

¿ES YA EL MOMENTO DE INTRODUCIR EN NUESTRO MEDIO LAS NUEVAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE INFECCIÓN TUBERCULOSA? (... seamos prudentes...)

Luis Anibarro García

Unidad de Tuberculosis. Complejo Hospitalario de Pontevedra

La introducción en los últimos años de las pruebas basadas en la liberación de interferón gamma (IGRA, del inglés Interferon Gamma Release Assay) suponen el primer avance tecnológico que se produce en los últimos 80 años (!!!) para el diagnóstico de infección latente tuberculosa (ILT^B)¹. La Prueba de Tuberculina (PT) es hoy día la prueba diagnóstica vigente con mayor antigüedad en su uso. La tuberculina o PPD, inyectada habitualmente mediante el procedimiento de Mantoux, es usada como técnica diagnóstica desde hace casi 100 años. Hasta ahora, pocas cosas habían cambiado.

En el presente trabajo se intenta exponer las limitaciones y precauciones que debemos tomar a la hora de introducir las IGRA en la práctica clínica diaria.

Recordemos brevemente que las IGRA son pruebas diagnósticas basadas en la detección de Interferón gamma (IFN- γ) liberado por linfocitos T sensibilizados frente a distintos antígenos de *M. tuberculosis*. Una IGRA positiva supondría una infección por *M. tuberculosis*, mientras que una IGRA negativa supondría ausencia de infección. La mayor parte de los artículos y revisiones resaltan las múltiples ventajas que supuestamente presentan las IGRA frente a la PT. Quizás, la más aludida sea su mayor especificidad frente a la PT (los antígenos utilizados en las últimas generaciones de IGRA son más específicos de *M. tuberculosis* que los usados con la tuberculina), especialmente en pacientes vacunados con BCG^{2,3}.

Todos los trabajos que evalúan las IGRA se pueden clasificar en dos grupos:

- Trabajos que evalúan las IGRA en el diagnóstico de TB activa.

Correspondencia:

Luis Anibarro García

Unidad de Tuberculosis. C. H. de Pontevedra

C/ Mourente, s/n. 36071 Pontevedra

e-mail: luis.anibarro.garcia@sergas.es

Pneuma 2007; 9: 41 - 45

- Trabajos que evalúan las IGRA en el diagnóstico de ILTB.

Analizaré, desde un punto de vista crítico, las limitaciones que presentan los principales trabajos en cada uno de estos dos puntos.

1- ¿Qué limitaciones tienen las IGRA en el diagnóstico de TB activa?

Aunque menos estudiado que para el diagnóstico de ILTB, diversos estudios analizan el potencial diagnóstico de estas pruebas como complemento (recordemos bien esto, nunca como sustituto de las pruebas microbiológicas) en el diagnóstico de TB activa⁴.

Seremos breves en el análisis de estos trabajos. Ningún autor considera discutible que el diagnóstico de TB activa debe basarse en pruebas microbiológicas. Éstas no solamente aportan el diagnóstico de certeza sino que son además la base para ulteriores pruebas como son los antibiogramas. Por otra parte, la introducción de las IGRA no resuelven el viejo problema conocido de la PT: no distingue entre infección latente y enfermedad. Por lo tanto, su utilidad en este campo es muy limitada en la práctica clínica diaria.

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 bacilíferas⁴⁻¹⁰. El análisis de los estudios que investigan este punto muestra que varios de ellos presentan un escaso número de pacientes, distan mucho de lograr la sensibilidad teóricamente deseable, y no resuelven el problema ya conocido de la PT: la sensibilidad de las IGRA puede ser similar o incluso inferior a la PT en pacientes con TB activa^{6,7,9}. Hasta más de un tercio de los pacientes con TB confirmada pueden presentar un IGRA negativo^{6,8}.

Las causas de la progresión de ILTB a enfermedad tuberculosa es uno de los grandes enigmas que tratan de resolver los investigadores en la materia. Situaciones conocidas de inmunosupresión, en especial las alteraciones del eje IL-12/IFN- γ están siendo estudiadas cada día con mayor interés¹¹. Enfermedades genéticas que conllevan una disfunción del eje IL-12/IFN- γ demuestran la importancia clave de este eje en el control inmunitario de *M. tuberculosis*^{12,13}. Sería una paradoja basar el diagnóstico de TB en la liberación de IFN- γ , cuando se conoce cada vez con mayor grado de evidencia, que puede ser precisamente una alteración en su producción la causa de la enfermedad^{14,15}.

