

Lineamientos para el uso del Xpert MTB/RIF

**Departamento de Bacteriología
Laboratorio de Micobacterias
InDRE, DGE, SSA**

**Biol. Susana Balandrano Campos
2015**

Xpert MTB/RIF

La prueba está basada en un PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) a tiempo real completamente automatizada en un cartucho que puede detectar *Mycobacterium tuberculosis* y resistencia a Rifampicina, en menos de dos horas.

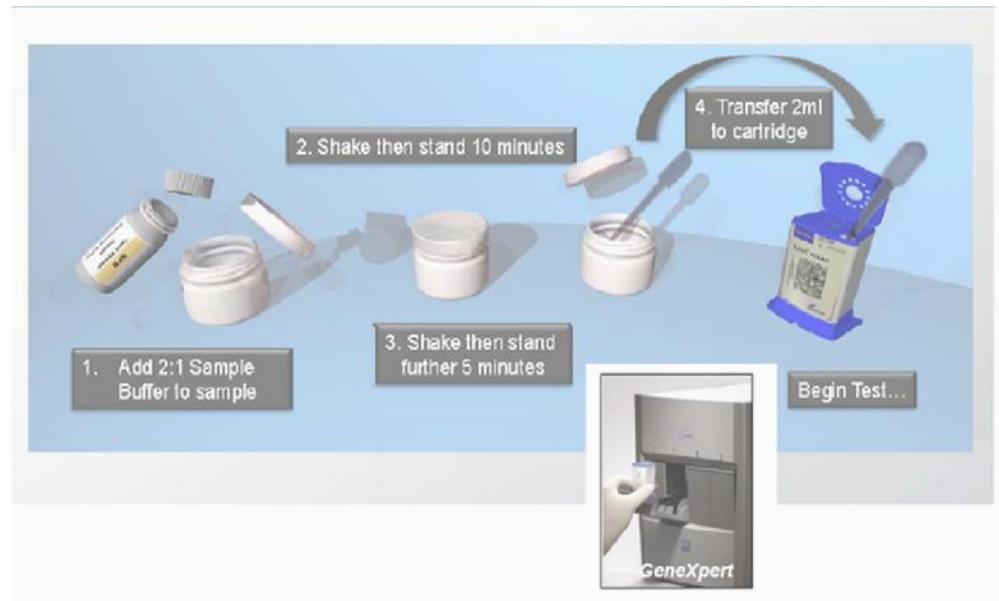


Xpert MTB/RIF

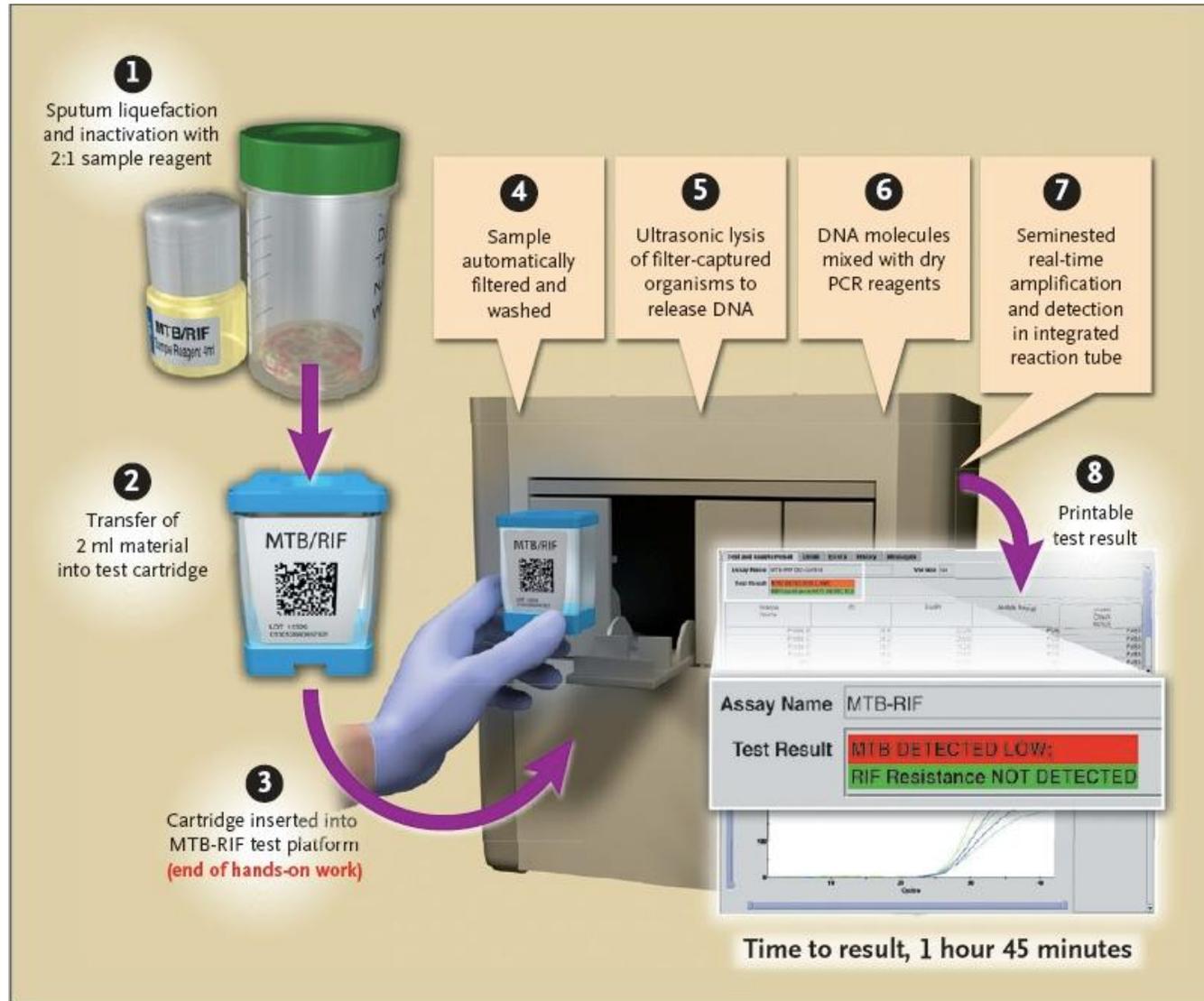
La prueba Xpert MTB/RIF usa unas balizas moleculares para detectar resistencia a Rifampicina. Estas balizas son sondas de ácidos nucleicos que reconocen y reportan la presencia o ausencia de la secuencia normal del gen *rpo* de tuberculosis tipo silvestre sensible a Rifampicina. Se usan 5 diferentes balizas marcadas, cada una cubre una secuencia de ácidos nucleicos separada dentro del gen *rpo* amplificado.

