

*Diagnostico oportuno de TB y TBDR*  
*Recomendaciones recientes de OMS*

El primer eslabón del diagnóstico oportuno y control de la TB es la búsqueda de casos

En Uruguay la búsqueda de casos de TB pulmonar

parece ser insuficiente

- bajo porcentaje de la población investigada
- disminuyó en 2016

parece ser tardía

considerando que la incidencia es mediana-baja

- es alta la frecuencia de BK positivas entre los pacientes investigados
- es relativamente alta la frecuencia de pacientes con alta carga bacilar, entre los que son BK+
- es muy bajo el aporte del cultivo para la detección de casos

# Acceso al diagnóstico oportuno de TB

---

Depende de

- claros algoritmos de trabajo
- un sistema de salud alerta y con herramientas para **detectar y documentar sintomáticos y factores de riesgo**

Antecedentes de tratamiento anti TB

PPL, situación de calle

Adicción, diabetes, infección por VIH, inmunosupresión

Contacto de caso con TB (DR)

*La falta de identificación  
de factores de riesgo  
es una barrera para el acceso*

Para asegurar cobertura es necesaria la integración de los servicios de los subsistemas de salud

público, privado  
de seguridad social  
penitenciario

Cobertura en Uruguay  
Sector Público 57%  
Privado 43%

# *Acceso al diagnóstico oportuno de TB*

---

Depende de

sistema transversales eficientes de

transporte de muestras

adquisición y distribución de suministros

comunicación (TEL/fax/ e-mail)

gestión de información

(recolección, manejo y análisis de datos)

# *Acceso al diagnóstico oportuno de TB*

---

Depende de

- laboratorio(s) con suficientes recursos humanos capacitados  
equipos y mantenimiento  
insumos  
sistema de gestión de calidad  
para realizar los mejores métodos disponibles (según el caso)

*Cuales son los mejores métodos de laboratorio disponibles?*

# *Sistema aplicado por OMS para la evaluación de métodos diagnósticos de TB*

---

- Revisión sistemática (metanálisis) de resultados documentados en publicaciones que reúnan un número suficiente de pacientes investigados que cumplen requisitos de calidad pre-establecidos

*Método GRADE* <http://www.gradeworkinggroup.org/>

- Juicio de expertos (Laboratorios Supranacionales y otros)

*Método Delphi*

## La baciloscopia

fue , hasta hace poco , el mejor primer eslabón del laboratorio para la investigación diagnóstica y la detección de casos



continúa siendo un buen método para

- encauzar PS directas , si resulta positiva (realizadas directamente con la muestra del paciente) si es positiva
- finalizar el aislamiento de un paciente que requiere ser internado
- monitorear la eficacia del tratamiento del paciente con TB sensible

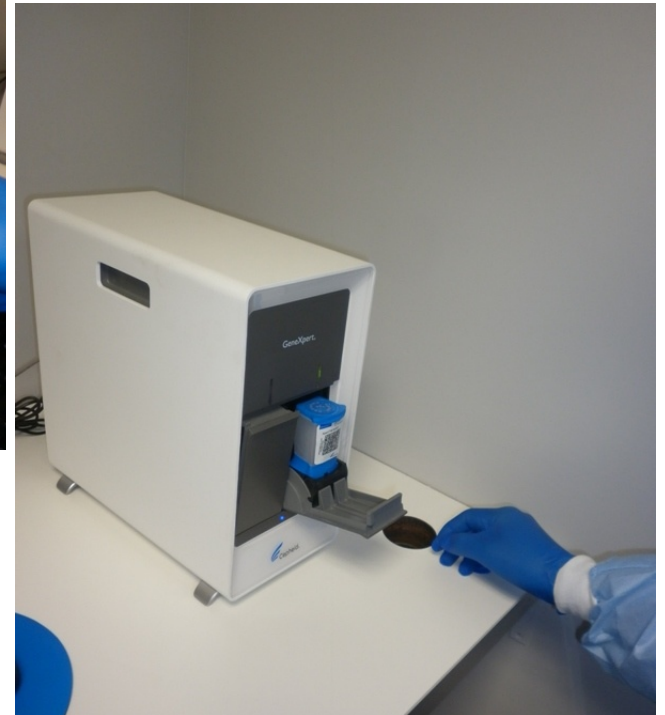
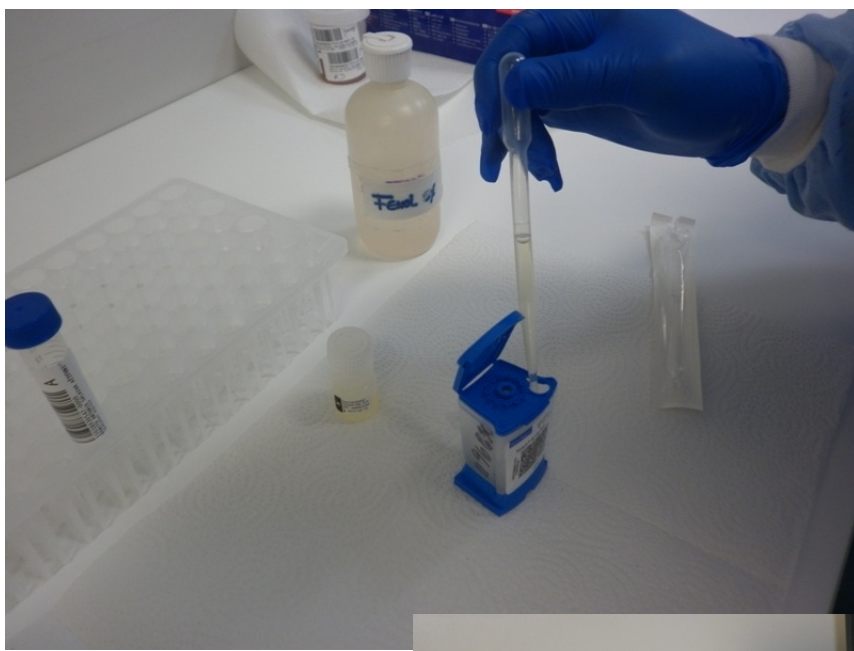
*Métodos rápidos con mayor sensibilidad que la BK  
recientemente recomendados por OMS*