2- ¿Qué limitaciones tienen las IGRA en el diagnóstico de ILTB?

Mucha más atención se ha prestado al papel de las IGRA como complemento (o incluso sustituto) de la PT en el diagnóstico de la ILTB. Sin embargo, todos los trabajos, sin excepción, presentan una dificultad no solventable: la evaluación de estas técnicas adolecen de la inexistencia de un patrón de referencia ("gold standard") con el que confirmar los resultados. La tuberculina, ya lo sabemos, presenta problemas de sensibilidad y de especificidad y no puede ser el "gold standard". No disponemos de otro marcador de ILTB. ¿Cómo, pues, solventar esta ausencia de "gold-standard"?

Se ha recurrido a dos métodos. El primero, ya lo hemos visto, utiliza los casos con confirmación diagnóstica de TB. Ya se ha comentado que la baja sensibilidad de las IGRA dificultan y limitan su aplicación. El segundo método, más utilizado, consiste en utilizar como marcador de infección el riesgo de epidemiológico de estarlo: se aplican los parámetros clásicos de riesgo según el grado de exposición a *M. tuberculosis* en base al tiempo de contacto, intensidad del contacto y grado de contagiosidad del caso índice. Después, se comparan los resultados de la PT con las IGRA en función del grado de exposición¹⁶⁻²³. En general, pero de ningún modo de manera unánime^{16, 17,23}, las IGRA se relacionan mejor que la PT con el grado de exposición al bacilo¹⁸⁻²². Es en este hecho (y sólo en esto) en lo que se basa la suposición de que las IGRA son más indicativas de existencia de ILTB que la PT. Esta situación se hace más evidente en pacientes que han sido vacunados con BCG.

La revisión crítica que se presenta en este trabajo, lleva a realizar una serie de consideraciones:

El primer punto es obvio, y deriva de la limitación de todos los estudios con ausencia de "gold standar" como parámetro de referencia: El grado de exposición nunca es evidencia definitiva de existencia real de infección. No olvidemos que el fin último del diagnóstico de ILTB en un paciente asintomático, no es el diagnóstico en sí mismo,

sino su riesgo de progresión a enfermedad. Los trabajos publicados se limitan únicamente a estudiar si existe mejor correlación de las IGRA frente a la PT según el grado de exposición al bacilo, lo que supuestamente sería indicativo de que la IGRA es mejor test para diagnosticar infección por *M. tuberculosis*. Pero no demuestran nada más. De hecho, la supuesta mejor especificidad de las IGRA ha llevado a autores de reconocido prestigio a sugerir que las IGRA pueden infraestimar la prevalencia real de ILTB²⁴.

La posible aplicación práctica de las IGRA no viene dada porque presente buena correlación con el grado de exposición al bacilo tuberculoso. Las IGRA tendrán su utilidad el día que puedan demostrar su valor pronóstico de progresión a enfermedad. Hasta el momento, sólo la interpretación de la PT lo ha conseguido. Es en la medida del resultado de la PT en lo que se han basado todos los estudios clásicos dirigidos por el recientemente fallecido GW Comstock^{25,26}. Estos estudios evalúan el riesgo de enfermar con seguimientos prospectivos de hasta 2 décadas, lo que difícilmente va a ser conseguible en los próximos años con estas pruebas. Otros trabajos más recientes siguen confirmando que la PT es un buen marcador de riesgo de progresión a enfermedad tuberculosa²⁷. Son, pues, necesarios estudios longitudinales que evalúen el riesgo de progresión a TB en pacientes sanos con IGRA positivos y no tratados. Estos estudios no existen por el momento.

3- ¿Qué otros inconvenientes pueden presentar la introducción sistemática de los IGRA en nuestro medio?

La introducción reciente de las IGRA y su escasa experiencia en el campo clínico, dejan vía abierta a muchos aspectos aún no definitivamente aclarados:

- ¿Cuál es el punto de corte de positividad? Algunos trabajos muestran que los valores recomendados por los fabricantes pueden no ser adecuados²⁸.