Xpert MTB/RIF

A diferencia de las pruebas de amplificación de ácido nucleico convencionales (NAATS por sus siglas en inglés- nucleic acid amplification tests-) en esta prueba el procesamiento, la amplificación y la detección están integrados en una unidad independiente cerrada que es el cartucho Xpert MTB/RIF. Luego de la preparación de la muestra todos los pasos de la prueba son automáticos y realizados dentro del cartucho.



Xpert MTB/RIF. Procedimiento

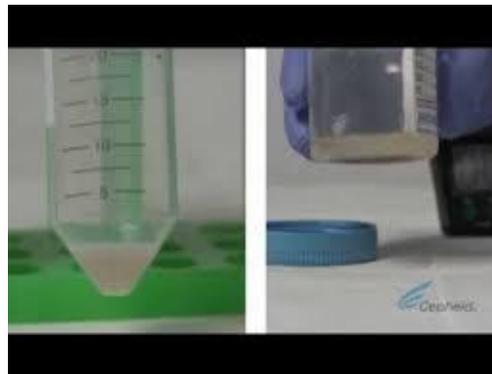


Procesamiento de muestras

- **Todas las muestras deben ser procesadas tan rápido como sea posible.**
- **Etiquetar correctamente los cartuchos de Xpert MTB/RIF y los tubos de cultivo en caso de hacer uso de ellos.**
- **Los tejidos deben ser procesados dentro de un gabinete de bioseguridad por los aerosoles que pueden producir al moler u homogenizar.**
- **Las muestras de LCR son paucibacilares y pueden ser procesadas usando las mismas precauciones que para una muestra de esputo a excepción de cuando van a ser concentradas por centrifugación.**
- **Uso de buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminación de muestras y especialmente contaminación cruzada con otras muestras.**
- **Cuando el volumen de una muestra es suficiente el cultivo puede hacerse simultáneamente.**

Procesamiento de muestras

- Para aquellas muestras que requieran descontaminación, se debe respetar estrictamente el tiempo de contacto con el descontaminante y la concentración de los reactivos y procesarlas en un laboratorio de contención (Ej, ganglio linfático, otros tejidos-biopsia pleural, etc.)
- Es importante para este tipo de muestras no transferir grumos de tejido, deben estar correctamente homogenizadas. Para ello, usar un mortero estéril, cortar la muestra en pequeñas porciones, agregar 2 ml de solución buffer de fosfato y moler y triturar el tejido hasta homogeneizarlo completamente.
- Transferir la suspensión a un tubo cónico con tapa de rosca y darle el tratamiento habitual para descontaminar (método de Petroff), antes de procesarla y transferirla al cartucho del Xpert MTBRIF.



