

LOS PROS Y CONTRAS DE LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS

Javier Delgadillo*, Carolina Padilha*, Katherine Rodríguez Ortiz**

* Estudiantes de medicina UNSLP

** Docente de Microbiología UNSLP

RESUMEN

La tuberculosis es uno de los padecimientos con mayor incidencia mundial. La infección se presenta cuando el *Mycobacterium tuberculosis* ingresa al organismo, y la enfermedad surge cuando se altera el estado inmunológico, nutricional y de vacunación. Uno de los factores de su incidencia se debe a la complejidad de los métodos de diagnóstico, basado en eso el propósito de esa revisión es básicamente hacer una comparación entre las ventajas y desventajas de los métodos de diagnóstico microbiológico para la Tuberculosis, ya que un diagnóstico efectivo permite realizar un tratamiento de mayor eficacia.

Palabras clave: Diagnostico microbiológico, Tuberculosis, PCR, Tuberculina, IGRA, Interferón, Baciloscopia, Cultivo.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis está producida por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* y se trasmite, mayormente por vía aérea, a través de las gotitas de pflugge de pacientes con enfermedad activa a un individuo sano.

Una vez que los bacilos, dependiendo del potencial de infectividad llegan al organismo, y fundamentalmente al alvéolo, se produce una respuesta inflamatoria constituida por macrófagos que fagocitan los bacilos; se liberan citocinas que atraen neutrófilos, macrófagos y linfocitos T,

que a su vez segregan factor de necrosis tumoral alfa e interferón-gamma. Esta situación de respuesta inmunitaria al bacilo constituye la infección tuberculosa (1).

Posteriormente el bacilo puede permanecer latente en los macrófagos sin producir síntomas (infección tuberculosa latente), o progresar a enfermedad. El diagnóstico de tuberculosis es esencialmente microbiológico y es uno de los pilares en el control epidemiológico de la enfermedad (2).

En la presente revisión se compara los métodos diagnósticos de la tuberculina y el interferón-y incluyendo características de otros métodos como la baciloscopia, cultivo y la reacción en cadena de polimerasa (PCR), enfatizando la sensibilidad que es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, y la especificidad que es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano (3).

DESARROLLO

Tuberculina

La prueba de la tuberculina es la técnica más utilizada y conocida para la detección de una infección tuberculosa, a partir de la PPD (Derivado Proteico Purificado).

Valoración de la reacción

Es importante que la reacción se valore entre las 48-72 horas de la inyección, una reacción positiva de Tuberculina se define como una induración plana irregular y ligeramente elevada con un diámetro de 6 mm como mínimo, rodeada por una zona de enrojecimiento más o menos definida. Una reacción positiva indica una respuesta del sistema inmunitario causada por uno o varios de los siguientes factores:

- Infección con complejo de *Mycobacterium tuberculosis*.
- Infección con micobacterias no tuberculosas.
- Vacuna BCG anterior (las c. personas vacunadas con BCG normalmente muestran reacción positiva a la tuberculina después de 4-8 semanas).

Se obtiene una reacción positiva dos a diez semanas después de la primoinfección tuberculosa; hasta 95% de los pacientes que se han expuesto a esa micobacteria desarrollarán una induración mayor de 10 mm, por esto, un resultado positivo indica infección tuberculosa, activa o inactiva. Aunque existen dos preparados: tuberculina antigua y derivado proteínico purificado (PPD), el primero está en desuso, ya que tiene menor especificidad (2).

Falsos positivos de la prueba de la tuberculina:

- Individuos vacunados con BCG (cepas atenuadas de *M. bovis*).
- Infección por MAO (Mycobacterias ambientales oportunistas).
- Individuos no sensibilizados a *M. tuberculosis* que reciben transfusiones sanguíneas de sensibilizados.
- Rotura de vaso o infección en la zona de inyección (4).