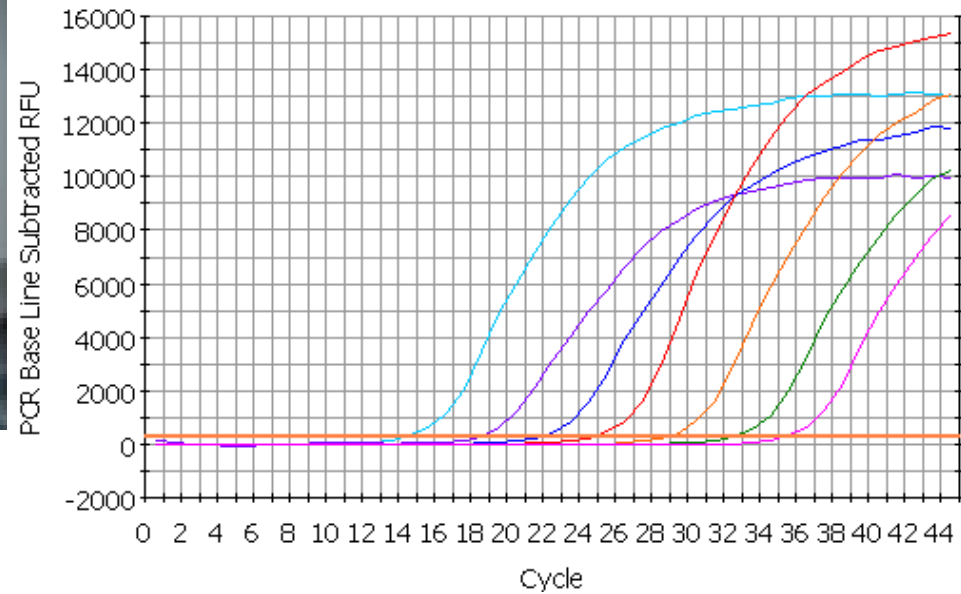
---

GeneXpert MTB/RIF  
LAMP



# GeneXpert MTB/RIF





2 horas

Cada sonda que hibrida emite señal fluorescente captada y evidenciada mediante un sensor y un software que dibuja en una curva la señal cuantificada mostrando el progreso de la reacción en tiempo real

Si las 5 sondas hibridan sin retraso , se identifica *M tuberculosis* sensible a R (*wildtype*)

Emplea iguales principios que sistemas de PCR anteriores y tiene precisión similar pero en un contenedor cerrado y con un proceso automatizado

## Ventajas operativas

Primera vez que un test con mayor sensibilidad que la baciloscopía

- **Puede ser descentralizado** con mayor facilidad que el cultivo y la PS prueba de sensibilidad convencional

riesgo biológico similar al generado por la BK  
minimiza el tiempo de procesamiento de la muestra  
y el riesgo de contaminación cruzada de laboratorio

