

Título: Xpert® MTB/RIF: utilidad en el diagnóstico de la tuberculosis y de la resistencia a la rifampicina.

Title: Xpert® MTB/RIF: usefulness for the diagnosis of tuberculosis and resistance to rifampicin.

Andrea Vergara Gómez^a, Julià González-Martín^{a,b}, Alberto L. García-Basteiro^{b,c,d*}.

^aServicio de Microbiología, CDB, Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, C/ Villarroel 170, 08036 Barcelona, España .

^bInstitut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal), C/ Rosellón 132, 08036 Barcelona, España.

^cCentro de Investigaçãõ em Saúde de Manhica (CISM), Maputo, Mozambique.

^dAmsterdam Institute for Global Health and Development (AIGHD), Amsterdam, The Netherlands.

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: alberto.garcia-basteiro@isglobal.org (AL García-Basteiro)

Dirección postal: C/ Rossello 132 4/2 08036 Barcelona

Resumen

La aparición de la técnica Xpert® MTB/RIF supuso una revolución en el diagnóstico de la tuberculosis, especialmente en zonas con alta incidencia y pocos recursos. Permite la detección de *Mycobacterium tuberculosis* complex y simultáneamente las mutaciones más comunes de resistencia a rifampicina en menos de 2 horas. Su sensibilidad en muestras respiratorias es muy alta, pero disminuye en muestras extrapulmonares y en niños. Aunque más rápida y simple que los métodos convencionales, presenta ciertas limitaciones y aún son necesarias nuevas y mejores herramientas diagnósticas que contribuyan a reducir los casos y muertes por tuberculosis. Esta revisión pretende compendiar la evidencia científica en torno al rendimiento diagnóstico de Xpert® MTB/RIF en diferentes tipos de muestras y poblaciones, así como analizar sus ventajas y limitaciones para el diagnóstico de tuberculosis.

Abstract

The advent of the Xpert® MTB/RIF technique was a revolution in the diagnosis of tuberculosis, especially in areas with high incidence and low resources. It allows the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and simultaneously the most common resistance mutations to rifampicin in less than 2 hours. For respiratory samples the sensitivity is very high, but it decreases for extrapulmonary samples and children. Although it is faster and simpler than conventional methods, it presents some limitations and new and better techniques are needed to reduce the number of cases and deaths caused by tuberculosis. This review aims to assess the scientific evidence around the diagnostic performance of Xpert® MTB/RIF in different types of samples and populations, as well as analyse its strengths and limitations for TB diagnosis.

Palabras clave: tuberculosis, Xpert® MTB/RIF, *Mycobacterium tuberculosis*, rifampicina

Key words: tuberculosis, Xpert® MTB/RIF, *Mycobacterium tuberculosis*, rifampicin

Resumen: 128 palabras; Texto: 4275 palabras

Referencias: 52; Tablas: 3; Figuras: 2

Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa transmitida fundamentalmente por vía aérea y causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que afecta sobre todo a los pulmones (TB pulmonar), aunque puede producir enfermedad en cualquier órgano (TB extrapulmonar).

En 2015, la incidencia de TB fue de 10,4 millones de casos (5,9 en hombres, 3,5 en mujeres y 1 en niños) (Figura 1). Fue la primera causa de muerte por enfermedad infecciosa (casi 1,5 millones de pacientes, 390.000 de ellos VIH positivos). La coinfección VIH-TB se estimó en un 11% del total de casos de TB¹.

El método más utilizado para diagnosticar la TB es la baciloscopía, observación microscópica de bacilos ácido-alcohol resistente en muestras clínicas. El cultivo sigue siendo el método diagnóstico de referencia. Sin embargo, en los últimos años han aparecido diferentes técnicas de biología molecular, tanto para el diagnóstico como para la detección de mutaciones de resistencia a los fármacos, que han acelerado notablemente su diagnóstico.

Aunque se han producido considerables avances en el desarrollo de nuevos tratamientos²⁻⁴, el diagnóstico es el campo donde más progresos se han realizado. En 2010, la aparición de la técnica Xpert® MTB/RIF supuso una revolución en el diagnóstico de la TB, especialmente en zonas con alta incidencia y pocos recursos, permitiendo detectar simultáneamente *M. tuberculosis* complex y las mutaciones más comunes de resistencia a rifampicina (RIF) en menos de 2 horas, con un entrenamiento y manipulación mínimos, y un rendimiento intermedio entre baciloscopía y cultivo. Sin embargo, se trata de una técnica relativamente cara, que requiere una fuente continua de energía y calibración periódica del equipo.