- ¿Qué explicación tienen los resultados discordantes entre las distintas IGRA? Actualmente existen comercializadas dos pruebas que miden la producción de IFN- γ . La diferente tecnología empleada en ambas (una emplea ELISA y otra ELISPOT) se traduce en resultados discordantes en los trabajos que comparan directamente ambas técnicas^{29,30}. Nuevamente volvemos a enfrentarnos con el problema de la ausencia de un patrón de referencia de diagnóstico de ILTB. En función de la interpretación de los trabajos, una mayor sensibilidad de una prueba podría ser interpretada como mayor número de falsos positivos... Los estudios publicados sugieren que las pruebas basadas en ELISPOT presentan mayor sensibilidad que las que utilizan ELISA, especialmente en

niños y pacientes inmunodeprimidos. Pero nuevamente, sólo pueden demostrar mejor correlación con el grado de exposición al bacilo. Se plantean por tanto las mismas limitaciones de los trabajos que comparan IGRAs con la PT. Sigue sin haber evidencia definitiva para recomendar (o no recomendar) tratamiento de ILTB en pacientes con resultados discordantes entre los distintos IGRA.

- ¿Existe el efecto Booster tras la inyección de tuberculina? Los antígenos proteicos incluidos en el PPD pueden condicionar una falsa respuesta positiva de los IGRA si se realiza unos días-semanas después de la PT³¹. Aunque son casos posiblemente limitados, y de aparición más frecuente en las pruebas que utilizan ELISA, nos encontramos ante una posible limitación de estas pruebas, especialmente cuando se considera su uso conjunto con la PT, tal y como consideran algunas guías europeas³².

- ¿Qué valor tienen los IGRA tras haber realizado un tratamiento? La descripción por parte de algunos autores de negativización de las IGRA tras la realización de un curso de tratamiento, llevó a plantearse la hipótesis atractiva de medir niveles de IFN- γ como marcador de éxito terapéutico del tratamiento de ILTB^{9,33,34}. Sin embargo, estos trabajos presentan una variación interindividual considerable (en muchos casos superiores al 50%), por lo que hoy día estas pruebas no pueden ser consideradas como parámetro de eficacia de tratamiento.

- ¿Qué sucede con las pruebas que se negativizan de forma espontánea? Se han descrito casos de pacientes que revierten de manera espontánea el resultado de una IGRA tras haber estado en contacto con el bacilo y sin haber realizado tratamiento³⁴. Se ha querido interpretar este resultado como la evidencia de un aclaramiento espontáneo bacilar. La escasa experiencia acumulada hasta la fecha, hace que no sea más que una hipótesis atractiva, sin aplicación práctica clínica³⁵.

- ¿Responden de igual forma todas las IGRA a las distintas cepas de *M. tuberculosis*? Distintas cepas de bacilo pueden provocar respuestas inmunes distintas, de manera que ocasionen resultados discordantes entre cepas³⁶.

4- ¿Qué otros aspectos están aún sin resolver?

- El problema del coste. El alto precio de las IGRA en relación con la tuberculina, es posiblemente la razón que más ha limitado su introducción en la práctica clínica diaria. En los últimos dos años, han aparecido estudios que concluyen que las IGRA pueden ser coste-efectivas³⁷⁻⁴⁰. Sin embargo, son varias las razones que hacen cuando

menos dudosa la aplicabilidad de estos trabajos en nuestro medio:

- Están realizados en países con una situación de incidencia, de cobertura por BCG y socio-demográfica muy distintas de la nuestra
- Están realizados sobre unos supuestos que no se dan en nuestro medio (tiempo de atención médica en consulta, realización de Rx seriadas en infectados que rechazan tratamiento, tiempo de realización de pruebas...)
- Los estudios están mayoritariamente realizados con pruebas de ELISPOT, de mayor complejidad para el laboratorio, cuya introducción en España es posiblemente menor.

- La especificidad de los antígenos usados en las IGRA no es total, por ser compartidos por otras micobacterias (*M. marinum*, *M. szulgai*, *M. kansasii*, *M* y otras más inhabituales)⁴¹.