- Plataforma múltiple
- Resultados disponibles en el día

Es mas caro que la baciloscopía

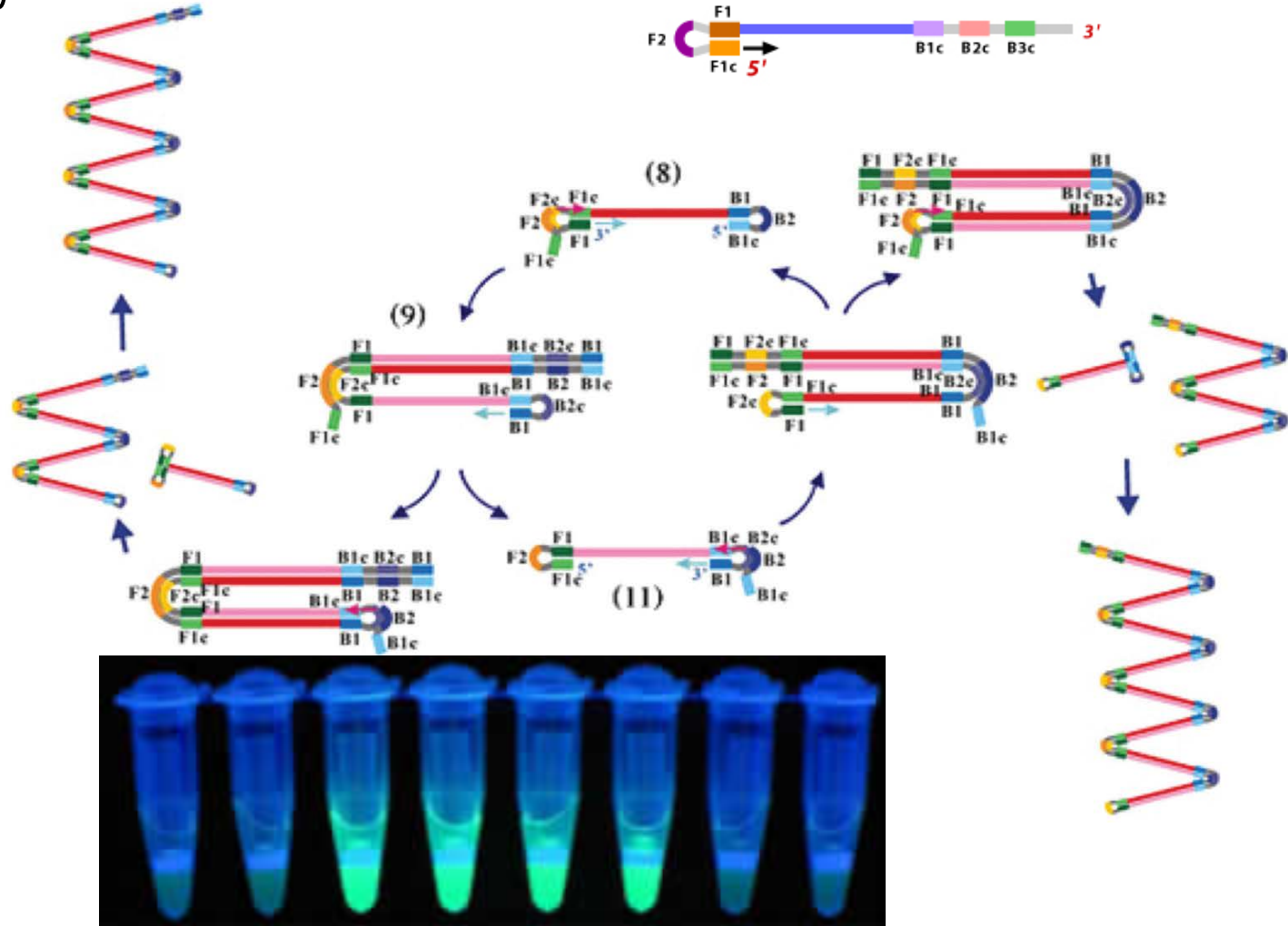
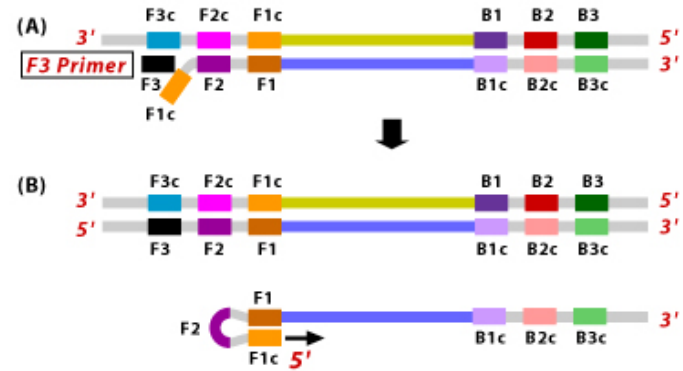


# TB LAMP

(loop mediated amplification)