El objetivo de este trabajo es compilar la evidencia disponible en relación a la validez diagnóstica (sensibilidad y especificidad) de la técnica Xpert® MTB/RIF en función del tipo de población, muestras y algoritmo diagnóstico empleado.

Xpert® MTB/RIF: descripción del ensayo

Xpert® MTB/RIF es una tecnología desarrollada por Cepheid (Sunnyvale, CA, USA) basada en la amplificación y detección de ácidos nucleicos, totalmente automatizada, en la que extracción, amplificación y detección tienen lugar en el interior de un cartucho de un solo uso, que se inserta en el equipo GeneXpert Instrument System (Cepheid).

La técnica detecta un fragmento del gen *rpoB*, que codifica para la subunidad β de la ARN polimerasa. Se utilizan 5 sondas genéticas tipo *molecular beacon*, cada una marcada con un fluoróforo distinto. Cubren totalmente una zona de 81 pares de bases, determinante de resistencia a la RIF (RDRR), entre los codones 507 y 533. Cuando las sondas se unen a la secuencia natural del fragmento estudiado, el fluoróforo emite fluorescencia. Cualquier mutación en la zona RDRR hará que alguna de estas sondas no se una y dejará de detectarse la fluorescencia correspondiente.

El test puede realizarse directamente en muestras clínicas o sobre el producto de descontaminación previo al cultivo. La muestra se mezcla con el reactivo proporcionado en el kit (hidróxido sódico e isopropanol), en relación 2:1 o 3:1, transfiriéndose 2 mL de la mezcla al cartucho⁵.

El equipo identifica la muestra positiva para TB cuando al menos 2 de las 5 sondas son positivas con menos de dos ciclos (*Ct*, *cycle threshold*) de

diferencia. La resistencia a RIF se detecta si al menos una de las sondas no produce señal o si hay una diferencia de 3,5 o más Ct entre la detección de la primera y última sonda. Los resultados se generan automáticamente: TB positivo o negativo (con una estimación semicuantitativa de la concentración de TB como baja, media o alta) y RIF sensible o resistente.

El límite inferior de detección de la técnica, con un 95% de confianza, es de 5 copias de DNA o 131 UFC/mL⁶. En comparación, el examen microscópico requiere al menos 10000 UFC/mL⁷ y el cultivo entre 100-500 UFC/mL⁸.

Xpert no puede diferenciar las especies del complejo *M. tuberculosis*, incluyendo *M. bovis* BCG, por lo que los resultados positivos deben interpretarse como *M. tuberculosis* complex, aunque en una proporción elevada corresponderán a *M. tuberculosis*, exceptuando las áreas de África donde se aísla *M. africanum*. No se ha observado reactividad cruzada con otras bacterias, excepto frente a concentraciones elevadas (>10⁸ UFC/mL) de *M. scrofulaceum* y otras micobacterias como *M. leprae*, *M. kumamotoense*, *M. mucogenicum* o *Nocardia otitidiscaviarum* y *Tsukamurella* spp⁵.

Xpert® MTB/RIF para la detección de TB pulmonar (Tabla 1)

Cuando Xpert se usa como test inicial en esputo, sustituyendo a la microscopía, la sensibilidad es del 89% (rango 58-100%) y la especificidad del 99% (86%-100%)⁹. De los casos confirmados por cultivo, Xpert diagnostica un 23% más que los detectados por la baciloscopia.

En muestras baciloscopía negativa y cultivo positivo, la sensibilidad de Xpert se sitúa en 68% (60-74%)⁹ y la especificidad se mantiene en torno al 99%

(94-100%)¹⁰. En los casos con baciloscopía positiva, la sensibilidad es del 98%¹⁰.

Estratificando los pacientes según su status VIH, la sensibilidad varía de acuerdo al contexto, grado de inmunosupresión y estudio: 79% (0-100%) en pacientes con VIH y 86% (56-100%) en pacientes sin VIH. La especificidad varía menos, 98% (92-100%) y 99% (96-100%), respectivamente⁹. Al estimar la validez diagnóstica estratificando por el resultado de la baciloscopía, la sensibilidad en ambos grupos es parecida, lo que sugiere que la menor sensibilidad en pacientes VIH positivos podría atribuirse a que los síntomas se presentan de forma más precoz, con menor carga bacilífera.