Procesamiento de muestras

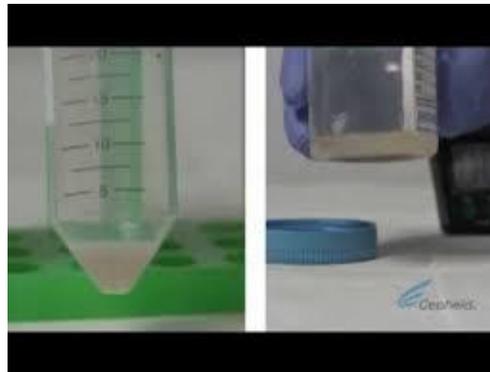
- **Para el diagnóstico de TB pulmonar**, la prueba puede usarse directamente desde una muestra de esputo fresca o desde un sedimento de esputo el cual se obtiene después de descontaminar y concentrar el esputo. En ambos casos el material se combina con el reactivo, se mezcla manualmente o con vortex y se incuba a temperatura ambiente por 15 minutos. Luego de la incubación, 2 ml de muestra son transferidos al cartucho que se introduce a la plataforma para completar la prueba. Las muestras procedentes de niños pueden ser: jugo gástrico, lavado o aspirado.



Once cartridge is ready, test should be loaded within 30 minutes.

Procesamiento de muestras

- **Para el diagnóstico de TB extrapulmonar**, las muestras de líquido cefalorraquídeo, nódulos linfáticos, biopsias de otros tejidos, etc. pueden requerir homogenización, concentración o descontaminación, previo a ser procesadas por el Xpert MTB/RIF. Estos procedimientos se hacen de la forma habitual pero dentro de un gabinete de bioseguridad y en un laboratorio de contención. El líquido pleural, como ya se mencionó, no es una buena muestra por su baja sensibilidad, en su lugar debe procesarse la biopsia pleural.
- Las muestras de **materia fecal, orina o sangre** no deben ser procesadas en el Xpert MTB/RIF dada su poca utilidad.



Xpert MTB/RIF

Resultados

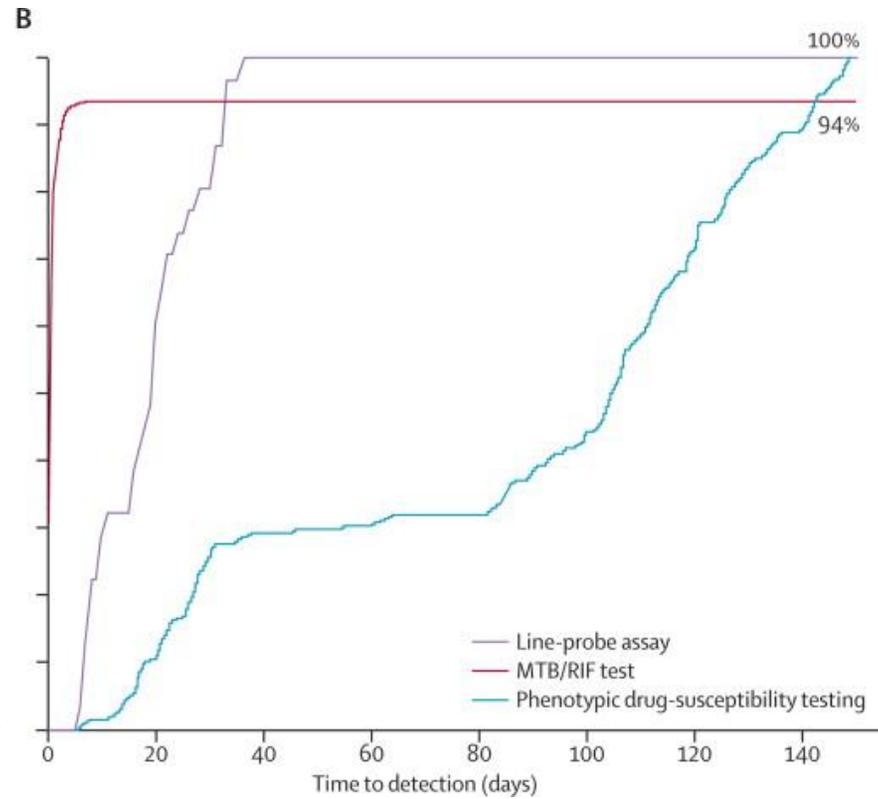
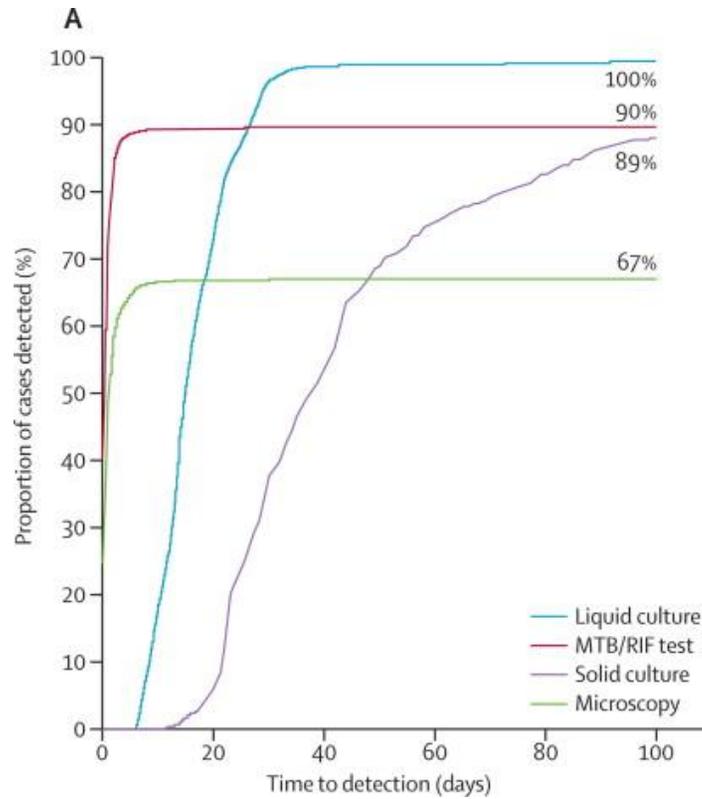
Resultado	Interpretación	Reporte
TB no detectado	Negativo	N
TB detectada, resistencia a Rifampicina no detectada	Positivo para tuberculosis, sin resistencia a Rifampicina	TB
TB detectado, resistencia a Rifampicina detectada	Positivo para tuberculosis, con resistencia a Rifampicina.	RR
TB detectada, resistencia a Rifampicina indeterminada	Indeterminado. Repetir la prueba en nueva muestra.	TBI
Invalidado/ Error / Sin resultado	Invalidado. Repetir la prueba en nueva muestra.	I