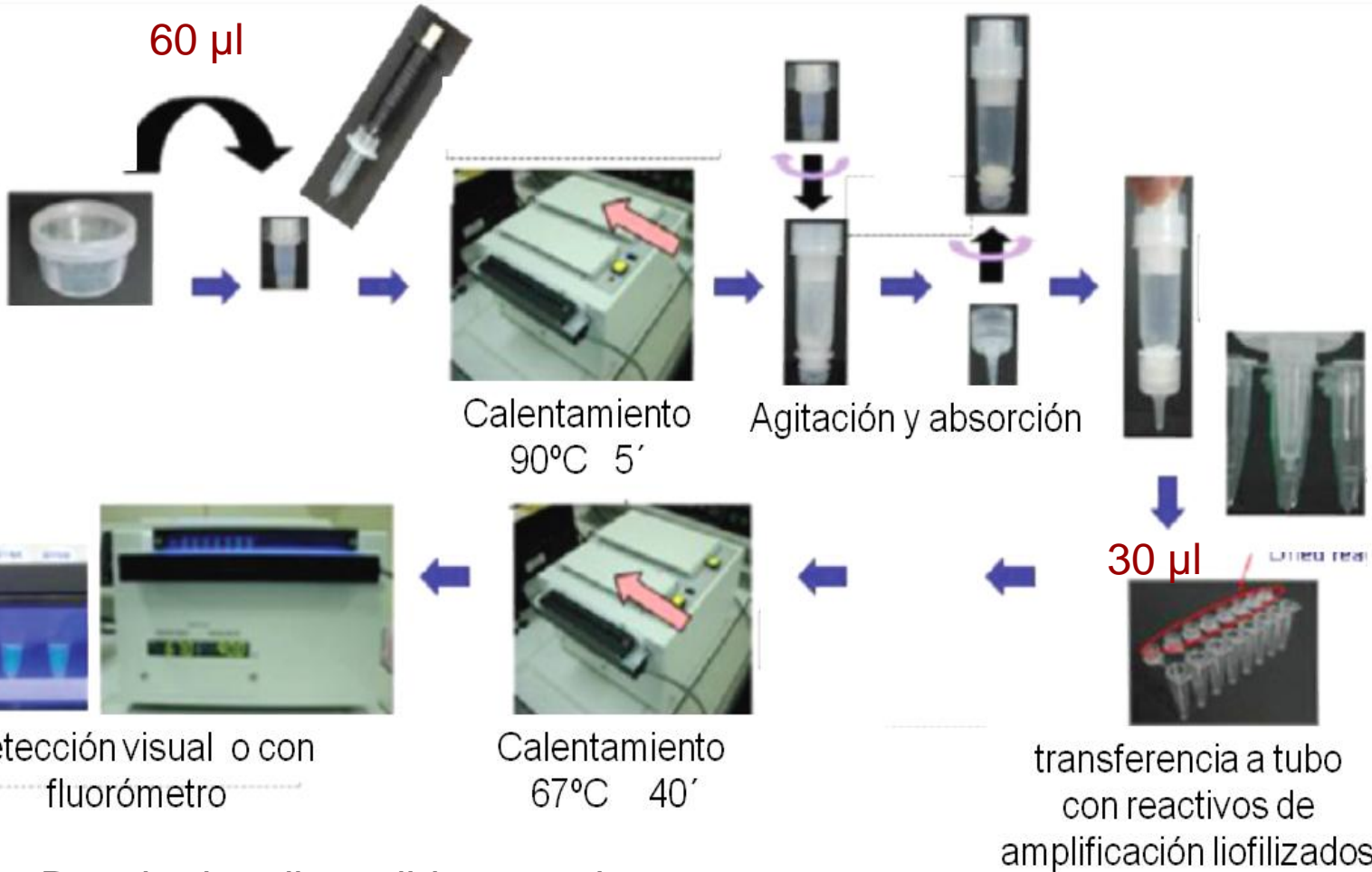
blanco IS6110

Identifica complejo *M. tuberculosis*



# TB LAMP

60  $\mu$ l



Resultados disponibles en 1 hora

# Precisión para el diagnóstico de TB pulmonar en adultos

	Sensibilidad		Especificidad		Aporte sobre la BK %	Sensibilidad entre casos HIV+
	%	IC 95%	%	IC 95%		
TB LAMP	78.0	(66.6-86.4)	98.9	(97.4-99.6)	13	similar a la BK
GeneXpert MTB/Rif	81.1	(70.6-88.5)	98.2	(95.9-99.2)	23	mayor a la BK

Referencia: cultivo

Costo por prueba de Xpert es 35-45% mayor pero, detecta, además RR

WHO/HTM/TB/2016.07  
WHO/HTM/TB/2013.05

*El Grupo de trabajo de Laboratorios recomienda para Latinoamérica mantener los esfuerzos implementación programática del Xpert (no preferir el TBLAMP)  
Arequipa , 2016*

Se prevé que

la descentralización en escenarios con limitaciones de infraestructura y capacidad técnica será mas factible con el Xpert Omni



en breve estará disponible un cartucho que permite alcanzar mayor sensibilidad que el actual

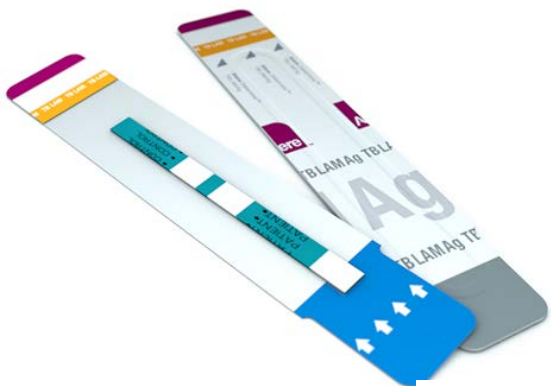


En evaluación en 11 sitios de 8 países  
Experiencia liderada por FIND

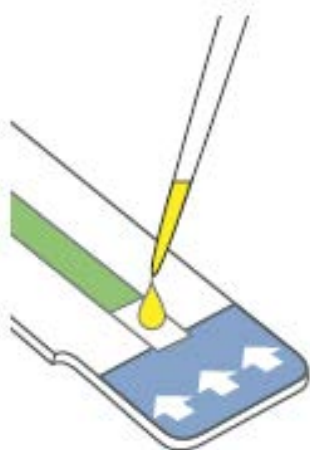


# Detección de lipoarabinomano en orina mediante prueba de flujo lateral (LF-LAM)

Alere Determine™ TB LAM Ag, Alere Inc, Waltham, MA, USA



LAM : antígeno, polisacárido de las micobacterias liberado por bacilos metabólicamente activos o en degradación



Line	Positive	Negative	Invalid
Control			
Patient			





# Evaluación de LF-LAM en sintomáticos respiratorios adultos

Países africanos

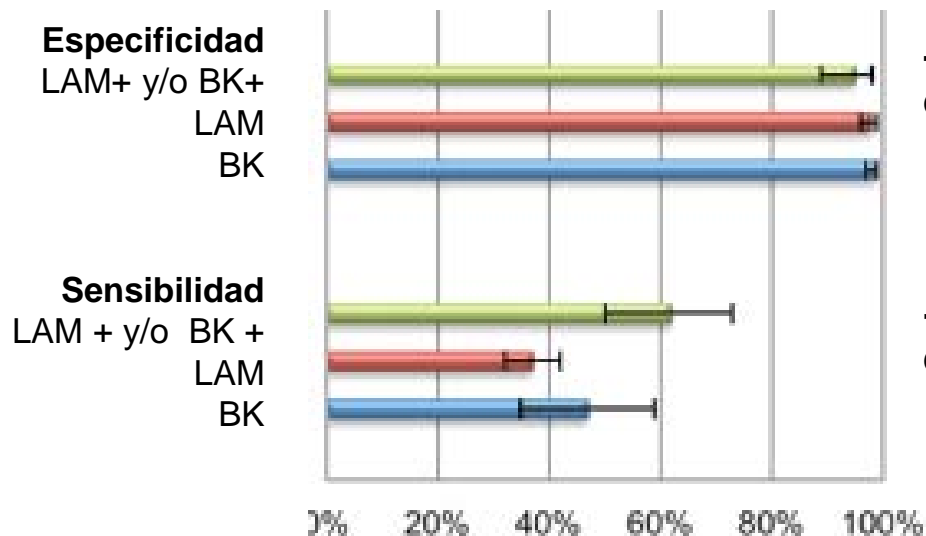
Estudios	pacientes		TB confirmada microbiológicamente %	Precisión de LF- LAM			
	HIV+			Sensibilidad	IC 95%	Especificidad	IC 95%
6	3037		38	<b>44</b>	31-60	<b>92</b>	83-96
3	1212	ambulatorios	33	<b>21</b>	12-34	<b>97</b>	87-99
3	1895	internados	41	<b>54</b>	43-67	<b>90</b>	79-95
5	925	CD4 > 200	24	<b>15</b>	8-26	<b>96</b>	89-99
5	1344	CD4 ≤ 200	45	<b>49</b>	34-66	<b>90</b>	78-95
5	1410	CD4 > 100	30	<b>26</b>	16-46	<b>92</b>	78-97
5	859	CD4 ≤ 100	47	<b>56</b>	41-70	<b>90</b>	81-95