Cuando se realiza el test sobre muestras frescas, la sensibilidad de la técnica es mayor que en las congeladas, independientemente de la baciloscopía⁹. Podría explicarse por la pérdida de viabilidad de parte de la población bacteriana durante la congelación. Algunos estudios sugieren mayor sensibilidad cuando se aplica sobre muestras no procesadas para el cultivo, aunque no hay datos concluyentes⁹.

No se han observado diferencias de sensibilidad relacionadas con el nivel socioeconómico del país donde se realiza la prueba, una vez ajustado por baciloscopía, ni tampoco según realicen la prueba enfermeras clínicas o técnicos de laboratorio⁹.

La sensibilidad del Xpert en el diagnóstico de TB en niños es inferior que en adultos, sobretodo en niños de corta edad. A partir de esputo o esputo inducido es del 66% (40-100%) respecto al cultivo, sin tener en cuenta la baciloscopía, aunque se observa gran variabilidad entre estudios¹⁰. La especificidad se sitúa alrededor del 98% (93-100%). Se han observado diferencias al estratificar por grupos de edad, con sensibilidad superior en niños

entre 5-15 años (83%) frente al grupo de 0-4 años (57%). La especificidad no se afecta (98%)¹⁰. En función del resultado de la microscopía, la sensibilidad en muestras baciloscopía positiva es de 96% (92-100%) en esputo y del 95% en aspirado gástrico, mientras que en baciloscopía negativa es de 55% (25-86%) y del 62%, respectivamente. Igual que en adultos, al estratificar según la baciloscopía, no se observan diferencias de sensibilidad entre niños VIH negativos y positivos.

Xpert® MTB/RIF para la detección de TB en muestras extrapulmonares (Tabla 2)

A nivel global, alrededor del 15% de los casos de TB es extrapulmonar¹, aunque es más frecuente en niños e inmunodeprimidos. Su diagnóstico es complejo y requiere muestras válidas para el diagnóstico microbiológico, a menudo difíciles de obtener. Los resultados de sensibilidad del Xpert® MTB/RIF son muy heterogéneos entre los distintos tipos de muestra.

A diferencia de lo que ocurre en las muestras respiratorias, el VIH aumenta la probabilidad de obtener resultados positivos en muestras extrapulmonares. Ello es debido a que, en los pacientes infectados por el VIH con TB pulmonar, la presencia de cavernas es infrecuente, por lo que la carga bacilar pulmonar es menor con respecto a los VIH negativos, mientras que en las muestras extra-pulmonares sucede lo contrario¹¹.

En ganglios linfáticos, la sensibilidad es superior al 80% (50-100%) y la especificidad supera el 90% (38-100%). La sensibilidad es mayor en muestras frescas que en las congeladas. Los datos recogidos en niños muestran una sensibilidad del 86% y una especificidad del 81%^{10,11}.

Para líquidos pleurales, la sensibilidad no alcanza el 50% (0-100%), aunque la especificidad es elevada, superior al 98% (90-100%)^{10,13}. La biopsia pleural, siempre que sea posible obtenerla, es una muestra más adecuada en el diagnóstico de la TB pleural.

La detección de TB en líquido cefalorraquídeo (LCR) con Xpert comparado con el cultivo presenta una sensibilidad próxima al 80% (51-100%) y una especificidad cercana al 98% (93-100%)¹⁰. Se observa mejor sensibilidad al concentrar la muestra previamente (>80% vs. 50%), sin alteración de la especificidad, aunque en la práctica el volumen disponible de muestra supone una limitación. Una agitación breve después de añadir el reactivo de preparación de Xpert podría aumentar la sensibilidad en muestras paucibacilares como LCR¹⁴. Las muestras de LCR con resultados falsos negativos por Xpert tienen mayores Ct para el control interno que los verdaderos positivos, lo que podría indicar que contienen inhibidores¹¹. Se ha sugerido que en estos casos la sensibilidad mejoraría centrifugando y lavando la muestra con tampón fosfato¹¹. En niños, la información es muy limitada¹⁰.

La sensibilidad para los aspirados gástricos es del 84% (69-100%) y la especificidad del 98% (98-100%). Todos los estudios incluyen un paso previo de concentración de las muestras¹⁰.

Cuando la muestra es un tejido, excluyendo ganglios linfáticos, la sensibilidad es mayor al 80% (42-100%) y la especificidad superior al 98% (61-100%)¹⁰.