Xpert MTB/RIF

La prueba tiene una sensibilidad analítica para 5 copias de ADN purificado y 131 UFC/MI en el esputo. Esta sensibilidad hace posible su uso en muestras de esputo BK (-).

No tiene reacción cruzada con micobacterias no tuberculosas (MNTB).

Método Xpert MTB/RIF



Xpert MTB/RIF

Dado que la preparación de la muestra es con un reactivo que licua y mata al *M. tb*, se descarta la preocupación sobre bioseguridad.



Xpert MTB/RIF

Las características mencionadas permiten que esta prueba pueda estar en laboratorios de nivel periférico cerca de los pacientes.



En caso de que se decida que se instale en un laboratorio de nivel central, **se debe garantizar el traslado de muestras oportuno y adecuado** desde el nivel periférico y que el **resultado** emitido llegue con oportunidad al paciente.

Requerimientos del equipo para su uso

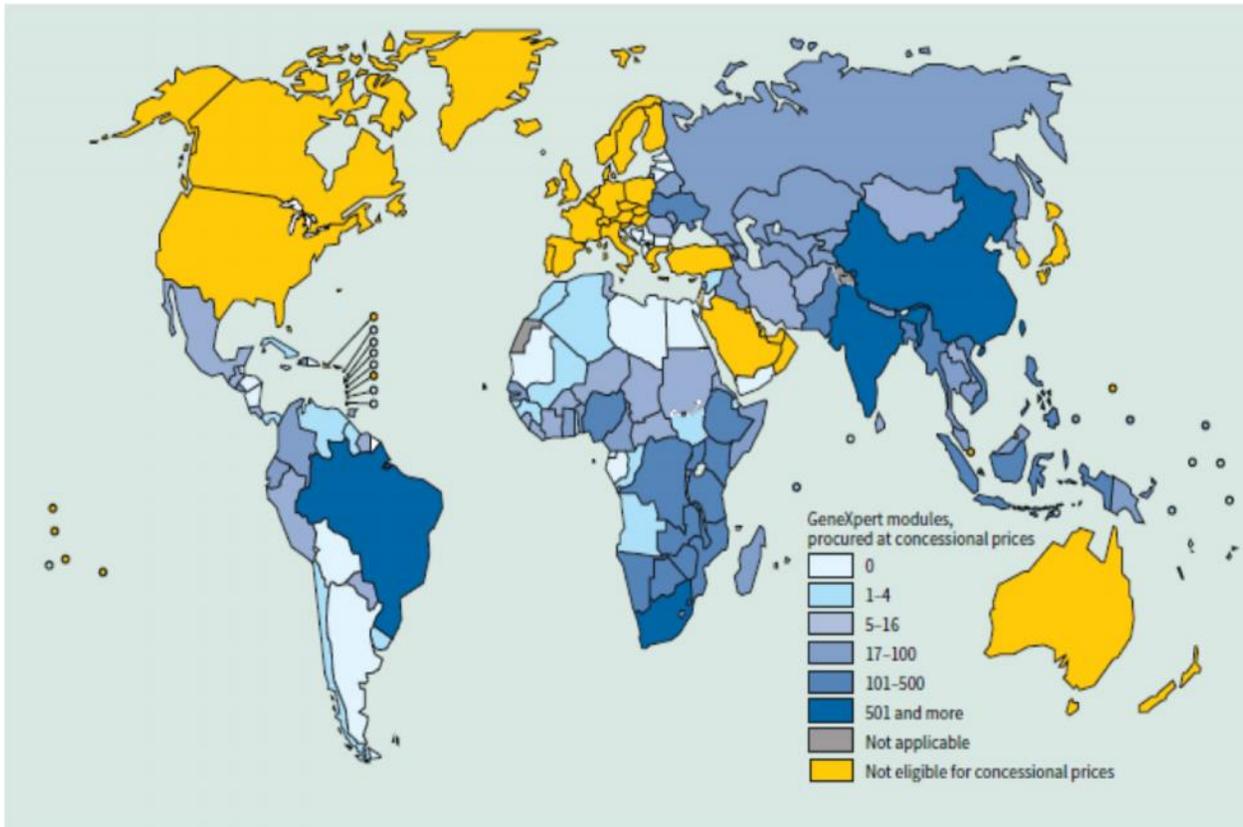
- **Considerar el número de pruebas a realizar a diario para escoger el equipo con el número de módulos necesarios. Recordar que cada prueba se realiza independientemente de la otra. La presentación del instrumento puede ser de 1, 2, 4 y 16 módulos.**
- **Suministro de electricidad estable (regulador de voltaje) y permanente (no-break) para evitar la interrupción del procesamiento de la muestra y la pérdida de resultados.**
- **Temperatura ambiente que no exceda los 30° C, en caso de que ello suceda se debe contemplar la instalación de un equipo de aire acondicionado.**



