Referencia - Programa Nacional de Tuberculosis
CHLA-EP

Enero 2021

Diagnóstico de Tuberculosis utilizando las nuevas técnicas moleculares rápidas en Uruguay

Xpert MTB/RIF Ultra

Laboratorio Nacional de Referencia- Programa Nacional de Tuberculosis

CHLA-EP

Dra. Mariela Contrera - Neumóloga. Directora PNT

Dra. Gabriela Amaya - Pediatra. Sub-Directora PNT

Dra. Claudia Gutiérrez - Microbióloga. Médica del LNR

1. INTRODUCCIÓN

El ensayo Xpert MTB/RIF Ultra (Ultra) es una nueva generación de Xpert MTB/RIF (Xpert) que ofrece mayor sensibilidad para el diagnóstico de la Tuberculosis (TB) (1). En el año 2017 la OMS recomendó su utilización como una alternativa al Xpert, principalmente para los niños, pacientes con VIH y TB extra-pulmonar (2,3).

En las Guías consolidadas de la OMS “Diagnóstico rápido de la Tuberculosis” ((Módulo 3 - junio 2020) se recomienda realizar Xpert o Ultra como prueba diagnóstica inicial y de detección de resistencia a Rifampicina, para muestras pulmonares y extra-pulmonares (LCR, ganglios linfáticos y muestras tisulares seleccionadas) (4).

El Ultra posee una mejor sensibilidad para el diagnóstico de TB aunque una menor especificidad en relación al Xpert por la capacidad de detección de “trazas” de ADN, hecho a tener en cuenta particularmente frente a pacientes con antecedentes de TB. Sobre esta base es que varios autores han planteado estudiar el impacto clínico y sobre la salud pública del Ultra en diferentes escenarios epidemiológicos, recomendando la inclusión del mismo en algoritmos diagnósticos que contemplen la prevalencia de la TB y las características de la población en la que se aplica (5,6).

Teniendo en cuenta la incorporación de esta nueva técnica en el país a nivel de algunos prestadores privados y próximamente en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de la CHLA-EP, consideramos necesario la elaboración de pautas que aborden los aspectos generales de la técnica, el rendimiento diagnóstico y algoritmos de diagnóstico y tratamiento en diferentes situaciones clínicas-epidemiológicas.

1. DESCRIPCIÓN TÉCNICA

Las técnicas Xpert y Ultra utilizan la plataforma GeneXpert (Cepheid), que permite realizar ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, en forma automatizada, cerrada, integrada y semi-cuantitativa. Se detectan ácidos nucleicos del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y las mutaciones más frecuentes en el gen *rpoB* asociadas a

resistencia a rifampicina en pacientes con síntomas de TB en un tiempo menor a 2 horas (7). Los ensayos no permiten diferenciar entre las distintas especies dentro del complejo *M. tuberculosis*. Debido a que pueden detectar material genético de bacterias no viables no son apropiados para utilizar en el seguimiento del tratamiento.

Xpert y Ultra son técnicas más sensibles que la microscopía para la detección de TB, asemejándose a la sensibilidad del cultivo.

La sensibilidad varía principalmente si se trata de pacientes paucibacilares (niños, VIH) y del tipo muestra: elevado rendimiento para expectoración, seguido de LCR, ganglios y tejidos, y menor para líquidos biológicos (serosas) (8).

En la siguiente tabla se comparan características de ambos ensayos.

	Xpert MTB/RIF	Xpert MTB/RIF Ultra
Detección de secuencias en el genoma	gen <i>rpoβ</i>	gen <i>rpoβ</i> y secuencias de inserción (IS6110 e IS1081)
Categorías semi-cuantitativas de carga bacteriana detectada	Alta, media, baja y muy baja.	Alta, media, baja, muy baja y trazas.
Límite de detección en muestra de esputo	131 UFC/ml	16 UFC/ml
Detección de resistencia a Rifampicina	PCR en tiempo real	Análisis por curvas de fusión

La categoría trazas corresponde a la carga más baja de detección de *M. tuberculosis* e indica la detección de las secuencias de inserción IS6110 e IS1081 que se encuentran repetidas múltiples veces en el genoma. Al no detectarse el gen *rpoβ* no puede realizarse el análisis de resistencia a la Rifampicina y el resultado se informará como indeterminado.

1. RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO de ULTRA

En base a un estudio multicéntrico que incluyó 1520 pacientes, niños y adultos, pertenecientes a entornos con diferente prevalencia de VIH y TB MDR se evaluó la performance diagnóstica del Ultra en relación al Xpert, tomando como “gold estándar” el cultivo (9).

La sensibilidad del Ultra y del Xpert fue 88% y 83% respectivamente, observándose un aumento a favor del Ultra (5% IC 95% 3.3-8%), siendo esta diferencia aún mayor en los casos con directos negativos (17%; IC 95%: 0-25%) y en pacientes VIH positivos (12%; IC 95% 4.9-21%).

