

Instituto Nacional de Enfermedades
Respiratorias Ismael Cosío Villegas, INER,
Unidad de Microbiología



Utilidad e interpretación de los ensayos de IFN γ

Dra. Martha Torres Rojas
marthatorres98@yahoo.com

Tuberculosis

- Cada minuto mueren 3 personas de tuberculosis
- Un tercio de la población está infectado con *Mycobacterium tuberculosis*
- Se reportan más de 8 millones de casos de la enfermedad activa por año
- Causa 1.5 millones de muertes por año

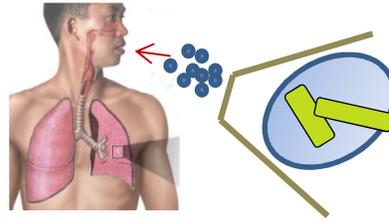


La Traviata



«En la ópera, la muerte por tuberculosis de la cantante siempre es espectacular»
La Bohème

¿Todos los que se infectan se enferman?

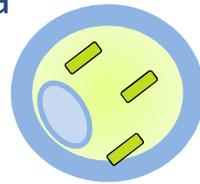


Duración e intensidad de exposición y defensa inmune del hospedero

No infección

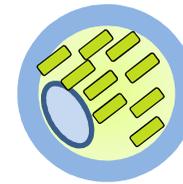
Infección

Respuesta inmune
"Adecuada"



Crecimiento limitado de mtb

Respuesta inmune
"No adecuada"

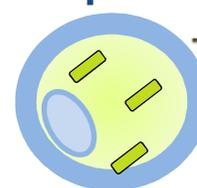


Crecimiento rápido de mtb
TB activa (10%)

Factores hospedero/mtb



Eliminación de mtb



Supervivencia de mtb (90%)
TB latente

Desbalance en Sistema
Inmune

Modificado de Ahmad S. 2010

Tuberculosis Activa y Tuberculosis Latente

TB Activa

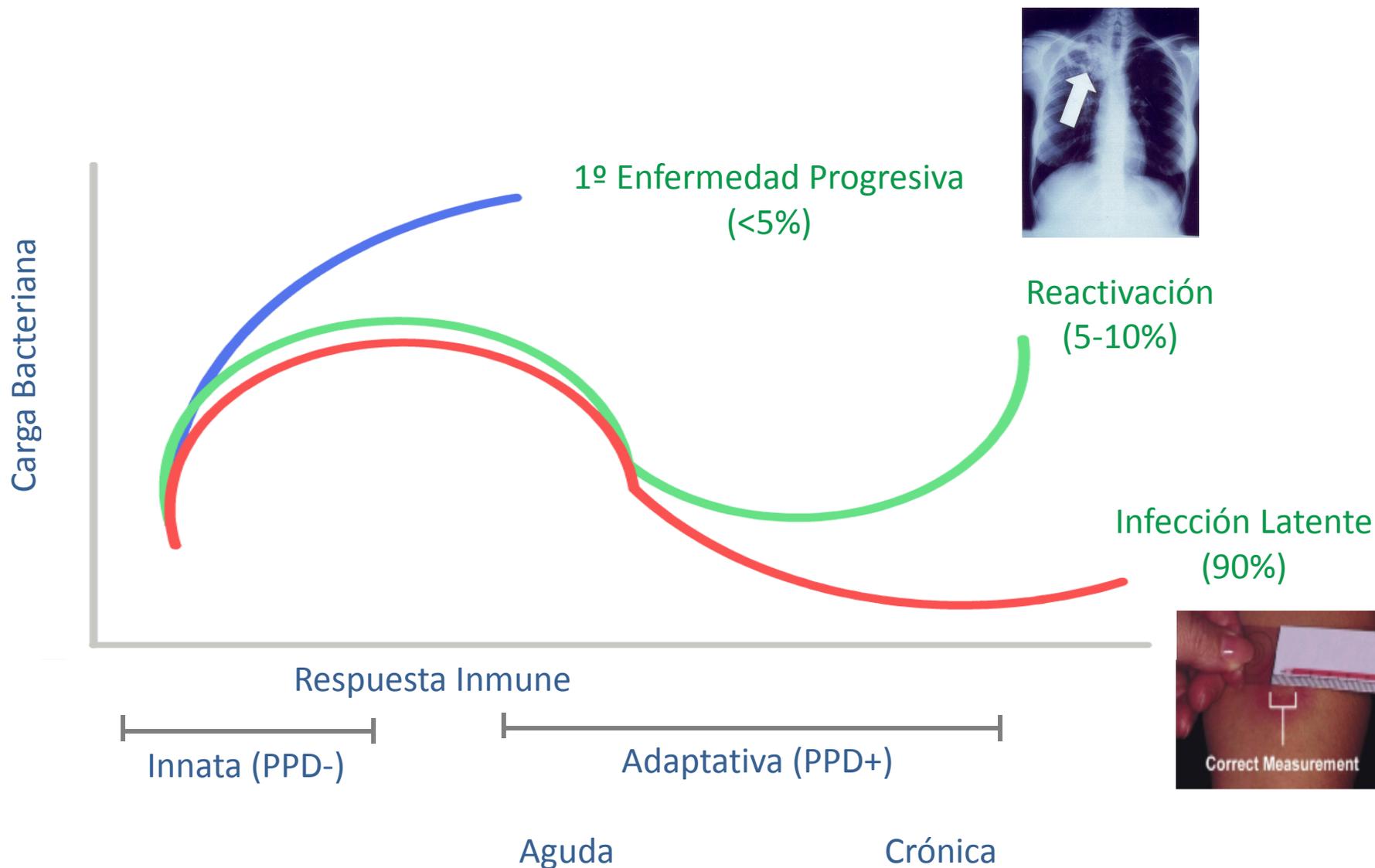
- Fase replicativa de la bacteria
- Presencia de síntomas clínicos como_
 - Tos con flema por más de 15 días
 - A veces con sangre en el esputo
 - Fiebre
 - Sudoración nocturna
 - Mareos momentáneos
 - Escalofríos
 - Palidez
 - Pérdida de peso.
- Síntomas radiológicos