Requerimientos del equipo para su uso

- **Calibración anual del instrumento remota o en su sitio por un proveedor autorizado. Es importante considerar en la compra inicial del instrumento el Kit calibrador. En caso que la calibración remota fracasara se necesitará reemplazar el equipo.**
- **Área para almacenar los cartuchos y los reactivos a una temperatura entre 2 a 28° C siguiendo las recomendaciones del fabricante. Recordar que la vida media de los cartuchos es de 12 meses.**
- **Personal asignado para su uso, entrenado, con buenas prácticas de laboratorio, manejo cuidadoso del equipo, conocimientos básicos de computación y de registros del laboratorio.**
- **Definir un contrato comercial que garantice suministro de cartuchos, mantenimiento, calibración, apropiada reparación y en caso necesario reemplazo. En caso de adquirirse desde el extranjero, considerar los trámites de aduana.**
- **Seguro contra robo.**

Expansión mundial del método Xpert MTB/RIF



Equipo Xpert-MTBRIF MÉXICO

Equipo Xpert-MTBRIF MÉXICO	
Número de equipos	39
SSA 23 O I 9 Privados 7 Estados que lo Refirieron:	Chihuahua. Coahuila. Durango. Hidalgo. Guerrero. Edomex. Michoacán. Nuevo León. Jalisco, Oaxaca. Puebla. Quintana Roo. San Luis Potosí. Sinaloa. Veracruz.
Ubicación	LTB/LESP. BM/LESP. LabMicroHosp. CAPASIT
Modelo de adquisición	Comodato/Préstamo /Propio
Fecha de adquisición	A partir 2011
Número de cartuchos utilizados 2014	2040

1. Uso de Xpert MTB RIF para diagnóstico de TB pulmonar y resistencia a rifampicina en adultos y niños.

- La prueba Xpert MTB RIF **debe ser usada** en lugar de las pruebas convencionales (microscopia, cultivo y pruebas de farmacosenibilidad) como **prueba diagnóstica inicial en adultos con sospecha de tener TB-MDR:**

Fracaso a tratamiento primario

Fracasos a retratamiento primario y crónicos.

Exposición a un caso de TB MFR

Caso de TB con Bk (+) al final del 2º o 3er mes de tratamiento primario o retratamiento

Recaídas y reingresos por pérdida de seguimiento

Comorbilidad TB-VIH y TB-DM descompensada

o TB asociada a VIH.

(Para adultos: recomendación fuerte, evidencia de calidad alta).

Resistencia: 17 estudios, 555 participantes. Sensibilidad: 95% (CrI 90-97) / 24 estudios, 2414 participantes. Especificidad: 98% (CrI: 97-99)

- La prueba Xpert MTB RIF **debe ser usada** en lugar de las pruebas convencionales (microscopia, cultivo y pruebas de farmacosenibilidad) **como prueba diagnóstica inicial en niños con sospecha de tener TB-MDR o TB asociada a VIH.**

(recomendación fuerte, numerosa evidencia de calidad baja).