La especificidad global del Ultra y del Xpert fue 96% y 98% respectivamente y 93% versus 98% en los pacientes con antecedentes de TB.

En la población pediátrica, una revisión Cochrane reciente que incluía casi 70000 niños mostró una sensibilidad en muestras de esputo del Xpert y del Ultra de 64,6% y 72,8% respectivamente; con una especificidad de 99% para Xpert y 97,5% para Ultra (2).

La performance en la detección de resistencia a rifampicina fue similar para ambas técnicas.

El resultado trazas del Ultra explica la mayor sensibilidad de la técnica pero a expensas de una menor especificidad. La capacidad del Ultra de detectar una mínima cantidad de copias de ADN (16 vs 131 del Xpert) puede determinar falsos positivos o sea pacientes que no tienen una TB activa. Las causas de esta menor especificidad pueden deberse a: 1) Presencia de bacilos no viables, por ejemplo en los casos de pacientes previamente tratados, 2) Infección reciente en personas sin síntomas y sin lesiones radiológicas compatibles con TB, 3) Contaminación cruzada, principalmente en laboratorios en los que se manejan un número elevado de muestras o debido a la presencia de material genético residual en equipos de endoscopia (10-13).

La interpretación del resultado trazas deberá tener en cuenta la ecuación riesgo- beneficio: riesgo de indicar tratamientos antiTB frente a un resultado falso positivo versus el beneficio de obtener el diagnóstico en pacientes paucibacilares con la eventual disminución de la morbimortalidad (14,15).

De acuerdo a lo analizado, recomendamos que en la población pediátrica, personas con VIH y muestras extrapulmonares el resultado trazas se considere como verdadero positivo.

En los adultos, la interpretación de este resultado deberá tener en cuenta la prevalencia de la TB en la población general y en el entorno del que procede el paciente. De todas formas, frente al caso individual se deberá evaluar el contexto clínico (inmunodepresión, presentación radiológica, etc.) y epidemiológico (noción de contacto, procedencia del paciente) para la toma de decisiones terapéuticas (16).

Es importante señalar que si bien el “gold estándar” en la mayoría de los estudios es el cultivo, han surgido trabajos que plantean que frente a una técnica con una sensibilidad comparable al cultivo debería plantearse un “gold estándar” compuesto, que incluya la clínica, radiología y cultivo.

1. IMPLEMENTACIÓN DE ULTRA POR EL PNT

El LNR y el PNT de acuerdo con las recomendaciones de la OMS, considera beneficioso la incorporación del ensayo Ultra por parte de los prestadores de salud en busca de optimizar el diagnóstico precoz de la TB en nuestro país.

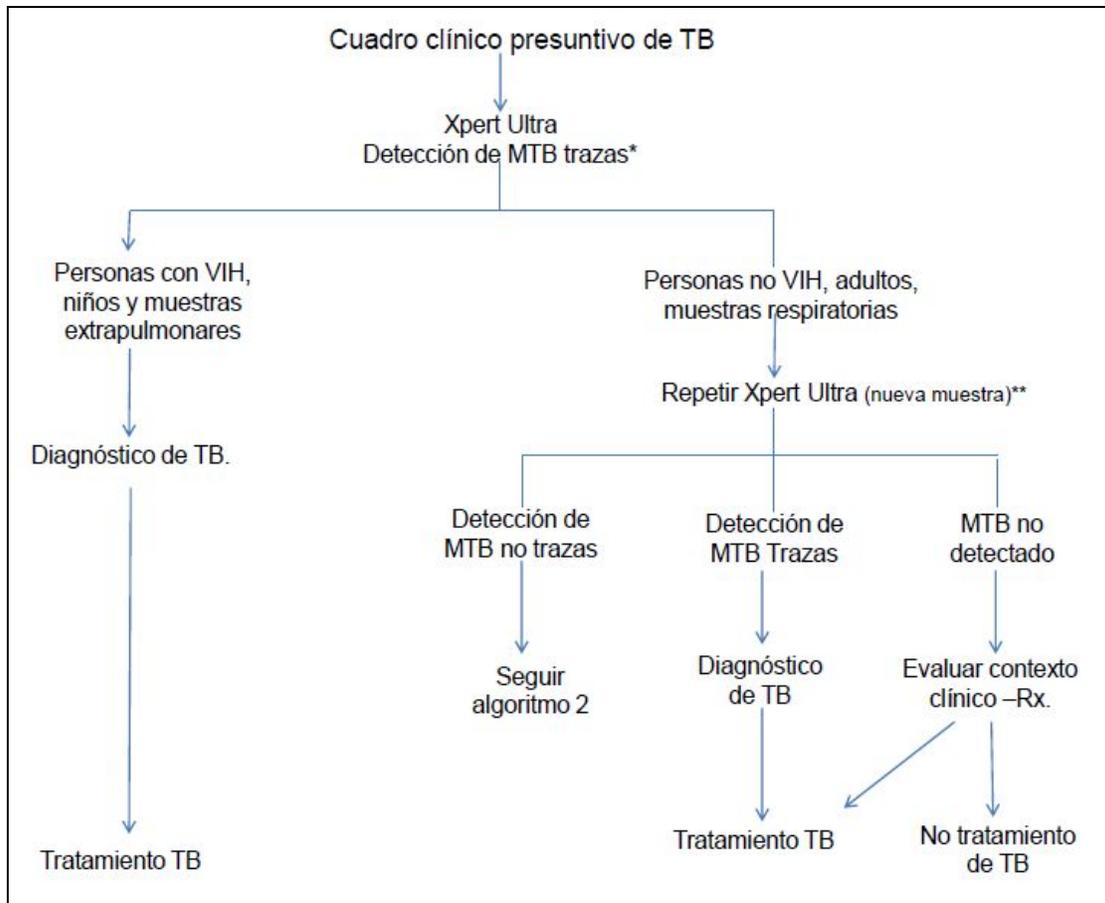
El PNT y LNR plantean realizar una evaluación del rendimiento diagnóstico del Ultra (resultado trazas) utilizando como “gold estándar” el cultivo versus un “gold estándar” compuesto: cultivo, cuadro clínico-evolutivo y radiológico.