Un estudio reciente ha analizado la utilidad del Xpert en el diagnóstico de TB pulmonar y extrapulmonar a partir de muestras post-mortem en un área de alta incidencia, obteniéndose una sensibilidad del 88% (95% CI, 47–100) y una especificidad del 96% (95% CI: 78–100)¹⁵.

Hay pocos estudios que analicen la utilidad del Xpert en orina para el diagnóstico de la infección diseminada. Posiblemente el mejor rendimiento se observaría en pacientes VIH positivo con inmunodepresión avanzada y CD4 <50 células/ μ L, pudiéndose alcanzar una sensibilidad del 40-45%. La sensibilidad sería inversamente proporcional a la cifra de CD4. Probablemente indica afectación renal en un contexto de TB diseminada¹⁶. Este es un fenómeno similar a la detección de antígeno de pared lipoarabinomano (LAM) en orina, con una sensibilidad útil en pacientes con linfocitos CD4 <100 células/ μ L¹⁷.

El grado de inhibición de la técnica es menor en muestras extrapulmonares que pulmonares¹¹. La mayor carga bacteriana en muestras respiratorias, explicaría que la sensibilidad en estas sea mayor que en extrapulmonares. Entre éstas últimas, las muestras de pus y aspirados ganglionares obtienen mayor sensibilidad que muestras más líquidas como líquido ascítico o pleural¹⁸, probablemente por provenir de localizaciones en que la infección está más circunscrita.

Xpert® MTB/RIF para la detección de resistencia a rifampicina

Sólo un 50% de los pacientes con TB multi-resistente (MDR-TB) fueron tratados adecuadamente en 2015, en gran parte por la alta mortalidad y pérdidas durante el seguimiento¹. Por ello, es importante diagnosticar y detectar las resistencias precozmente. Entre todos los casos de MDR-TB, únicamente un 3,3% son casos nuevos cada año.

Los métodos genotípicos, en comparación con el antibiograma, permiten un diagnóstico más rápido de la resistencia y la instauración precoz del

tratamiento adecuado. Más del 95% de las mutaciones de resistencia a la RIF se concentran en la zona de 81bp del gen *rpoB*, por lo que el Xpert permitiría detectar la gran mayoría de las mutaciones de resistencia. Por otra parte, la técnica está considerada como un marcador de MDR-TB, ya que la resistencia a RIF en más del 95% de casos va acompañada de resistencia a isoniazida^{19,20}.

La sensibilidad para detectar resistencia a RIF es del 94% y la especificidad del 98%. Aunque la información es limitada, la sensibilidad del Xpert para la detección de resistencia a la RIF en muestras de niños es de 86% y la especificidad del 98%¹⁰.

Sin embargo, el VPP varía según la prevalencia de resistencia a la RIF: en áreas con >15% de resistencia a RIF, el VPP es superior al 90%, mientras que en zonas con <5%, el VPP desciende hasta el 70%⁸. También se observan diferencias regionales en el hallazgo de resistencia a isoniazida (89-100%) cuando se detecta resistencia a RIF⁸. Asimismo, pueden observarse discrepancias entre los resultados de Xpert y el antibiograma fenotípico^{17,20,21}. En general pueden ser de dos tipos, genotipo sensible con fenotipo resistente y viceversa. En el primer caso, la más obvia es debida a que el mecanismo de resistencia no está en el fragmento de 81pb del gen *rpoB*. Otros casos podrían explicarse por la presencia de poblaciones bacterianas mixtas o heterorresistentes. Hasta en un 10% de los aislamientos podrían coexistir poblaciones heterorresistentes, es decir, bacterias del mismo clon con distinta sensibilidad a un antibiótico determinado. Se ha calculado que la población resistente debe estar en una proporción igual o superior al 60% para ser detectada por Xpert o por otros métodos de detección de mutaciones de resistencia, como los basados en LPA (*Line Probe Assay*)^a. Una situación similar podría darse ante la presencia de infecciones mixtas por dos clones

distintos, uno sensible y otro resistente^a. Cuando la discrepancia se basa en genotipo resistente frente a fenotipo sensible, puede ser debido a coexistencia de poblaciones sensible y resistente, en la que esta última presenta dificultades de crecimiento por menor *fitness*^a. Otra causa pueden ser mutaciones silentes (como C514T, en el codón 514) o mutaciones que causen un nivel de resistencia bajo (codón 516)²².