*Resistencia: 3 estudios, 176 participantes. Sensibilidad: 86% (CrI 53-98). Especificidad: 98%
(CrI: 94-100%)*

- La prueba Xpert MTB RIF puede ser usada en lugar de las pruebas convencionales (microscopia y cultivo) como prueba diagnóstica inicial en todos los adultos y todos los niños con sospecha de tener TB.

(recomendación condicional, reconociendo la implicación de recursos)

Evidencia de calidad alta en adultos y baja en niños).

Adultos: 22 Estudios, 9008 participantes. Sensibilidad: 88% (CrI: 84-92). Especificidad: 99% (98-99).

Niños: 7 estudios número de participantes no referidos. Sensibilidad: 66% (CrI: 51-81). Especificidad: 98%

- La prueba Xpert MTB RIF puede ser usada como prueba adicional a la baciloscopia en adultos con sospecha de tener TB pero sin riesgo de tener TB-MDR o TB asociada a VIH, especialmente cuando es necesario ampliar la búsqueda a partir de una **baciloscopia negativa**.

(recomendación condicional, reconociendo la implicación de recursos)

Evidencia de calidad alta).

23 estudios, 7151 participantes. Sensibilidad: 68% (CrI: 61-74). Especificidad: 99% (98-99).

Estas recomendaciones aplican para muestras procesadas y sin procesar de esputo. También para muestras de jugo gástrico (lavado o aspirado).

A las muestras procedentes de niños con sospecha de tener TB pulmonar con resultado negativo de Xpert MTB/RIF se les deben ofrecer otras pruebas diagnósticas (cultivo en medio sólido y líquido si se dispone).

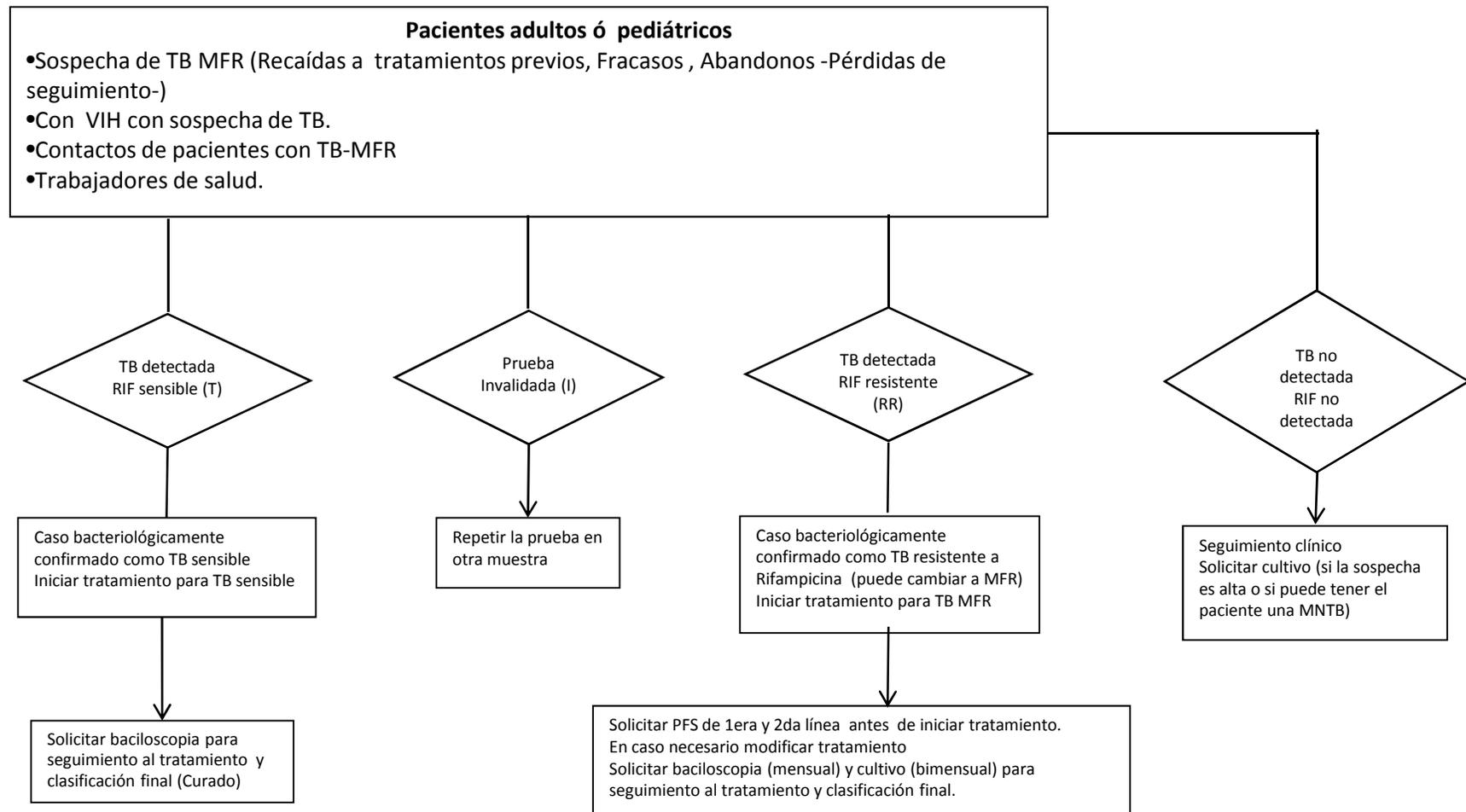
Se sospecha TB en un paciente adulto con VIH cuando presenta algunos de los siguientes síntomas: tos actual, fiebre, pérdida de peso o sudoración nocturna. Entre los niños, cuando presentan algunos de los siguientes síntomas: pérdida de peso, fiebre, tos actual, o historia de contacto con un paciente con tuberculosis.