- Se aumenta la carga de trabajo del laboratorio.

- Problemas derivados de la venopunción, especialmente en niños⁴².

- Existencia de resultados indeterminados. La existencia de un control positivo interno se traduce en con frecuencia en resultados indeterminados que invalidan cualquier interpretación de la prueba⁴²⁻⁴⁴.

Conclusión

La reciente aparición de IGRA supone un avance prometedor en el diagnóstico de infección tuberculosa. Sin embargo, la escasa experiencia acumulada hasta el momento en comparación con la PT, hacen que hoy en día solamente deban considerarse como prueba complementaria a la PT.

Bibliografía

- 1- Lalvani A. Diagnosing Tuberculosis Infection in the 21st Century. *Chest* 2007; 131:1898-906.
- 2- Zellweger JP, Zellweger A, Ansermet S, et al. Contact tracing using a new T-cell-based test: better correlation with tuberculosis exposure than the tuberculin skin test. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005; 9:1242-7.
- 3- Soborg B, Andersen AB, Larsen HK, et al. Detecting a low prevalence of latent tuberculosis among health care workers in Denmark by *M. tuberculosis* specific IFN-g whole-blood test. *Scand J Infect Dis* 2007; 39:554-9.

- 4- Wang JY, Chou CH, Lee LN, et al. Diagnosis of Tuberculosis by an Enzyme-Linked Immunospot Assay for Interferon- γ Emerging Infectious Diseases 2007; 13: 553-7
- 5- van Leewen RML, Bossink AWJ, Thijsen SFT. Exclusion of active *M. tuberculosis* complex infection with the T-SPOT.TB assay. Eur Respir J 2007; 29: 605-7
- 6- Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, et al. Comparison of a whole blood interferon- γ assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. Journal of Infection 2007; 54: 267-76
- 7- Detjen AK, Keil T, Roll S, et al. Interferon- γ Release Assays Improve the Diagnosis of Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Disease in Children in a Country with a Low Incidence of Tuberculosis. Clinical Infectious Diseases 2007; 45:322-8
- 8- Dewan PK, Grinsdale J, Kawamura LM. Low Sensitivity of a Whole-Blood Interferon- γ Release Assay for Detection of Active Tuberculosis. Clinical Infectious Diseases 2007; 44:69-73
- 9- Aiken AM, Hill PC, Fox A, et al. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. BMC Infect Dis 2006; 6:66.
- 10- Gooding S, Chowdhury O, Hinks T, et al. Impact of a T cell-based blood test for tuberculosis infection on clinical decision-making in routine practice J Infect 2007; 54:e169-74.
- 11 -Wu1 HP, Hua1 CC, Liu YC, Chuang DY. Comparison of interferon- γ response between tuberculosis and non-tubercular Pneumonia. Inflamm. Res. 2007; 56: 11-16
- 12- Filipe-Santos O, Bustamante J, Chapgier A, et al. Inborn errors of IL-12/23- and IFN- γ -mediated immunity: molecular, cellular, and clinical features. Semin Immunol. 2006; 18:347-61.
- 13- Seneviratne SL, Doffinger R, Macfarlane J, et al. Disseminated Mycobacterium tuberculosis infection due to interferon gamma deficiency. Response to replacement therapy. Thorax 2007; 62:97-9
- 14- Wu HP, Hua CC, Chuang DY. Decreased in vitro interferon- γ production in patients with cavitary tuberculosis on chest radiography. Respiratory Medicine 2007; 101:48-52
- 15- Sahiratmadja E, Alisjahbana B, de Boer T, et al. Dynamic changes in pro- and anti-inflammatory cytokine profiles and gamma interferon receptor signaling integrity correlate with tuberculosis disease activity and response to curative treatment. Infect Immun. 2007; 75:820-9.
- 16- Hill PC, Brookes RH, Adetifa IM, et al. Comparison of enzyme-linked immunospot assay and tuberculin skin test in healthy children exposed to Mycobacterium tuberculosis. Pediatrics 2006; 117:1542-8.
- 17- Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, et al. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with Mycobacterium tuberculosis in children. Thorax 2006; 61:616-20.
- 18- Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis- burden country. JAMA 2005; 293:2756-61.
- 19- Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet 2003; 361:1168-73.
- 20- Richeldi L, Ewer K, Losi M, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170:288-95.
- 21- Shams H, Weis SE, Klucar P, et al. Enzyme-linked immunospot and tuberculin skin testing to detect latent tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172:1161-68.
- 22- Zellweger, JP, Zellweger A, Ansermet S, et al. Contact tracing using a new T-cell-based test: better correlation with tuberculosis exposure than the tuberculin skin test. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9:1242-7.
- 23- Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, et al. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170:65-9.
- 24- Pai M, Gokhale K, Joshi R. J Mycobacterium tuberculosis infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing. JAMA 2005; 293:2746-55.
- 25- Comstock GW, Baum C, Snider DE Jr. Isoniazid Prophylaxis among Alaskan Eskimos: a Final Report of the Bethel Isoniazid Studies. Am Rev Respir Dis. 1979;119:827-30.
- 26- Comstock GW, Livesay VT, Woolpert SF. The prognosis of a positive tuberculin reaction in childhood and adolescence. Am J Epidemiol 1974; 99: 131-8
- 27- Morán-Mendoza O, Marion SA, Elwood K, et al. Tuberculin skin test size and risk of tuberculosis development: a large population-based study. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11:1014-20.
- 28- Pai M, Joshi R, Dogra S, et al. Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon-gamma assay. Am J Respir Crit Care Med. 2006; 174:349-55.
- 29- Rangaka MX, Wilkinson KA, Seldon R, et al. Effect of HIV-1 infection on T-Cell-based and skin test detection of tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 175:514-20.
- 30- Ferrara G, Losi M, D'Amico R, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with Mycobacterium tuberculosis: a prospective study. Lancet. 2006; 367:1328-34.