Falsos negativos de la prueba de la tuberculina:

Relacionado con el individuo al que se le realiza la PT:

- Infecciones víricas: VIH, varicela, sarampión, parotiditis.
- Infecciones bacterianas: fiebre tifoidea, brucelosis, lepra, tosferina, tuberculosis pleural y diseminada.
- Infecciones fúngicas: blastomycosis.
- Vacunaciones con virus vivos: sarampión, parotiditis, varicela.
- Alteraciones metabólicas: insuficiencia renal crónica.
- Alteraciones del estado proteico: depleción proteica severa, afibrinogenemia.
- Enfermedades de los órganos linfoides: linfomas, leucemia linfocítica crónica, sarcoidosis.
- Fármacos: corticoides y otros inmunosupresores.
- Edad: recién nacidos y ancianos.
- Situaciones de estrés: cirugía, quemados, enfermedad mental, reacción injerto contra huésped (4).

Con respecto a la Tuberculina

A través de los años se han ido desarrollando nuevos métodos de diagnóstico de tuberculosis, entre tanto se sigue optando a la prueba de la tuberculina como mejor opción

siendo empleada en los países de bajos recursos; por su capacidad de detectar una primoinfección y una infección activa en alrededor de 48 a 72 horas, por la fácil interpretación de los resultados. Por otra parte la PT posee grandes posibilidades de mostrar un falso diagnóstico, ya que al no poseer antígenos específicos puede resultar en una reacción cruzada.

La técnica in vitro de Interferón Gamma (IFN- γ)

El fundamento de esta prueba es la detección de interferón- γ tras la estimulación in vitro de las células T sensibilizadas presentes en sangre con antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis*, se utilizan los mismos porque no están presentes en la vacuna contra la tuberculosis (BCG) y se puede identificar a pacientes que han sido infectados por *Mycobacterium tuberculosis* o a los que tienen una infección activa (2).

Estos métodos, denominados genéricamente en la bibliografía anglosajona con el acrónimo de IGRA (Interferon-Gamma-Release Assays) detectan la liberación de interferón-gamma en respuesta a antígenos tuberculosos específicos. El interferón-gamma es una molécula imprescindible en la respuesta inmune protectora frente a dicho microorganismo. Esta citoquina, producida por los linfocitos T CD4+, CD8+ y NK, activa a los macrófagos

infectados con la consiguiente liberación de IL-1 y TNF-alfa, que limitan el crecimiento y multiplicación de las micobacterias (5).

El proceso IGRA:

La sangre es recogida por un proveedor de atención médica y enviada a un laboratorio para el procesamiento. El laboratorio debe comenzar la transformación de la sangre en 8 y 16 horas después de la colección (dependiendo de qué prueba se utiliza). Los resultados de la prueba están generalmente disponibles en 24 horas.

Los resultados de la prueba posible son:

- Positivo: Ha habido una respuesta inmunitaria que indica la presencia de bacterias de la TB.
- Negativo: No ha sido una respuesta inmunitaria que indica la presencia de bacterias de la TB.
- Indeterminado: Resultados claros. Posible error o los resultados de Frontera (sólo para T-SPOT®.TB): resultados en una frontera de zona y no puede decir si realmente positivo o negativo. (7)

Ventaja de las técnicas de determinación de IGRA sobre la prueba de la tuberculina

Estas técnicas ofrecen importantes ventajas sobre la PT:

1) No presentan interferencias con la vacuna BCG.

2) incorporan un control positivo que proporciona valiosa información a la hora de interpretar una prueba, aparentemente negativa, como verdadera negativa o indeterminada (errores técnicos o inmunosupresión).

Otras Características de las IGRAs

En un estudio de metanálisis se ha demostrado que la sensibilidad del QuiantiFERON fue del 76% y la especificidad del 97%.

Los IGRAs son muy útiles para diagnosticar la tuberculosis por que se detectan células de IFN- γ frente a antígenos del Mycobacterium tuberculosis; el valor predictivo (5).

Con respecto al Interferón- γ

Los resultados en cuanto a su especificidad y sensibilidad vienen establecidas por el fabricante de la prueba y no dependen del dintel o la inoculación y tampoco genera un efecto booster, su valor predictivo es más alto, no presenta interferencias con BCG ya que contiene los antígenos del Mycobacterium tuberculosis. También se debe advertir que la prueba sigue sin ser tan popular y su costo es muy alto por eso se recomienda usarla como una prueba complementaria a la tuberculina.