En la práctica, la detección de resistencia a RIF con Xpert® MTB/RIF indica la realización de una segunda prueba, como LPA²⁰, antibiograma frente a fármacos de primera y segunda línea, e inicio de tratamiento considerando el caso como MDR-TB. Revisiones recientes de autores de nuestro entorno^{20,23} abordan los criterios de interpretación de las distintas pruebas de detecciones de mutaciones y su correlación con el antibiograma fenotípico.

Ventajas y limitaciones de los métodos moleculares frente a los convencionales

Confirmar en el laboratorio el diagnóstico de TB y de las resistencias es esencial. Sin embargo, los datos comunicados por la OMS en 2015 indican que únicamente 57,6% de los casos estimados tuvieron confirmación microbiológica (baciloscopía, cultivo y/o Xpert positivo). Entre los casos nuevos (no tratados previamente), solo se estudió la sensibilidad antibiótica en el 12%, mientras que entre los casos tratados previamente, se efectuó en el 58%¹.

La baciloscopía se utiliza desde hace décadas en el diagnóstico de la TB, pero tiene una sensibilidad baja, especialmente en TB extrapulmonar, pacientes VIH positivo^{24,25} y niños²⁶. Se estima que son necesarias 5.000-10.000 bacterias/mL de muestra para tener baciloscopía positiva. Su

sensibilidad oscila entre 20-80%, según la incidencia del área: donde ésta es elevada y hay dificultades de control de la TB se alcanzan las cifras más altas, probablemente por mayor evolución de la enfermedad al diagnóstico. Entre sus ventajas está la simplicidad, bajo coste, rapidez y alta especificidad en áreas con alta incidencia de TB. Sin embargo, no permite diferenciar *M. tuberculosis* de otras micobacterias no tuberculosas, ni una TB sensible de una resistente. Las tinciones fluorescentes aumentan aproximadamente un 10% la sensibilidad de la microscopía clásica basada en la tinción Ziehl-Neelsen, pero requieren equipos costosos y personal experimentado. Recientemente se han comercializado microscopios de fluorescencia basados en diodos emisores de luz (LED, *light-emitting diode*), más asequibles que los de fluorescencia convencionales y con sensibilidad similar^{8,27}. La baciloscopía sobre muestra descontaminada y centrifugada aumentaría la sensibilidad respecto a la baciloscopía directa²⁸, aunque existe cierta controversia respecto a este punto¹⁷. En entornos de baja incidencia como el nuestro, la sensibilidad de la baciloscopía no supera el 50% y la incidencia creciente de micobacterias no tuberculosas obliga a confirmar o descartar TB utilizando métodos moleculares.

El cultivo es el método más sensible y de referencia. Se calcula que puede ser positivo a partir de 100-500 bacterias/mL. Permite diferenciar entre TB sensible y resistente, mediante el estudio fenotípico de sensibilidad antibiótica, aunque requiere 3-5 semanas para emitir un resultado, así como laboratorios con alto nivel de bioseguridad y personal muy entrenado.

Las técnicas moleculares son más rápidas. En el caso del Xpert® MTB/RIF, la manipulación de la muestra es de 15-20 minutos, menor que en el cultivo y microscopía, con una duración de la técnica de 2 horas, similar a la microscopía, pero menor al cultivo (7-42 días). Además, no precisa personal

altamente experimentado ni infraestructura con alto nivel de bioseguridad, aspecto muy remarcable en los laboratorios descentralizados de países de baja renta.

En los últimos años, han surgido nuevos métodos moleculares para el diagnóstico de TB²⁹. Cabe destacar el método LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification), basado en amplificación isotérmica y que ha sido recomendado por la OMS. Por otra parte, tienen una amplia difusión métodos de amplificación e hibridación, basados en LPA, utilizados para detectar mutaciones de resistencia a diversos fármacos de primera y segunda línea y que permiten su aplicación sobre muestras clínicas²⁰. La ventaja más remarcable de estos métodos es que permiten un diagnóstico más rápido de la TB y una mayor sensibilidad en entornos donde el cultivo es logísticamente imposible.

No obstante, la microscopía y sobre todo el cultivo son necesarios para monitorizar la respuesta al tratamiento, ya que las técnicas moleculares no diferencian entre bacilos viables y no viables^{30,31}.

Por otra parte, el estudio completo de sensibilidad a los fármacos por métodos fenotípicos es el de referencia y necesario para optimizar el tratamiento antibiótico y conocer la respuesta a todos los fármacos incluidos en el tratamiento³².