- 31- Naseer A, Naqvi S, Kampmann B. Evidence for boosting *Mycobacterium tuberculosis*-specific IFN-gamma responses at 6 weeks following tuberculin skin testing. *Eur Respir J*. 2007; 29:1282-3.
- 32- National Institute for Health and Clinical Excellence. Tuberculosis. Clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control. London, UK: Royal College of Physicians 2006.
- 33- Chee CB, KhinMar KW, Gan SH, et al. Latent tuberculosis infection treatment and T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 175:282-7
- 34- Ewer K, Millington KA, Deeks JJ, et al. Dynamic antigen-specific T-cell responses after point-source exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 174:831-9.
- 35- Nardell EA, Wallis RS. Here today-gone tomorrow. The case for transient acute tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:734-5.
- 36- Anderson ST, Williams AJ, Brown JR, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* undetected by tuberculin skin testing. *Am J Resp Crit Care Med* 2006; 173:1038-42.
- 37- Diel R, Nienhaus A, Lange C, Schaberg T. Cost-optimisation of screening for latent tuberculosis in close contacts. *Eur Respir J*. 2006; 28:35-44.
- 38- Diel R, Wrighton-Smith P, Zellweger JP. Cost-effectiveness of interferon-g release assay testing for the treatment of latent tuberculosis. *Eur Respir J*. 2007; 30:321-32.
- 39- Oxlade O, Schwartzman K, Menzies D. Interferon-gamma release assays and TB screening in high-income countries: a cost-effectiveness analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007; 11:16-26.
- 40- Wrighton-Smith P, Zellweger JP. Direct costs of three models for the screening of latent tuberculosis infection. *Eur Respir J*. 2006; 28:45-50.
- 41- Arend SM, van Meijgaarden KE, de Boer K, et al. Tuberculin skin testing and in vitro T cell responses to ESAT-6 and culture filtrate protein 10 after infection with *Mycobacterium marinum* or *M. kansasii*. *J Infect Dis* 2002; 186:1797-807.
- 42- Tsiouris SJ, Austin J, Toro P, et al. Results of a tuberculosis-specific IFN-gamma assay in children at high risk for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10:939-41.
- 43- Ferrara G, Losi M, Meacci M, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Resp Crit Care Med* 2005; 172:631-5
- 44- Pai M, Lewinsohn DM. Interferon-gamma assays for tuberculosis: is anergy the Achilles' heel? *Am J Resp Crit Care Med* 2005; 172: 519-21