Amplificación genómica, PCR en el diagnóstico de tuberculosis

Es una técnica basada en la amplificación genómica como es la reacción de polimerasa en cadena (PCR), se utilizan para realizar diagnóstico rápido de tuberculosis. Se han descrito muchas variaciones de estas técnicas, cuyas evaluaciones han reportado resultados importantes para considerar el uso de estas pruebas en el diagnóstico.

Particular importancia se le ha dado a la utilidad de estas pruebas, por su sensibilidad, en el diagnóstico de tuberculosis paucibacilares y extrapulmonares. Los valores obtenidos para la PCR de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron en su orden: 100%, 95.3%, 93.8% y 100% (4), estos resultados validan el uso potencial de esta tecnología en el diagnóstico de tuberculosis (6).

Con respecto a la prueba del PCR

Detecta y amplifica una secuencia genómica de ADN o RNA, permite identificar al complejo *Mycobacterium tuberculosis* y otras micobacteria, posee una gran sensibilidad ya que puede detectar muestras con baja carga bacilar, también es

considerada específica pues reconoce género especie en unas cuantas horas, aunque el PCR sea una herramienta valiosa para la detección de tuberculosis no es considerado un método de diagnóstico definitivo ya que pueden haber problemas de contaminación ambiental con fragmentos libres de ADN o ARN llevando a falsos positivos.

Baciloscopia directa

A pesar de los múltiples avances efectuados en los últimos años en el diagnóstico de la TB, la baciloscopia mediante la técnica de Ziehl-Neelsen continúa siendo la base del diagnóstico y seguimiento de la TB por su sencillez, rapidez, reproducibilidad en todos los ámbitos y bajo coste, y porque detecta los casos contagiosos de la comunidad, lo que constituye la base del diagnóstico y seguimiento de la TB. La tinción de los bacilos va ligada a los ácidos micólicos de la pared micobacteriana, y éstos están presentes en el resto de las micobacterias y no se pierden cuando el bacilo muere. Por lo tanto, una baciloscopia positiva puede corresponderse con *M. tuberculosis* vivo o muerto (lo que puede dificultar su interpretación en el seguimiento de los enfermos en tratamiento), o con otra micobacteria.

Su principal inconveniente es su moderada sensibilidad, que está condicionada por la localización y el grado de afectación de la enfermedad, la calidad de la muestra y el tiempo que dedica el observador para determinar que una baciloscopia es negativa. La sensibilidad puede incrementarse mediante la concentración de la muestra. Sin embargo, su especificidad es muy elevada, superior al 95%, tan sólo limitada por los falsos positivos que pueden aportar otras micobacterias ambientales o por otras causas técnicas muy infrecuentes. Por consiguiente, una baciloscopia negativa no descarta la TB, pero una baciloscopia positiva prácticamente la confirma en más del 95% de los casos y es indicación de iniciar tratamiento. La baciloscopia mediante técnica de fluorescencia tiene la ventaja de un ahorro importante de tiempo en la lectura de la extensión, por lo que puede estar indicada como cribado en los centros que procesan muchas muestras diarias. De todas formas, la baciloscopia positiva por fluorescencia debe confirmarse con la técnica de Ziehl-Neelsen (7).

Cultivo de las micobacterias

La otra técnica básica en el diagnóstico de la TB es el cultivo, único método que puede asegurar con certeza la existencia de TB si se

acompaña de identificación, y el único que es completamente válido para evaluar el seguimiento del paciente y garantizar su curación. Además, el cultivo es necesario para realizar las otras 2 técnicas microbiológicas convencionales: la identificación y el antibiograma.

Tiene, además, la importante ventaja de una mayor sensibilidad que la baciloscopia. El inconveniente de la larga espera necesaria para obtener el resultado y el complejo procesamiento de la muestra limitan su utilidad para la decisión clínica. Con demasiada frecuencia el cultivo sólo confirma diagnósticos, no los realiza como base de la decisión clínica, que suele tomarse basándose en técnicas mucho más rápidas como la baciloscopia y la radiografía. Básicamente, hay 2 posibilidades de realizar los cultivos: en medio sólido y en medio líquido. El más utilizado y más barato es el medio sólido, sobre todo los preparados a base de huevo (Löwenstein-Jensen). Sin embargo, debido a las ventajas de una menor demora en obtener los resultados, la mayor sensibilidad y la posibilidad de automatización, poco a poco se han ido generalizando los medios líquidos, cuyo inconveniente es que tienen mayores tasas de contaminación. En cualquier caso, su demora sigue siendo excesiva para la toma de decisiones clínicas (5 y 1).