No se ha observado una reducción de la mortalidad con el uso de Xpert® MTB/RIF en lugar de la microscopía para el diagnóstico inicial de TB^{33,34}, aunque posiblemente debido a altas tasas de tratamiento empírico³⁵.

Impacto de Xpert® MTB/RIF en el diagnóstico de la TB

En 2006, la organización FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics) identificó Xpert® MTB/RIF como la tecnología diagnóstica de TB más prometedora. La UE lo aprobó con marca CE en 2009. En 2010, la OMS recomendó su uso como diagnóstico inicial en individuos con sospecha de MDR-TB y para descartar TB en VIH+. Asimismo, en lugares de baja prevalencia de MDR-TB o de VIH, recomendó su uso después de la baciloscopía ante la sospecha de TB. En 2013, la OMS amplió la recomendación a casos pediátricos y a casos con TB extrapulmonar. Globalmente, la recomendación es que cada país adapte este mandato de la OMS a sus propias características, pero no se indica cómo, por lo que el seguimiento de la recomendación ha sido variable³⁶.

Entre 2010 y 2015, se han vendido casi 22000 equipos GeneXpert® y 17 millones de pruebas, cubriendo hasta 122 países (Figura 2). Una tercera parte de estas pruebas se realizaron en 2015, lo que indica una expansión progresiva y en aumento, considerando que solo en los 22 países de alta incidencia se realizan alrededor de 30 millones de baciloscopías anuales. En 2010, el coste de cada equipo era 17000\$ y el de los cartuchos 17\$. En 2012, con la colaboración de diversas organizaciones, entre ellas FIND, UNITAID y la fundación BMG (Bill and Melinda Gates), se consiguió disminuir el precio de 17\$ a 9,98\$ para los países de más alta incidencia, mientras que para la UE quedó fijado en 65€. Esta disminución de los precios se aplica al sector público y a las ONGs^{21,36}. Una revisión reciente³⁷ indica que el sector privado es importante en 12/22 países considerados de alta incidencia (India, Pakistan, Filipinas, Nigeria, Kenia y Camboya, entre otros). Seis de estos 12 no tienen acceso a Xpert® MTB/RIF para su sector privado, mientras que en los

restantes el coste oscila entre 30-155\$ por prueba (media de 68\$). En India, uno de los países con un sector privado más potente, se está desarrollando una iniciativa para conseguir precios más asequibles, alrededor de 30\$.

En 2012, el gobierno de Sudáfrica decidió extender a todo el país Xpert® MTB/RIF como método de diagnóstico inicial en lugar de la baciloscopía. En 2014, 14/22 países que acumulan el 80% de los casos mundiales, reportaron un plan de implementación de Xpert para el diagnóstico inicial de la MDR-TB y de la TB en VIH positivo. Cinco de estos países lo recomiendan para la TB infantil, cuatro de ellos en la TB extrapulmonar³⁶. Globalmente, dos tercios de los países de alta incidencia han incorporado Xpert en el diagnóstico, aunque sólo lo han hecho la mitad de los que presentan mayor incidencia de MDR-TB.

Diversos estudios indican que Xpert® MTB/RIF ha conseguido diagnosticar hasta 8 veces más casos de MDR-TB desde 2011, así como doblar el número con confirmación bacteriológica. Existe amplio consenso en que ha mejorado el diagnóstico de la MDR-TB³⁶. Sin embargo, algunos estudios sugieren que no se ha observado reducción de la mortalidad. Un estudio multicéntrico en África Subsahariana observó que, aun permitiendo comenzar el tratamiento antituberculoso el mismo día del diagnóstico, no se tradujo en una disminución de la mortalidad³⁸. En la misma línea, un ensayo randomizado en Zimbabue encontró que el cribado con Xpert tampoco redujo la mortalidad asociada a TB, comparado con la microscopía³⁹.

No obstante, analizar el impacto es complejo e intervienen varios factores a tener en cuenta en futuros estudios. Entre ellos, la dificultad de atribuir la mortalidad claramente a la TB o la práctica relativamente extendida de prescribir tratamiento antituberculoso empírico, incluso con resultados negativos³⁶. Es necesario abordar la relación del uso de Xpert con el pronóstico

de los pacientes en estudios amplios y en entornos geográficos y de incidencia distintos.