La microcopia y el cultivo quedan como pruebas para el seguimiento del tratamiento y las PFS para conocer el patrón de resistencia o sensibilidad a las otras drogas de primera línea y a las de segunda línea.

No usar el método Xpert MTB/RIF para el seguimiento del tratamiento.

Algoritmo para el diagnóstico de TB pulmonar

Uso de Xpert MTB/ RIF para diagnóstico de TB pulmonar y resistencia a rifampicina en adultos y niños



2. Uso de Xpert MTB RIF para diagnóstico de TB extra-pulmonar y resistencia a rifampicina en adultos y niños.

- La prueba Xpert MTB RIF **debe ser usada** en preferencia a las pruebas convencionales de baciloscopia y cultivo como prueba diagnóstica inicial en muestras de **líquido cefalorraquídeo** procedentes de pacientes con sospecha de meningitis.

Recomendación fuerte dada la urgencia de un diagnóstico rápido.

(numerosa evidencia de calidad baja).

*Comparado con cultivo: 16 estudios, 709 muestras. Sensibilidad: 79.5% (CrI: 62-90).
Especificidad: 98,6% (CrI: 96-100)*

*Comparado con CRS: 6 estudios, 512 muestras. Sensibilidad: 55.5% (CrI: 51-81).
Especificidad: 98,8% (CrI: 95-100)*

- La prueba Xpert MTB RIF puede ser usada como prueba de reemplazo de la práctica habitual (baciloscopia, cultivo o histopatología) en muestras específicas (ganglio linfático y otros tejidos) procedentes de pacientes con sospecha de tener TB extra pulmonar.

(recomendación condicional, calidad de la evidencia muy baja)

Ganglio linfático, tejido y aspirado:

Comparado con cultivo:14 estudios,849 muestras. Sensibilidad: 84.9% (Crl: 72-92).

Especificidad: 92,5% (Crl: 80-97)

Comparado con CRS:5 estudios, número de muestras no referido. Sensibilidad: 83,7% (Crl: 74-90). Especificidad: 99,2% (Crl: 88-100)

A los pacientes con sospecha de tener TB extra pulmonar pero que el Xpert MTB/RIF presentó un resultado negativo se les deben ofrecer otras pruebas diagnósticas.

Para el LCR por la urgencia del diagnóstico, si el volumen de la muestra es pequeño y si no puede conseguirse una muestra adicional, se debe hacer la prueba Xpert MTB/RIF en lugar del cultivo. Si el volumen de la muestra es suficiente se deben hacer las dos. También si el volumen es suficiente puede concentrarse la muestra para realizarla en el Xpert MTB RIF con la intención de aumentar el rendimiento. El proceso de centrifugación debe realizarse en un laboratorio de contención.

El líquido pleural (LP), independientemente del método usado, no es una buena muestra para la confirmación bacteriológica a diferencia de la **biopsia pleural** que si lo es. El LP mostró sensibilidad baja para este método, en consecuencia, cuando un resultado es negativo en LP se deben ofrecer otras pruebas (cultivo en medio sólido y líquido si está disponible).