Este trabajo esperamos sirva para comprender el verdadero valor del resultado trazas en nuestro medio y en muestras que puedan generar dificultades de interpretación como los lavados broncoalveolares.

1. ALGORITMOS DIAGNÓSTICOS

Se proponen algoritmos de diagnóstico y de conductas terapéuticas para la TB basados en la utilización del Ultra y Xpert

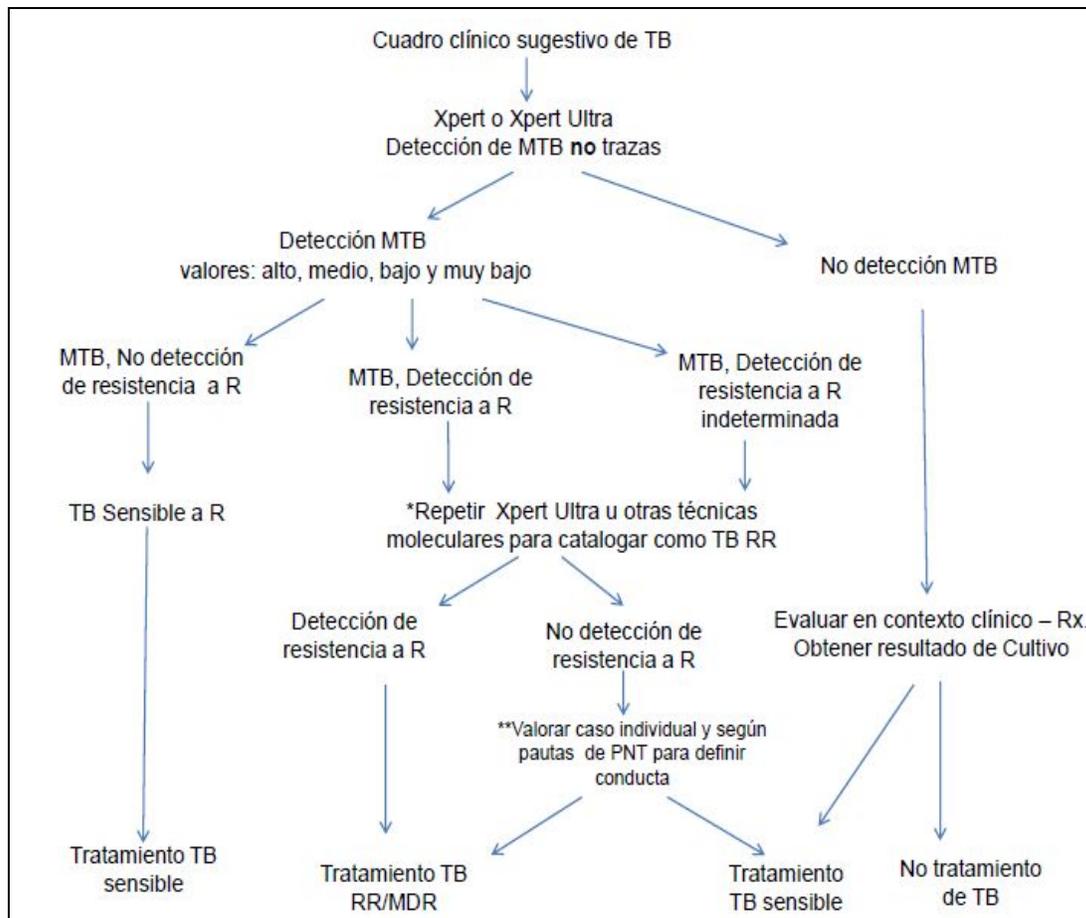
Algoritmo 1. Xpert Ultra resultado trazas



*El resultado trazas no permite determinar la resistencia de MTB a Rifampicina.