La sensibilidad incrementa con el progreso de la infección VIH  
No debe ser empleado en todos los pacientes VIH+

WHO/HTM/TB/2015.25

# Comparación de la precisión de LF-LAM en sintomáticos adultos HIV+

**Con Baciloscopia** 4 estudios, 2220 pacientes HIV+, 36% TB



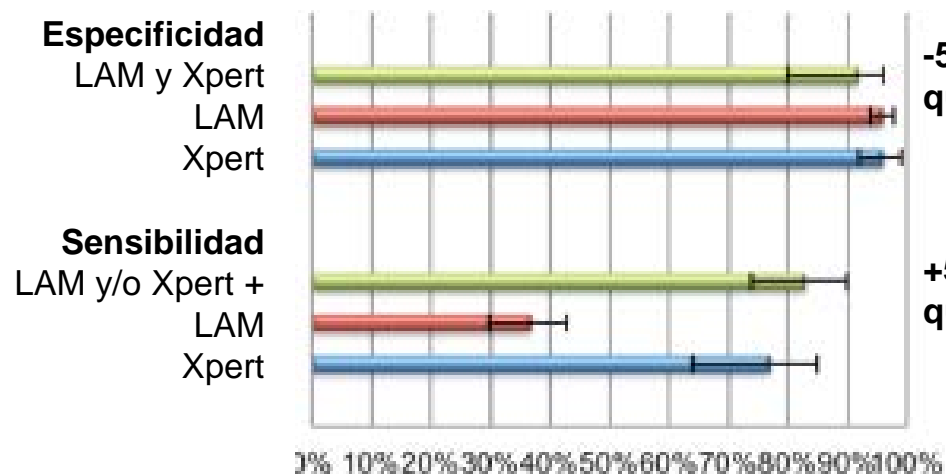
- 9%  
que BK sola

+15%  
que BK sola

LF-LAM tiene menor sensibilidad que la BK y Xpert

Pero el complemento de BK ó Xpert con LF-LAM incrementa la sensibilidad de cada prueba individual con pérdida de especificidad

**Con Xpert** 3 estudios, 1223 pacientes HIV+, 35% TB,



-5%  
que Xpert solo

+5%  
que Xpert solo

## Evaluación de LF-LAM en niños sintomáticos HIV+

Estudios	pacientes HIV+	TB confirmada microbiológicamente %	Precisión de LF- LAM	
			Sensibilidad IC 95%	Especificidad IC 95%
5	280	12	47 27-69	82 71-89

Baja especificidad

WHO/HTM/TB/2015.25

Shah M, et al Cochrane Database of Systematic Reviews 2016, 5  
Art. No.: CD011420. DOI: 10.1002/14651858.CD011420.pub2.

[www.cochranelibrary.com](http://www.cochranelibrary.com)

## *Recomendaciones de OMS*

### *Detección de LAM en orina (LF-LAM)*

---

Esta prueba  
no debe ser empleada para diagnosticar TB

excepto para pacientes HIV+  
con signos y síntomas de TB (pulmonar o extrapulmonar)  
con CD4  $\leq$  100 o seriamente enfermos

Se generaliza para niños HIV+,  
reconociendo que la evidencia es limitada  
y la preocupación por la baja especificidad

# Recomendaciones de OMS

## Detección de LAM en orina (LF-LAM)

---

### Limitaciones

EL LAM está presente en varias especies de micobacterias, no puede distinguir a *M. tuberculosis* de otras

Sin embargo, en áreas endémicas para TB, la detección de LAM probablemente puede ser atribuida a *M. tuberculosis*

Los resultados deben ser evaluados considerando la clínica

No elimina la necesidad de pruebas con mejor precisión.

Donde sea posible debe ser complementada con una prueba confirmatoria (Xpert MTB/RIF, cultivo, LPA y PSD)

Un resultado negativo no excluye TB

La recomendación se aplica sólo a orina

**El tratamiento anti-TB guiado por LAM en sintomáticos HIV + internados se asoció a reducción moderada de la mortalidad a los 2 meses**

261 (21%) muertes en el grupo LAM vs 317 (25%) en el de no LAM , ambos con Xpert y cultivo,  
Reducción 4% (95% IC1-7)

Peter JG et al Lancet. 2016 ;387:1187-97. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01092-2.