TB Latente

- Fase NO replicativa de la bacteria
- Forma NO TRANSMISIBLE
- SIN síntomas clínicos ni radiológicos
- Reservorio de la enfermedad:
Riesgo de reactivación

“Tanto Tuberculosis Activa como Tuberculosis Latente son positivos para las pruebas diagnósticas PPD e IGRAS”

Historia Natural de la Infección por *M. tuberculosis*

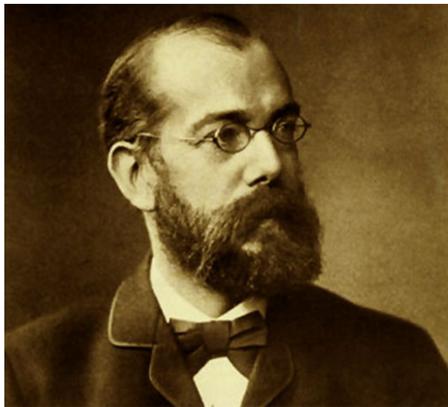


Pruebas diagnósticas de Tuberculosis Latente

1.- Prueba intradérmica PPD

2.- Ensayos de liberación de IFN γ (IGRAS)

Prueba intradérmica de la tuberculina (PPD)



Robert Koch



Tuberculina



-Usada desde 1893 hasta nuestros días

-Son proteínas de secreción obtenidas a partir de cultivos virulentos de Mtb muertos por calor, filtrados y concentrados

-Se usa intradérmicamente 5UT de PPD (0.1mL) y el resultado se lee de 48-72 h después.

-Si el resultado es positivo se forma una induración



Prueba intradérmica de la tuberculina (PPD)

Basado en la hipersensibilidad tardía DTH (delayed-type hypersensitivity)



Figure 1a:
Measurement of a TST

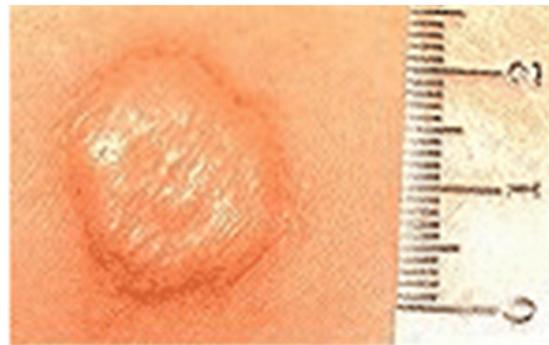


Figure 1b:
A Tuberculin®'induration' forms on the surface of the skin.

Ventajas y desventajas del PPD intradérmico

Ventajas

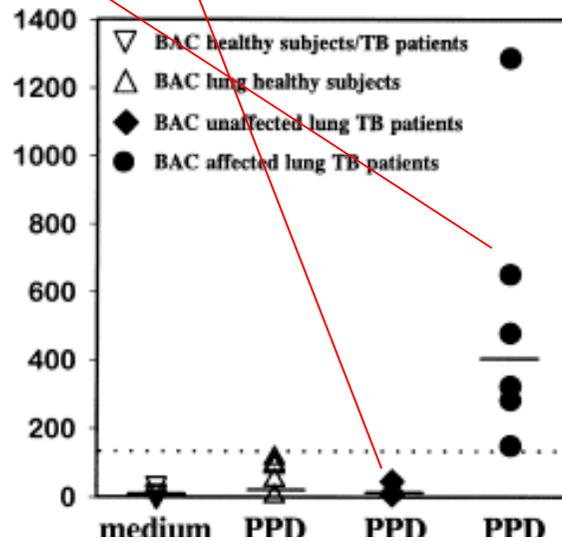
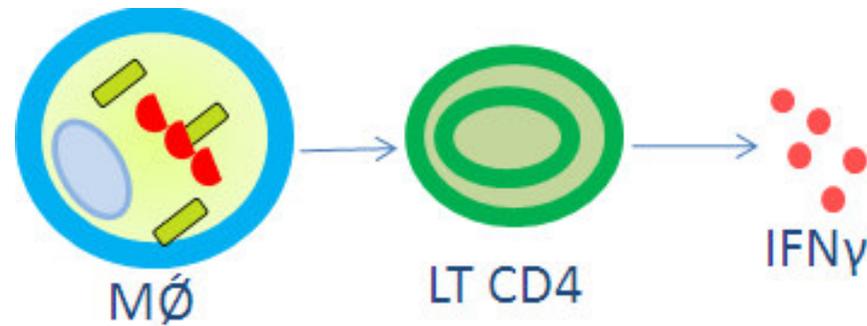
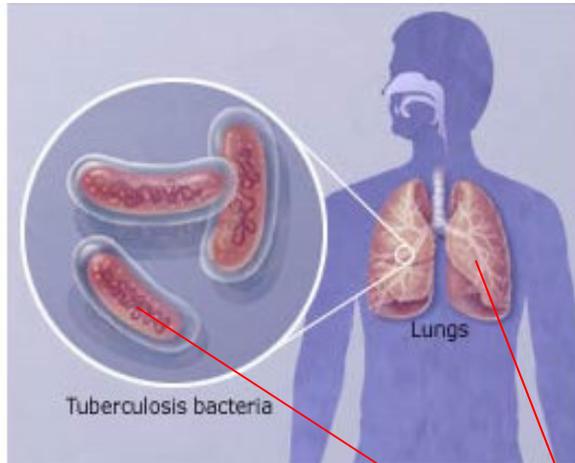
- Detecta infección por TB
- Bajo costo
- No es necesario un laboratorio