Cabe citar también las limitaciones de Xpert® MTB/RIF. Las relacionadas con la sensibilidad y la detección de resistencias, están ampliamente descritas en las líneas anteriores. La mayoría de las restantes son operacionales o logísticas. Las versiones actuales necesitan corriente eléctrica, control de temperatura, protección frente al polvo, calor y humedad. Estos son problemas frecuentes en muchos de los lugares donde se utiliza. El entrenamiento es fácil, pero probablemente requiera más de los 1-2 días recomendados, ya que será necesario conocer bien el procedimiento, resolver los problemas del sistema y realizar el mantenimiento. También debe resolverse el apoyo técnico, mantenimiento externo, aportación de recambios y evitar las roturas de stock. Se han reportado hasta un 10,6% de test fallidos en países de alta incidencia³⁶.

Se han realizado estudios de coste efectividad, sobre todo en Sudáfrica^{40,41} donde han evidenciado que la extensión del diagnóstico a escala nacional substituyendo la tinción incrementa el coste alrededor del 55%. Asimismo, los nuevos diagnósticos de MDR-TB incrementan el coste del tratamiento alrededor de un 35%. No obstante, existen unos costes evitados, en términos de mortalidad, morbilidad, tratamientos no indicados y futuros nuevos casos no ocurridos al cortar la cadena de transmisión.

También se han realizado análisis de costes desde la perspectiva de países de renta alta. Un estudio reciente en Alemania⁴² indica que utilizar Xpert en lugar de baciloscopía, supondría ahorrar 500€ por caso en aquellos con microscopía inicial negativa y 189€ en MDR-TB con tinción positiva. En los casos sensibles y con baciloscopía positiva, no se observaría ahorro, aunque

tampoco sobrecoste. Los autores de este trabajo tienen en cuenta aspectos transversales del hospital, como son el coste de habitación, bloqueo de la segunda cama, aislamiento del paciente y estudio de contacto de los sanitarios, entre otros.

Futuro

Son necesarias nuevas herramientas para el diagnóstico de la TB, especialmente para su aplicación en la comunidad⁴³. Actualmente hay más de 50 empresas desarrollando nuevas pruebas diagnósticas, de los que la mayoría se basan en métodos moleculares³⁶. El Xpert® MTB/RIF sigue siendo evaluado, pero como se ha visto tiene sus limitaciones. En este sentido, Cepheid ha desarrollado dos nuevos productos: GeneXpert® Omni, dispositivo portátil y con menos dependencia energética, y Xpert® MTB/RIF Ultra, con mayor sensibilidad que Xpert® MTB/RIF. Nuevas tecnologías basadas en la amplificación de ácidos nucleicos han sido desarrolladas^{29,44} (tabla 3). Para reducir la dependencia del suministro eléctrico, se han desarrollado dispositivos basados en reacciones químicas exotérmicas para conseguir altas temperaturas durante el tiempo necesario. A pesar de los avances en la amplificación de ácidos nucleicos, no ha habido grandes avances en los procesos de extracción del ADN.

Por otro lado, han ido surgiendo nuevas herramientas basadas en otras tecnologías⁴⁴. La sustitución de la tinción de Ziehl-Neelsen con alternativas fluorescentes y la introducción de microscopios basados en tecnología LED ha mejorado la sensibilidad de la microscopía y ha hecho posible que no se requiera infraestructura tan costosa. El TBDx (Signature Mapping Medical Sciences, USA) es un sistema automatizado de alta resolución de análisis

digital de imágenes que facilita mucho el diagnóstico molecular de la TB y mejora la sensibilidad. En esta misma dirección, se ha desarrollado el CellScope, un microscopio de fluorescencia digital portátil.

Las técnicas basadas en la detección directa del microorganismo y en su crecimiento, probablemente han llegado a su límite. Los métodos moleculares pueden potenciarse aún más, pero es necesario buscar enfoques distintos, como pueden ser biomarcadores del patógeno o del huésped, nuevas metodologías serológicas, detección de compuestos orgánicos volátiles del microorganismo, así como estudios en el área transcriptómica y proteómica.

Dado que las mutaciones de resistencia pueden ocurrir en diferentes puntos de los genes relacionados con la resistencia, el método más prometedor es la secuenciación masiva, que probablemente en pocos años habrá simplificado el análisis, interpretación, correlación con el fenotipo y coste.