**Se repetirá el estudio en la muestra inicial exclusivamente en caso de no poder obtenerse una segunda muestra (ej: considerar riesgo elevado de realizar procedimientos invasivos)

Algoritmo 2. Xpert y Xpert Ultra resultado no trazas



*En países de baja prevalencia de TB RR/MDR como Uruguay frente a un primer resultado con detección de resistencia a Rifampicina se debe repetir el estudio (nueva muestra) y de ser positivo se considerará una TB Resistente a la Rifampicina (TB RR).

**En caso de discordancia entre un primer y segundo resultado de RR se tomarán en cuenta presencia de factores de riesgo para TB RR/MDR (contacto de caso TB RR/MDR, antecedentes de abandono de tratamiento, mala adherencia al tratamiento, etc) para definir el esquema de tratamiento; si la situación clínica del paciente lo permite se esperará resultados de cultivos.

Bibliografía

1. WHO. Meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTF/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. Geneva: World Health Organization; 2017 (WHO/HTM/TB/2017.04)
2. Kay AW, González Fernández L, Takwoingi Y, Eisenhut M, Detjen AK, Steingart KR, Mandalakas AM. Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra assays for active tuberculosis and rifampicin resistance in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020, Issue 8. Art. No.: CD013359 DOI: 10.1002/14651858.CD013359.pub2
3. Horne DJ, Kohli M, Zifodya JS et al. Xpert/Rif y Xpert/Rif Ultra para la tuberculosis pulmonar y resistencia a la Rifampicina en adultos (Revisión. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2019, Issue 6.
4. WHO. Consolidated Guidelines on Tuberculosis. Module 3: Diagnosis – rapid diagnostics for tuberculosis detection. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
6. Kendall E, Schumacher S, Denkinger C et al. Estimated clinical impact of the Xpert MTB/RIF Ultra cartridge for diagnosis of pulmonary tuberculosis: a modeling study. *PLoS Med* 14(12):e1002472 <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002472> December 14, 2017
7. MINSAL. Manual Operativo. Implementación del GeneXpert MTB/RIF en el Programa de Tuberculosis. Programa de Control y Eliminación de la Tuberculosis. Chile, 2017.
8. Maynard-Smith et al. Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary and pulmonary tuberculosis when testing non-respiratory samples: a systematic review. *BMC Infectious Diseases* 2014. DOI 10.1186/s12879-014-0709.
9. Dorman SE, Schumacher SG, Alland D et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 76-84.
10. Global Laboratory Initiative (Gli). Planning for country transition to Xpert/Ultra cartridges. April 2017.
11. Borst A, Box AT, Fluit AC. False-Positive Results and Contamination in Nucleic Acid Amplification Assays: Suggestions for a Prevent and Destroy Strategy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 289–299.
12. Kaul K, Scott L, McGurn C et al. Amplification of Residual DNA Sequences in Sterile Bronchoscopes Leading to False-Positive PCR Results. *Journal of Clinical Microbiology*, Aug. 1996, p. 1949–1951.
13. Tae Sun Shim, Hyun Sook Chi, Sang Do Lee et al. Adequately Washed Bronchoscope Does Not Induce False-Positive Amplification Tests on Bronchial Aspirates in the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *CHEST* 2002; 121:774–781

- 14.** Kendall EA, Kamoga C, Kitonsa PJ, et al (2019). Empiric treatment of pulmonary TB in the Xpert era: Correspondence of sputum culture Xpert MTB/RIF, and clinical diagnoses. PLoS ONE 14(7):e0220251. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220251>.
- 15.** Piersimoni C, Gherardi G, Gracciotti N, Pocognoli A (2019) Comparative evaluation of Xpert MTB/RIF and the new Xpert MTB/RIF ultra with respiratory and extra-pulmonary specimens for tuberculosis case detection in a low incidence setting. J Clin Tuberc Other Mycobact Dis 15:100094
- 16.** Basteiro A, Saavedra B, Cobelensa S. The Good, the Bad and the Ugly of the Next-Generation Xpert Mtb/Rif® Ultra Test for Tuberculosis Diagnosis Pros y contras de la prueba xpert MTB/RIF® ultra de nueva generación para diagnosticar la tuberculosis. Arch Bronconeumol. 2017;53(12):665–666