Desventajas

- Reacción cruzada con BCG
 - 2 visitas del paciente
- Sensibilidad (75-90%)/ Especificidad muy baja (50%)
- Reactividad cruzada con micobacterias saprófitas
- No discrimina entre TB latente y TB activa
- Resultados en 2-3 días
- "Booster Response"

¿Es posible mejorar la prueba del PPD
intradérmico?

Determinación de IFN γ en Pruebas diagnósticas de Tuberculosis



Ensayos con sangre periférica, basados en la liberación de IFN γ (IGRAS)

- Cuando el individuo ha estado en contacto con Mtb se libera IFN γ que es posible cuantificar
- Antígenos específicos: ESAT-6 y CFP-10, No hay reacción cruzada con vacunación por BCG ni por micobacterias saprófitas
- Dos tipos de ensayos:
 - Quantiferon
 - TB spot

Ensayos con sangre periférica, basados en la liberación de IFN γ



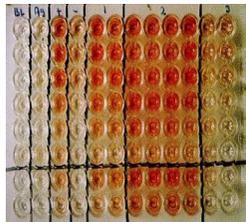
Quantiferon-TB



Concentración IFN γ en sangre periférica en respuesta a Ag-específicos de Mtb



ESTAT-6, CFP-10 y TB7



Quantiferon TB Gold Cellestis 2009



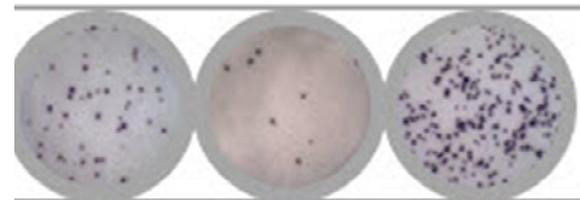
T-SPOT -TB



en sangre periférica: identifica linfocitos Ag-específicos productores de IFN γ



ESTAT-6 y CFP-10



Quantiferon TB Gold Cellestis 2009

Técnica de QuantiFERON-TB



Ventajas

- Detecta infección por TB
- Sin reacción cruzada con BCG
- Sin reactividad cruzada con micobacterias saprófitas
- 1 sola visita del paciente
- Resultados en 24 hrs
- Sensibilidad 90% / Especificidad 89- 100%