Conclusión

Xpert® MTB/RIF es probablemente el método diagnóstico de la TB más relevante de los últimos años. En países de alta incidencia y entornos de baja renta donde el cultivo no es posible por dificultades de infraestructura y formación, ha permitido disponer por primera vez de una técnica de diagnóstico más allá de la baciloscopía. En países de baja incidencia y de alta renta, se ha convertido en la prueba de diagnóstico rápido más utilizada para confirmar casos de sospecha moderada o alta, confirmar TB ante baciloscopías positivas, así como para descartar MDR-TB en pacientes provenientes de áreas de alta incidencia de resistencia.

La expansión del uso de Xpert® MTB/RIF en países de alta incidencia también debe servir a los programas de control de TB para planificar adecuadamente los algoritmos diagnósticos y las respuestas terapéuticas adecuadas para los pacientes diagnosticados por estos métodos.

Referencias

Figura 1. Nuevos casos de TB en el año 2015 por países. Fuente: Global tuberculosis report 2016¹.

Figura 2. Cartuchos de Xpert® MTB/RIF adquiridos en 2014 a precios reducidos. Fuente: Global tuberculosis report 2015⁴⁵.

Tabla 1. Sensibilidad y especificidad del Xpert® MTB/RIF para la detección de TB pulmonar. Entre paréntesis se indica el intervalo de confianza al 95%. Fuente: Revisión Cochrane del 2014⁹.

Tipo de análisis	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Xpert MTB/RIF como test inicial, sustituyendo a la microscopía	89 (84-92)	99 (98-99)
Xpert MTB/RIF como test posterior a una baciloscopía negativa	68 (61-74)	99 (98-99)
Microscopía negativa, cultivo positivo	68 (60-74)	-
Microscopía positiva, cultivo positivo	98 (97-99)	-
VIH negativo	86 (76-92)	99 (98-100)
VIH positivo	79 (70-86)	98 (96-99)
VIH positivo con microscopía negativa y cultivo positivo	61 (40-81)	-
VIH positivo con microscopía positiva y cultivo positivo	97 (90-99)	-
Detección de resistencia a rifampicina	95 (90-97)	98 (97-99)

Tabla 2. Sensibilidad y especificidad del Xpert® MTB/RIF para la detección de TB extrapulmonar. Entre paréntesis se indica el intervalo de confianza al 95%. Fuente: Revisiones OMS¹⁰, Denkinger *et al*¹³ y Maynard-Smith *et al*¹⁶.

Tipo de muestra	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Global	88 (77-95)	98 (87-99)
Global con microscopía negativa	69 (60-80)	-
Global con microscopía positiva	95 (91-100)	-
Líquido cefalorraquídeo	81 (59-92)	98 (95-99)
Líquido pleural	34 (24-44)	98 (96-99)
Aspirado gástrico	78 (69-86)	99 (98-99)
Ganglios linfáticos	96 (72-99)	93 (70-99)
Otros tejidos diferentes de ganglios linfáticos	81 (68-90)	98 (87-99)

Tabla 3. Nuevas tecnologías basadas en la amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de la tuberculosis.

Técnica	Fundamento	Diana	Tiempo (min)
EasyNAT (Ustar Biotechnologies Co.) ⁴⁶	Amplificación isotérmica + Inmunocromatografía	IS6110 (TB)	<90
RPA (Recombinase Polymerase Amplification) ⁴⁷	Amplificación isotérmica	IS6110 e IS1081 (TB)	<20
Loopamp™ MTBC (Eiken) ⁴⁸	Amplificación isotérmica	(TB)	30
Truenat™ MTB (Molbio Diagnostics) ⁴⁹	Extracción DNA semiautomática + PCR a tiempo real	Gen ribonucleósido difosfato reductasa (TB)	<60
VerePLEX Lab-On-Chip ⁵⁰	PCR	IS6110 + 16S (TB, resistencia a rifampicina e isoniazida y 9 MNT)	<180

Técnica	Fundamento	Diana	Tiempo (min)
Genedrive® MTB/RIF (Epistem)⁵¹	Extracción DNA basada en tecnología del papel + PCR con hibridación de sondas	REP13E12 + <i>rpoB</i> (TB, resistencia a rifampicina)	60
M2000 RealTime MTB assay (Abbott)^{52,53}	Real-time PCR	IS6110 + PAB (TB)	150

IS6110: insertion sequence 6110; IS1081: insertion sequence 1081

PAB: protein antigen b

REP13E12: highly conserved multi-copy gene