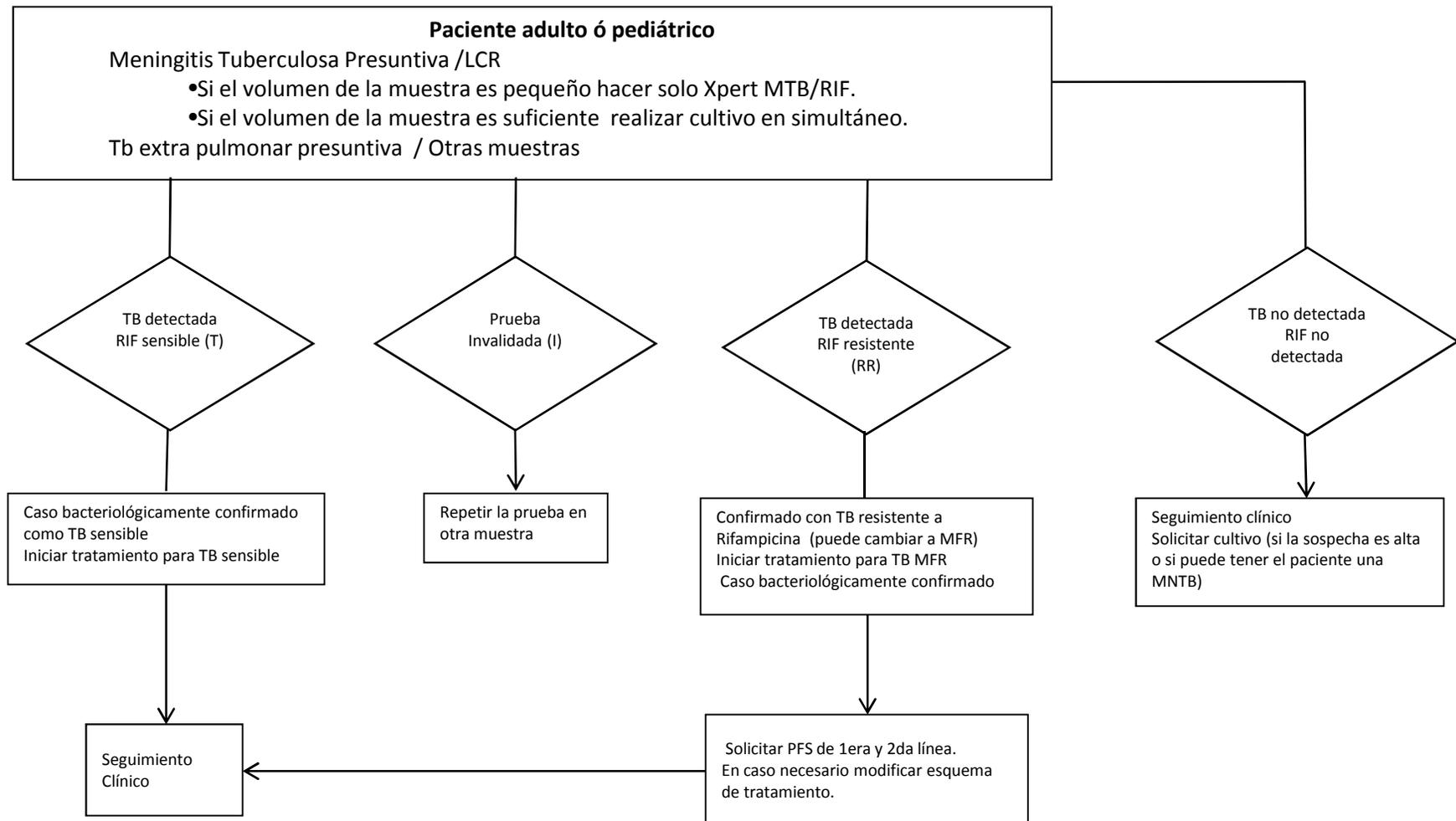
Líquido pleural:

Comparado con cultivo: 17 estudios, 1385 muestras. Sensibilidad: 43,7% (Crl: 25-65). Especificidad: 98,1% (Crl: 95-99)

Comparado con CRS: 7 estudios, 698 muestras. Sensibilidad: 17% (Crl: 8-34). Especificidad: 99,9% (Crl: 94-100)

Estas recomendaciones **no aplican para muestras de materia fecal, orina o sangre**, dada la falta de información de utilidad del Xpert MTB/RIF en estas muestras.

Uso de Xpert MTB/RIF para diagnóstico de TB extra-pulmonar y resistencia a rifampicina en adultos y niños



Conclusiones

- Prueba molecular completamente automatizada.
- Simultáneamente detecta a *Mycobacterium tuberculosis* y resistencia a rifampicina.
- Provee resultados en menos de dos horas desde la recepción de la muestra, facilitando al personal de salud la prescripción de un esquema adecuado el mismo día.
- Requiere mínima bioseguridad, así como de capacitación al personal de laboratorios.
- El beneficio supera el costo de la prueba: diagnóstico precoz que permite un tratamiento adecuado (corta la cadena de transmisión, disminuye el riesgo de muerte y brinda equidad en el diagnóstico).

Bibliografía

- **Xpert MTB/RIF Implementation manual. Technical and operational “how –to” practical considerations. World Health Organization. 2014**
- **Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB /RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extra pulmonary TB in adults and children. Policy update.2013**
- **Using the Xpert MTB/RIF assay to detect pulmonary and extra pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and children. Expert group meeting Report.2013 World Health Organization**
- **Definiciones y marcos de trabajo para la notificación de tuberculosis. OMS. Revisión 2013.**

¡MUCHAS

GRACIAS!