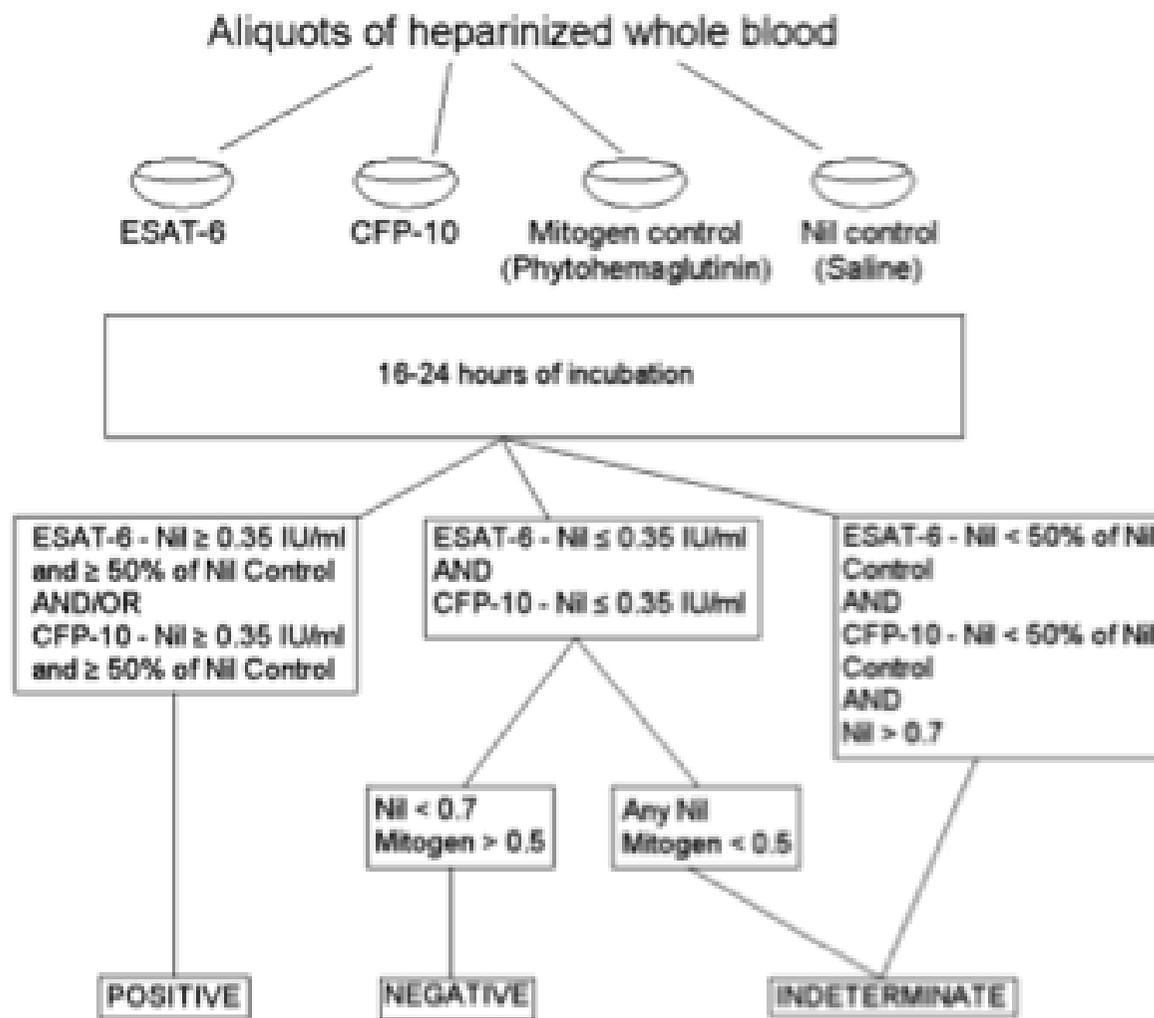
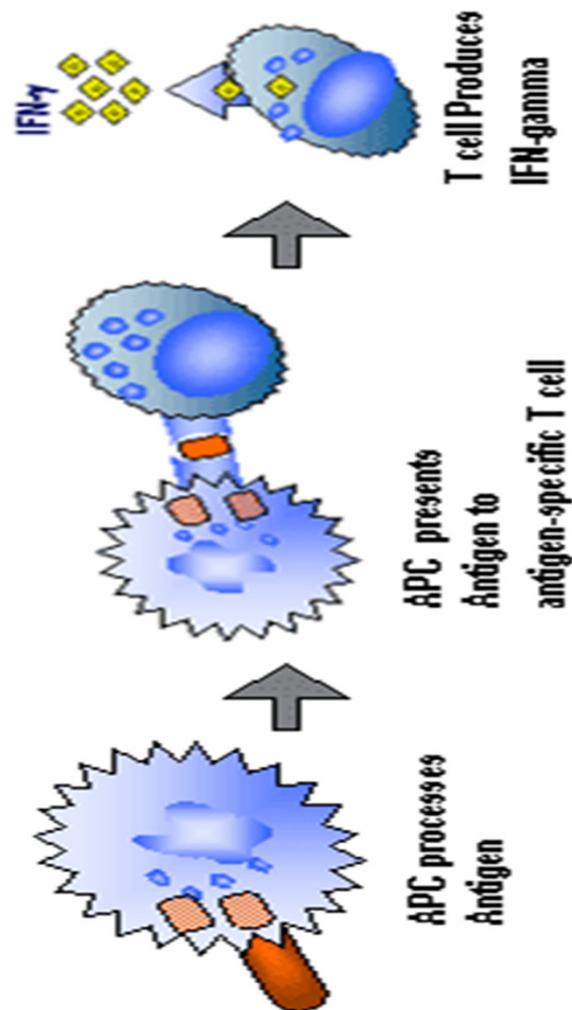
Desventajas

- No discrimina entre TB latente y TB activa
- Costos de moderados a altos
- Se necesita infraestructura de laboratorio para realizar la prueba