Con respecto a la Baciloscopia y el Cultivo

La ventaja del método de la baciloscopia es que puede ser efectuada en casi cualquier lugar y que el hallazgo de bacilos ácido alcohol resistente en áreas de alta prevalencia es prácticamente confirmatorio de la presencia de la enfermedad. Múltiples estudios han demostrado el incremento de la sensibilidad, manteniendo la especificidad, si se efectúan baciloscopias seriadas, o se concentra y sedimenta la muestra de esputo, así como con el uso de microscopio fluorescente. La falla en establecer correctamente el diagnóstico de tuberculosis expone al paciente a un régimen medicamentoso equivocado y retrasar el tratamiento apropiado.

Limitaciones de la baciloscopia

Sin embargo es bien conocido el hecho de que existen limitaciones de sensibilidad y especificidad de la prueba de Ziehl Neelsen, de tal manera que para mejorar su valor predictivo positivo deben efectuarse al menos tres baciloscopías seriadas, (la segunda baciloscopia capta de un 7 a un 13% más de pacientes, la tercera, alrededor de 4% más de pacientes con tuberculosis) lográndose con esto hasta un 85% de detección del paciente tuberculoso

bacilífero en localidades de moderada o alta prevalencia.

Uno de los problemas para el manejo individual es que la enfermedad debe haber avanzado sustancialmente, para que permita que la persona tenga concentraciones suficientes para que la tinción sea positiva bacilos por cm. En este sentido el cultivo es más sensible por cuanto requiere concentraciones menores con la limitante que el cultivo por medios sólidos requiere de varias semanas para brindar el resultado.

Sin embargo existen pacientes con tuberculosis activa cuyas baciloscopías seriadas son negativas. La radiografía de tórax, altamente sensible, es sin embargo inespecífica y el diagnóstico de tuberculosis no debe ser establecido solo por este método. Los estudios revelan los dos extremos cuando se hace diagnóstico en base a los hallazgos radiológicos, por un lado exceso de diagnóstico de la enfermedad (falsos positivos) y también exceso de falsos negativos.

En un estudio de la India de 2229 pacientes examinados fluoroscópicamente, 227 fueron clasificados como con tuberculosis, de ellos 81 pacientes tuvo cultivo negativo (36%) y se encontraron 31 (1.5%) con estudio considerado normal pero con cultivos positivos.

Por otro lado la tuberculosis puede afectar cualquier otro órgano del cuerpo. En Honduras del 10 al 15% de las tuberculosis son extrapulmonares. El diagnóstico de la enfermedad se basa, en estos casos, en la obtención de líquidos o tejido para baciloscopia, cultivo y estudio histológico (8). La baciloscopia en tuberculosis extrapulmonar, suele ser muy insensible por cuanto generalmente son muestras paucibacilares. El cultivo tiene mayores probabilidades de confirmar el diagnóstico, con la desventaja de los costos, complejidad de técnica y la posibilidad de un retraso en el tratamiento debido a la tardanza en obtener resultados. En estos casos pueden ser de utilidad los nuevos métodos de diagnóstico.

CONCLUSIONES

En resumen las diferencias más notables entre los métodos convencionales y los nuevos radican en la técnica, el costo operativo y la especificidad pudiendo concluir que los métodos nuevos y convencionales deben fusionarse para un mejor y más efectivo diagnóstico de la infección tuberculosa.

La tuberculina es el método más usado por su bajo costo y su facilidad en la ejecución del procedimiento en países de bajos recursos, pero la

desventaja radica en la alta probabilidad de diagnosticar falsos positivos.

La prueba del interferón-gamma es más rápida y no se confunde con los antígenos de la vacuna BCG, su impopularidad hace que no sea el primer método a utilizar para el diagnóstico de la tuberculosis pero sigue siendo una prueba bastante aceptable.