**Protocolos para la evaluación del empleo del LAM para reducir la mortalidad en África STAMP TB Fast Track**

Gupta-Wright *et al.* BMC Infectious Diseases, 201) 16:501 DOI 10.1186/s12879-016-1837-z

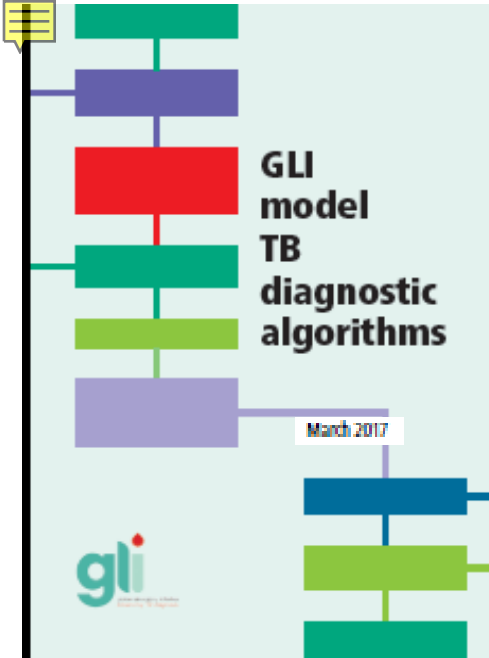
Fielding *et al.* Trials (2015) 16:125 DOI 10.1186/s13063-015-0650-0

# *Recomendación del Grupo de Trabajo de Laboratorio para Latinoamérica Arequipa 2016*

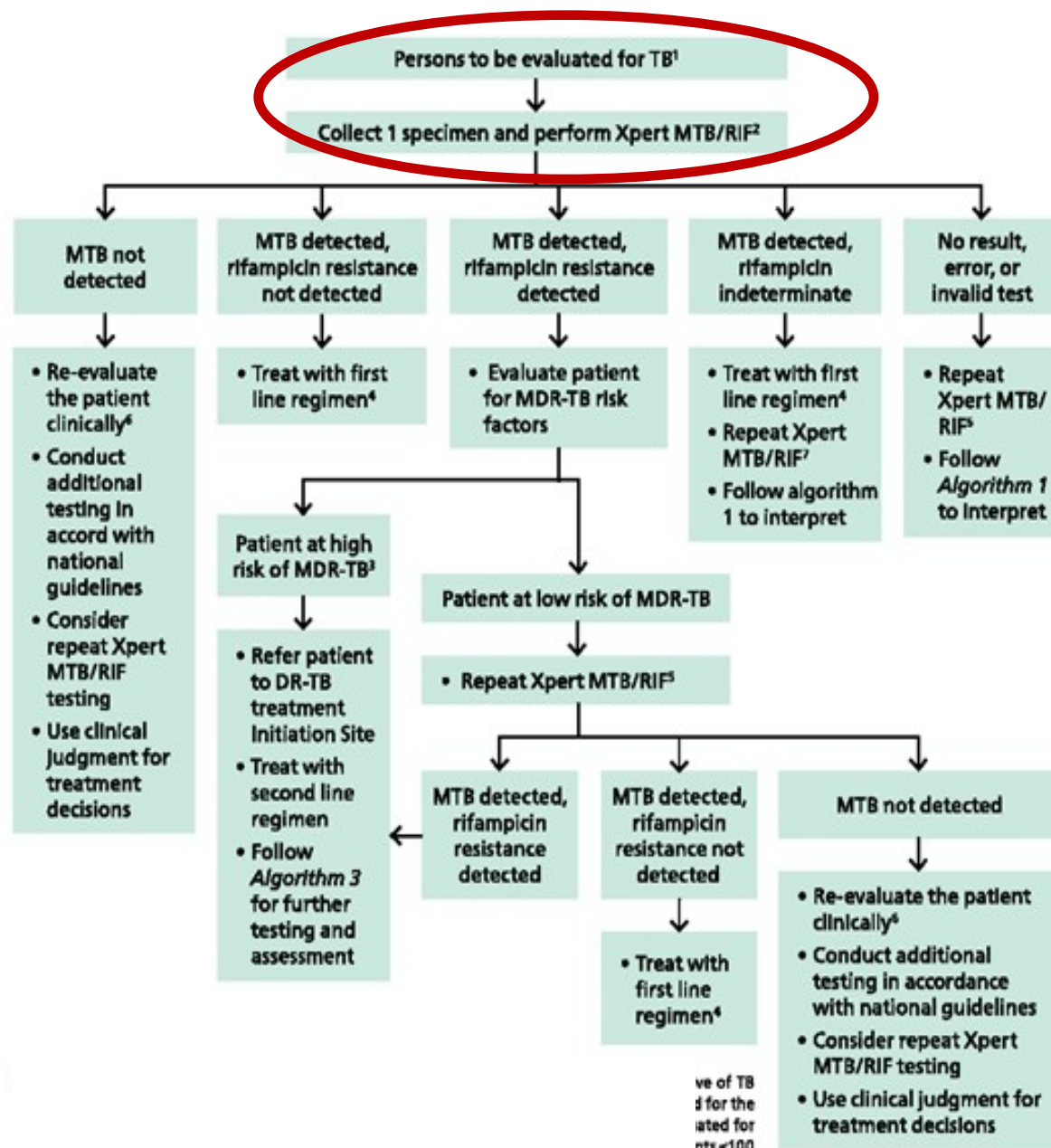
*La prueba rápida de elección para investigar TB en sintomáticos HIV+ es el Xpert porque*

- es mas sensible y especifico ,*
- permite investigar TBRR*

*El LF LAM podría ser utilizado para investigar pacientes con enfermedad por HIV AVANZADA en escenarios donde AUN no está accesible una prueba por Xpert*



## Algorithm 1: Preferred algorithm for universal patient access to rapid testing to detect MTB and rifampicin resistance