QuantiFERON-TB

Pasos Quantiferon

Principio Quantiferon



Modificado de Quantiferon TB Gold Cellestis 2009

TBSPOT



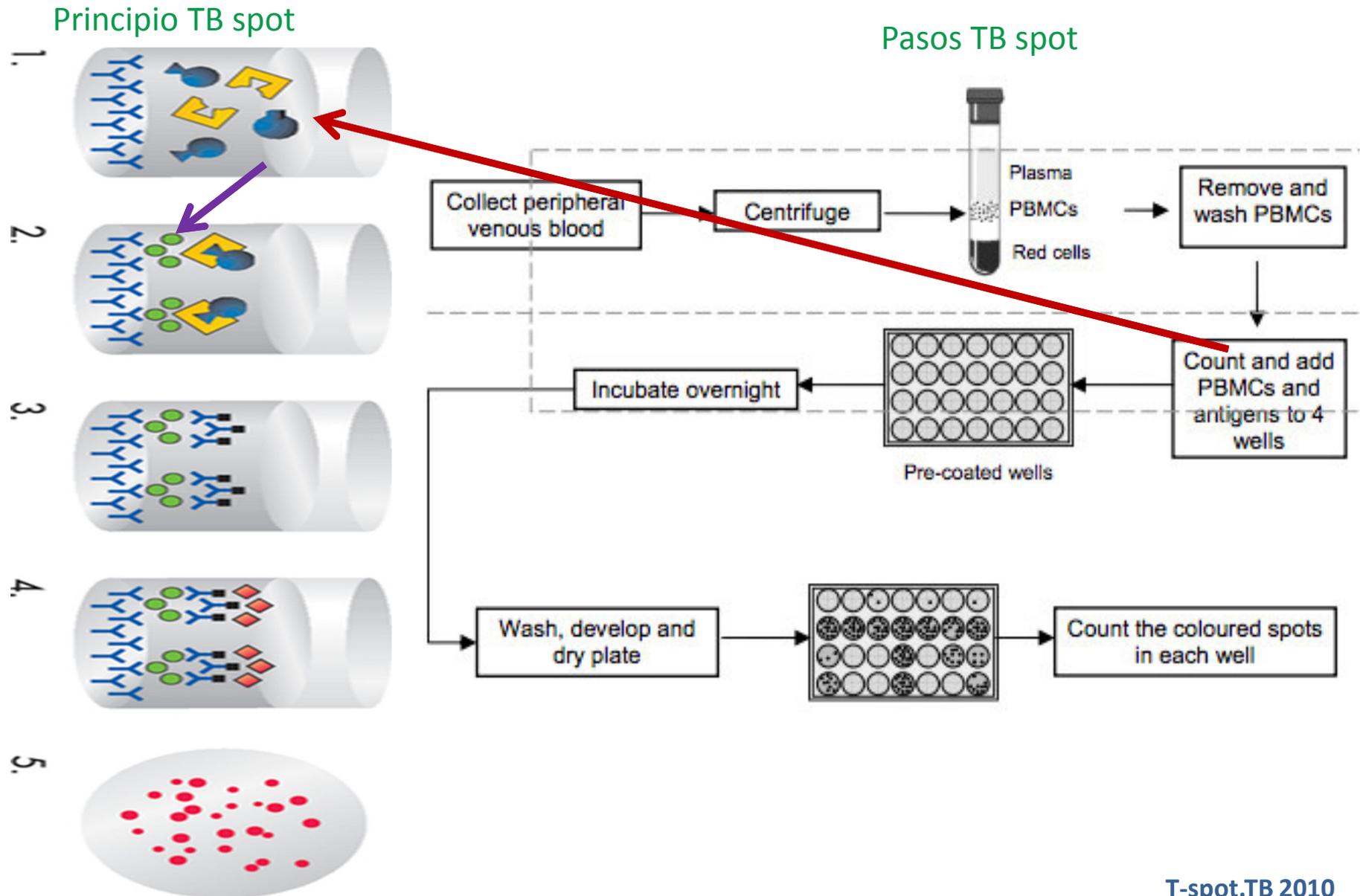
Ventajas

Detecta infección por TB
Sin reacción cruzada con BCG
Sin reactividad cruzada con micobacterias saprófitas
1 sola visita del paciente
Resultados en 1-2 días
Sensibilidad 75-95% /
Especificidad 90- 100%

Desventajas

No discrimina entre TB latente y TB activa
Costos de moderados a altos
Se necesita infraestructura de laboratorio para realizar la prueba