Los valores de sensibilidad en PCR son importantes a la hora de decidir que método se quisiera utilizar pero esta tecnología es compleja y requiere un personal técnico especializado ya que puede haber contaminación a la hora de realizar dicha prueba

La técnica de baciloscopia es de fácil aplicación y rápidos resultados pero su baja sensibilidad se debe al grado de inoculación de la muestra o el estadio de la enfermedad

El cultivo de micobacterias es la única manera de evaluar la evolución del paciente pero el tiempo de espera de los resultados hace de este método no ser el favorito pero también sirve para realizar el antibiograma.

BIBLIOGRAFÍA

- J. A. Cascante, I. Pascal, V. M. Eguía, J. Hueto. Diagnóstico de la infección tuberculosa. An. Sist. Sanit. Navar. 2007 Vol. 30, Suplemento 2.
- Jaime Robledo R. Gloria Isabel Mejía M. Actualidad en el diagnóstico de tuberculosis por el laboratorio. Asociación Colombiana de Infectología (ACIN) -Unidad de Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológica, CIB, Medellín Colombia Vol. 5-4 2001.
- [3.http://www.fisterra.com/mbe/investigacion/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.asp](http://www.fisterra.com/mbe/investigacion/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.asp)
- Lillian Barquero Flores. Prueba de la tuberculina (PPD) aspectos técnicos y teóricos (revisión bibliográfica).
- M. Arias Guillén, R. Palomar, M. Arias. Avances en el diagnóstico de la infección tuberculosa latente en pacientes en tratamiento renal sustitutivo. Nefrología 2011; 31(2):137-41.
- <http://www.cdc.gov/tb/esp/topic/testing/bloodtest.htm>
- Juan Ruiz-Manzano, Rafael Blanquer, José Luis Calpe, José A. Caminero, Joan Caylà, José A. Domínguez, José María García y Rafael Vidal. Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. Arch Bronconeumol. 2008;44(10):551-66.
- Ramón Fúnez Solórzano, Cecilia Varela-Martínez+. Métodos Diagnósticos en Tuberculosis: lo convencional y lo nuevo. Rev Med Hondur 2006; 74:93-101.
- M.N. Altet Gómez. IGRAs: diagnóstico in vitro de la tuberculosis. BOL. S VASCO-NAV PEDIATR 2010; 42: 71-79
- Isabel n. de Kantor, Viviana Ritacco ¿Es suficiente la prueba tuberculínica para el diagnóstico de la infección tuberculosa? Medicina (Buenos Aires) 2009; 69: 359-369.
- Dr. Israel Didier Cruz Anleua y Dr. José Roberto Velásquez Serratos. Tuberculosis infantil. ¿Cómo diagnosticarla? Arch Argent Pediatr 2012; 110(2):144-151 / 144.
- María Susana Imaz María Delfina Sequeira. Diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis en Argentina: resultados de una encuesta nacional. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 23(4):885-896, abr, 2007.
- D. Moreno Pérez A. Andrés Martí, N.Altet Gómez, F.Baquero Artigao, A. Escribano Montaner, D. Gómez-Pastrana Durán, R.González Montero, M.J. Mellado Peña, C. Rodrigo-Gonzalo de Liria y M.J.RuizSerrano. Diagnóstico de la tuberculosis en la edad

- pediátrica An Pediatr (Barc).2010;72(4):283.e1–283.e14.
- C. Salinas, A. Ballaz, R. Diez, J. Iza de Pablo, I. Pocheville y U. Aguirre. Estudio de contactos en niños y adolescentes usando el QuantiFERON-TB® gold in-tube. An Pediatr (Barc). 2011;74(6):363—370.
 - Nailet Arráiz, Zolay Romay, Nelba Faría y Dámaso Mujica. Identificación diferencial de aislados clínicos de Mycobacterium tuberculosis Y Mycobacterium bovis por un ensayo de RCP múltiple. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVI, N° 6, 622 - 628, 2006.
 - Blanca I. Restrepo. Nuevas herramientas para la detección de la tuberculosis latente. Biomédica 2004; 24 (Supl.): 202-11. Ernestina Ramírez Casanova, Laura Escobedo J. tuberculosis nuevos métodos diagnósticos.