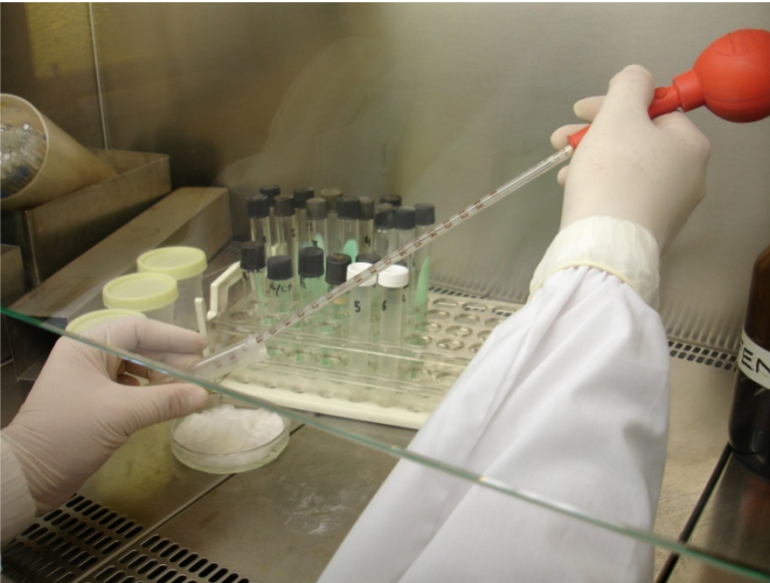


[www.stoptb.org/wg/gli](http://www.stoptb.org/wg/gli)

Hasta alcanzar este objetivo, priorizar el empleo del Xpert para los pacientes con riesgo elevado de TB MDR y TB HIV



Por ahora, el cultivo se mantiene como el método más sensible para detectar TB



debería ser empleado para

- diagnosticar casos menos avanzados ( sintomáticos con BK y/o Xpert negativos), enfermedad extrapulmonar , niños)
- dar acceso a la PS que complementen las que se puedan hacer por pruebas moleculares rápidas
- monitorear mensualmente la conversión durante el tratamiento de la TB RR/MDR

# MGIT 960 /320

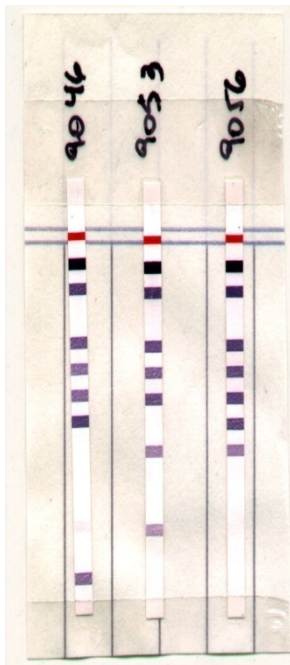
Reduce a la mitad el tiempo requerido para detectar *M. tuberculosis* en muestras clínicas y la PS está disponible 3-14 días después



# Tecnología Line Probe assays (LPA)

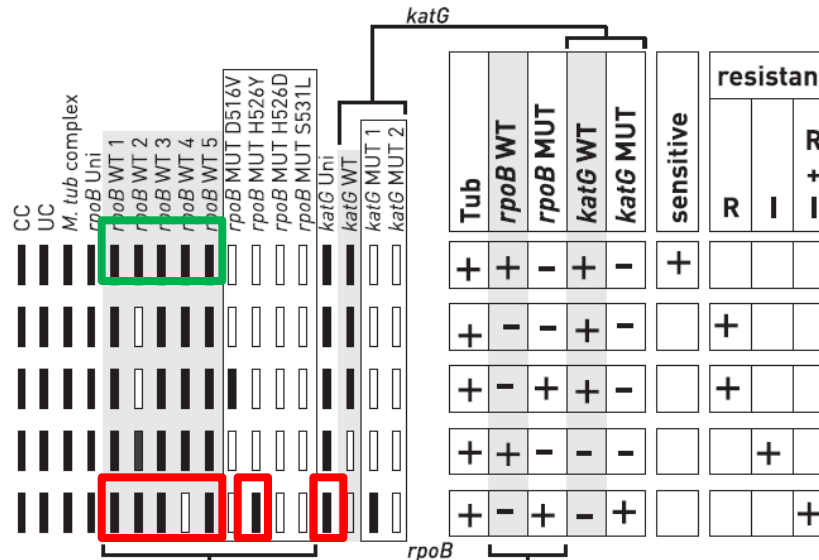
Innogenetics , Genotype MTBDR plus , Nipro® Nipro corp

Identificación de *M. tuberculosis*  
y detección de resistencia a RIF (+ INH)  
en 2 días  
a partir de muestras BK +  
o cultivos positivos



Resistente

No se detecta mutación



Amplificación/hibridación  
para identificar  
las mutaciones  
**mas frecuentes**  
que determinan resistencia

Difícil de  
descentralizar

# Precisión de los métodos moleculares recomendados por OMS para detectar resistencia a drogas de primera línea claves

estudios	11	18	9
casos	2340	3400	1739
	Xpert MTB/Rif	GenoType MTBDRplus	
Droga	R	R	INH
Sensibilidad %	94	95	83
Especificidad %	98	98	99

5-6% de falsos sensibles para R  
 17% de falsos sensibles para INH

Steingart KR, et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 1. Art. No.: CD009593. DOI:10.1002/14651858.CD009593.pub2  
[Drobniewski F et al Health Technol Assess.](#) 2015 ;19:1-188.