TBSPOT

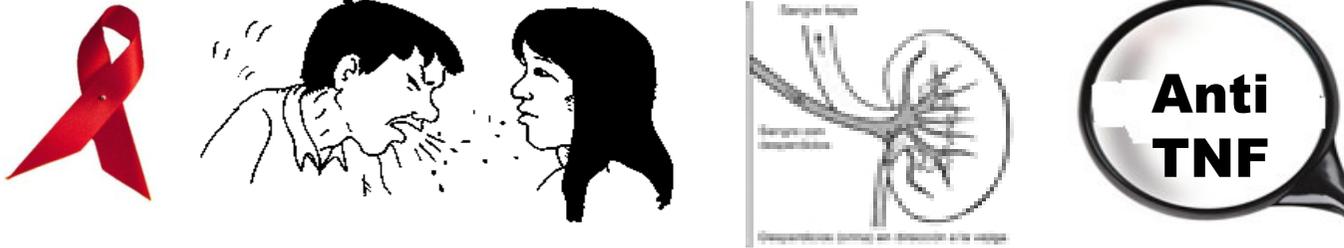


Interpretación de resultados

Interpretación del resultado de PPD intradérmico

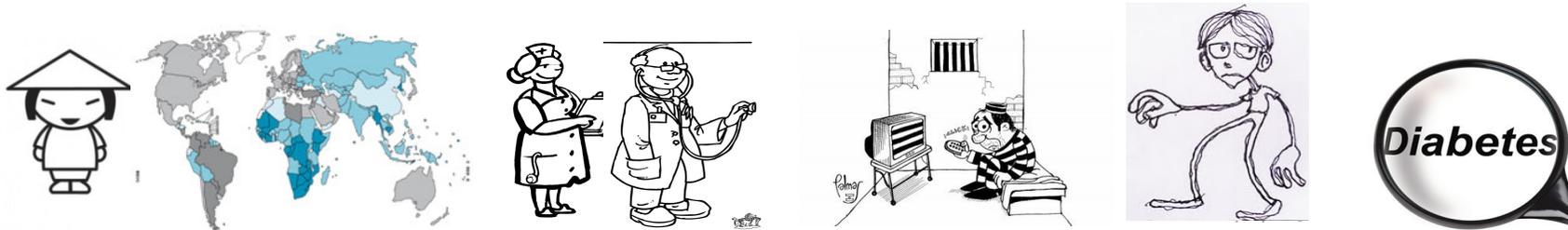
a) Reacción de induración ≥ 5 mm

Considerado Positivo SI:



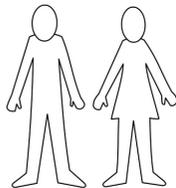
b) Reacción de induración ≥ 10 mm

Considerado Positivo SI:



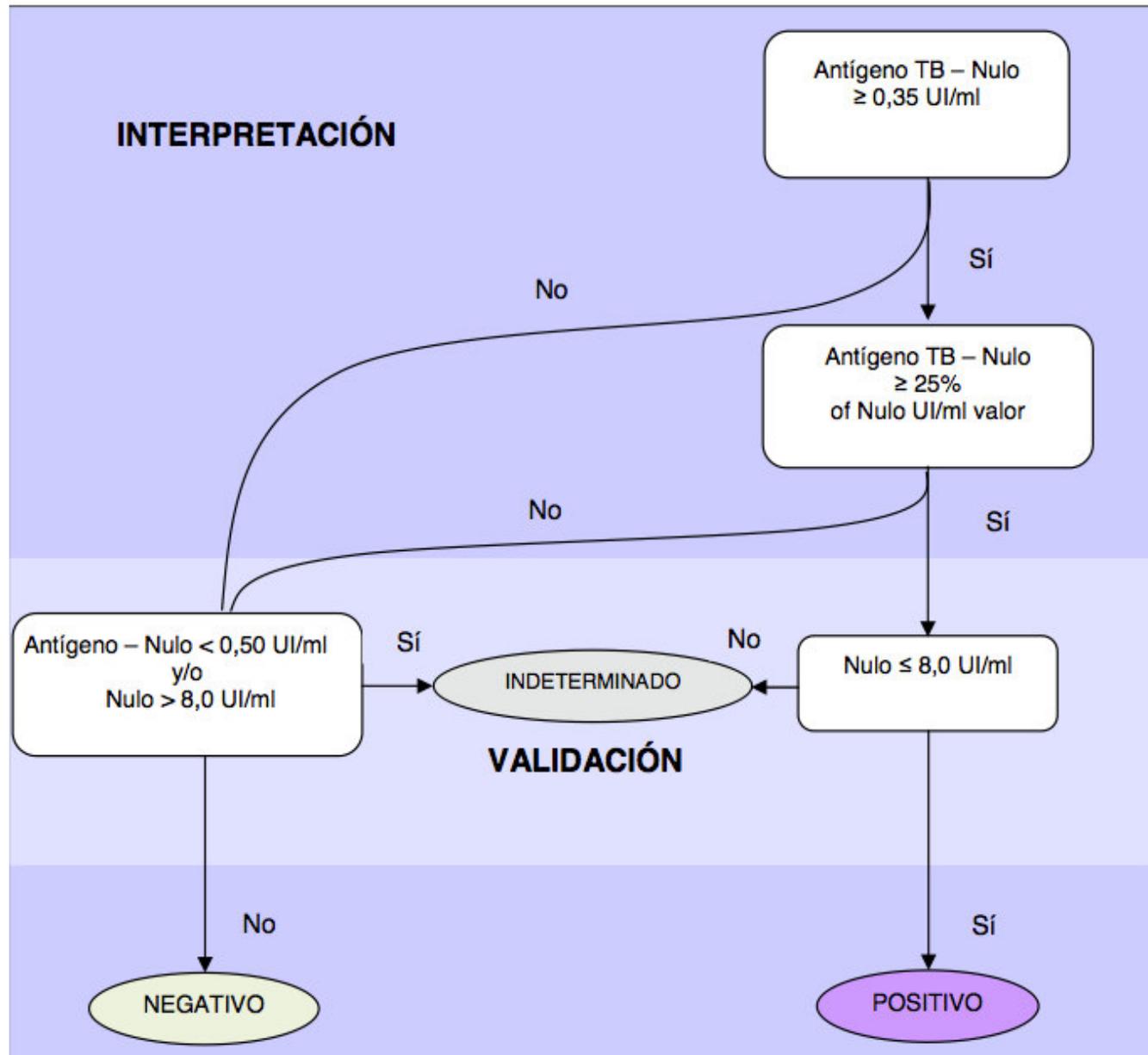
c) Reacción de induración ≥ 15 mm

Considerado Positivo SI:

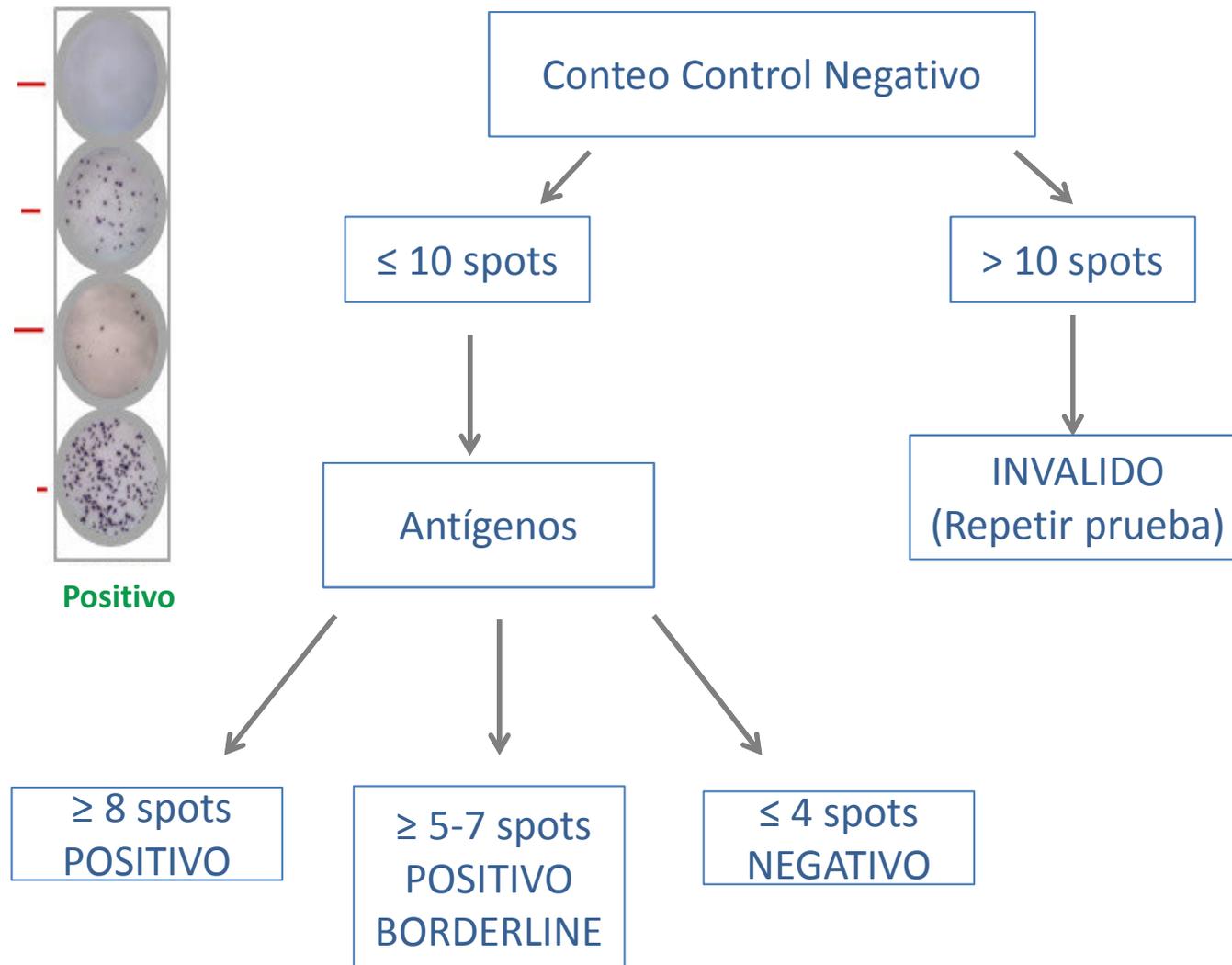
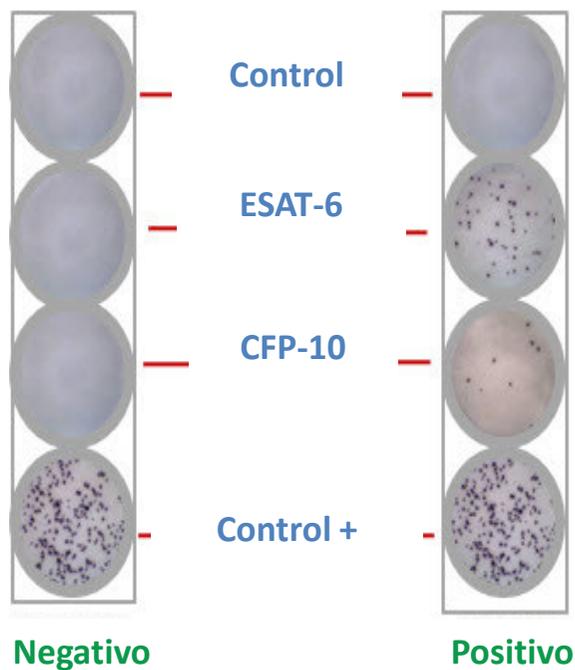