## *Fenómenos biológicos que limitan la utilidad de los métodos moleculares*

- Pueden detectar bacilos muertos, con mayor sensibilidad que la BK

*No emplear métodos moleculares para evaluar la eficacia del tratamiento  
Si para detectar alguna resistencia adquirida durante el tratamiento*

- No se conocen / investigan todos los determinantes de resistencia
- Existen mutaciones que no generan resistencia
- Las mutaciones múltiples pueden tener efectos paradójicos sobre la resistencia



Como con cualquier otra prueba, cuando la prevalencia de RR es baja, se complica mucho la interpretación del resultado resistente (el valor predictivo está adversamente afectado)

OMS recomienda

confirmar el resultado del Xpert RR

con una segunda prueba Xpert con otra muestra del paciente para poblaciones con bajo riesgo de TB resistente

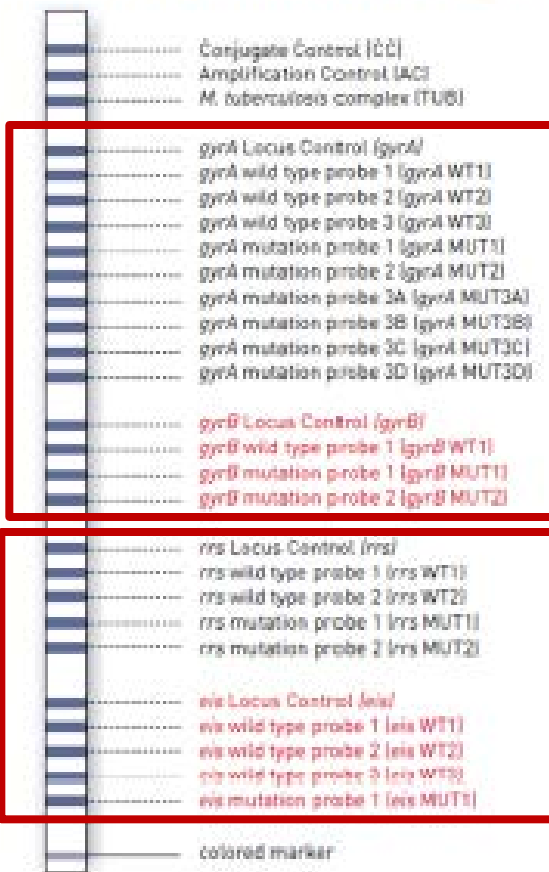
Si dos veces es RR entonces tratar con segunda línea

# Genotype TBMDR s/ V2 para la detección de resistencia drogas de segunda línea

## GenoType MTBDRsl VER 2.0

quinolonas

inyectables



## Evidencia analizada para OMS sobre la utilidad de Genotype MTB DR sl v 2 para pacientes con TB RR/MDR

	Estudios	casos	resistentes %	Sensibilidad % (rango)	Especificidad % (rango)
FQN	3	562	19,8	86 (84-100)	99-100
ISL	3	620	38,2	87 (72-89)	90 - 99
XDR	3	621	14,2	75-80	91-100

<p>Estándar de referencia: PSD convencional Estudios realizados bajo protocolos de investigación, lo que puede sobrestimar la precisión para la rutina clínica</p>	<p>La prueba no detecta toda la resistencia</p>	<p>Falsos resistentes muy poco probables para FQN mas frecuentes para ISL</p>
--	---	---



OMS recomienda el empleo de regímenes cortos para el tratamiento de la TB MDR después de **descartar** mediante pruebas de laboratorio (preferentemente *Genotype* TBMDR si) la resistencia a fluoroquinolonas e inyectables de segunda línea

### *Limitaciones del Genotype TBMDR si*

El porcentaje de pruebas indeterminadas es mayor con muestras BK- (20-29%)

La ausencia de mutación requiere la confirmación con una PSD convencional, especialmente si es alto el riesgo de resistencia

Este LPA no puede determinar resistencia a cada droga individualmente

La detección de una mutación asociada a resistencia a FQN tiene alta correlación con resistencia a Ofx y Lvx es incierta en relación con Mfx y Gx

Las mutaciones en *rrs* involucran resistencia a cualquiera de los ISL, excepto *eis* C14T asociada a resistencia a K WHO 2016, ISBN 978 92 4 150963 3

# Sistemas de amplificación de ácidos nucleídos en desarrollo para el diagnóstico de TB

**NIVEL referencia**

Autogenomics   CapitalBio   Seegene Anyplex® series   Roche Cobas®   Autogenomics OCTA   Abbott m2000   Zeesan MeltPro®

**intermedio**

Xpert® MTB/RIF   iCubate   Hain Fluorotype®   Tosoh TRC Rapid®   Vereplex™   NanoBioSys   Hain Lights on/Lights off Fluorotype® RNA assay   EnigmaML® MDR TB   Xpert® MTB/RIF ULTRA   Xpert® Xtend-XDR   Stat-Diagnostica DiagCORE

**atención primaria**

Eiken Loopamp™ MTBC   Epistem Genedrive®   MolBio Truelab™   Ustar EasyNAT™   Disposable CMOS Platform (\$10's)   Reader Device (\$100's)   KGI TBDx System

2010   2012   2013   2014   2017+

Recomendado por   Disponibles en el mercado



## *Secuenciación del genoma de los bacilos recuperados de los pacientes*

Con potencialidad para ser hecho directamente en la muestra clínica para el diagnóstico de TB, TB DR y para epidemiología molecular

Regmi SM *et al* 2015 Apr 24. [Epub ahead of print]  
Guerra-Assunção RA *et al* [Elife](#). 2015. doi: 10.7554/eLife.05166.  
Ali A *et al* PLoS ONE 2015 10: e0117771.doi:10.1371/journal.pone.0117771  
Witney AA *et al* [J Clin Microbiol](#). 2015 ;53:1473-83.  
Outread AC *et al* J Antimicrob Chemother 2015; 70: 1198–1202

*Almacenaje e intercambio de información estratégica producida por la investigación potenciado por la bioinformática*

Esfuerzos coordinados para crear bases de secuencias y meta-datos accesibles y con control de calidad  
FIND, NDWG CPTR

*Muchas gracias*