Sin factores de riesgo para TB

Interpretación del resultado de Quantiferon (IGRAS)



Interpretación del resultado de TB Spot (IGRAS)



Modificado de T-spot.TB 2010

¿Qué hacer en caso de un resultado positivo para las pruebas PPD intradérmico y/o IGRAS y sin síntomas clínicos ni radiológicos?

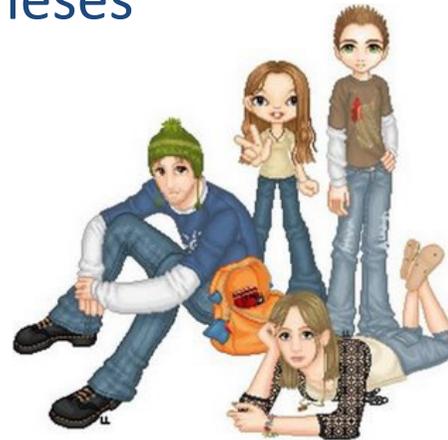
¿A quiénes darle tratamiento profiláctico?

WHO y Norma Oficial Mexicana

6 meses



< 5 años



< 14 años
sin BCG

12 meses



NOM-006-SSA2-2000

WHO 2009 Global Tuberculosis Control

MMWR Recomm Rep, 2000. 49: 1-51

“En casos no incluidos la administración de tratamiento dependerán del criterio del médico”

**IMPORTANCIA DE UNA BUENA INTERPRETACIÓN
DE RESULTADOS Y UN BUEN DIAGNÓSTICOS**

Casos Clínicos



Caso 1. Trabajador de sector salud nacido fuera del país con un resultado positivo

- Enfermera de Filipinas de 30 años
- Resultado Quantiferon de 7.5 IU/mL
- Historial médico con PPD positivos
 - Con vacunación BCG de niña
 - Sin síntomas clínicos de TB

¿Diagnóstico?

¿Tratamiento?

Se recomienda tratamiento profiláctico con isoniazida para TB latente

Comentario

La paciente no acepta, dice que se hizo la prueba de PPD 2 días antes que la prueba de IGRAS y eso pudo haber afectado el resultado

El caso ilustra la influencia de las IGRAS de PPD diagnóstico de TB en trabajadores de los CAS?

Los resultados previos de PPD pudieron ser falsos positivos ya que fue vacunada con BCG en la infancia. Como los IGRAS no intradérmico el resultado de los IGRAS tienen reacción cruzada con BCG el resultado indica TB latente

IMPORTANTE porque desde el 2005 se recomendó el uso de PPD e IGRAS como pruebas diagnósticas

Zyl-Smit et al reportaron que al día 7 SI influencia el PPD produciendo > respuesta pero al día 2 (es cuando se lee el resultado) no afecta

**SE SIGUE
INDICANDO
TRATAMIENTO**

Caso 2. Hombre con riesgo bajo y resultado positivo

- Hombre de 26 años que quiere ingresar a Trabajar a hospital
- Resultado de TB Spot de 5 spots
- Nunca se ha hecho prueba de PPD intradérmico
- Nacido en E.U. (toda su vida ha vivido allí)
- -No tiene contacto con individuos con TB activa
- No hay evidencia de TB según radiografía

¿Diagnóstico?

¿Tratamiento?

El hombre tiene un resultado “borderline” por lo que podría ser un falso positivo. Las respuestas de células T pueden variar de tiempo a tiempo y de persona a persona y esta variación se ve reflejada en el 15 % de variabilidad aceptada por la FDA. Con base a su historial clínico no es probable que tenga TB latente

NO NECESITA TRATAMIENTO

Caso 3. Seroconversión

- Mujer de 59 años
- Nació y vive en Francia
- Trabaja en área de investigación en hospital
- Sin antecedentes de TB ni síntomas clínicos
- Tiene un resultado positivo de TB spot (7 spots) en su evaluación annual de rutina.
- Sus pruebas anteriores de PPD habían sido negativas (su última prueba sigue siendo negativa) y su primer prueba de TB spot también había sido negativa
- Un año antes había tenido un resultado de IGRAS negativo de 4 spots

¿Diagnóstico?

¿Tratamiento?

Se muestra un caso de seroconversión; alguien que tenía un resultado negativo muestra un resultado positivo. Sin embargo, como el hombre del caso 2, muestra un positivo débil y el resultado de PPD es negativo, los resultados deben de ser interpretados con precaución. Pueden ocurrir variaciones no específicas con pruebas seriales y las respuestas positivas débiles pueden fluctuar en el tiempo.

NO SE INDICA TRATAMIENTO

NOTA: Para los clínicos la pregunta sigue siendo si ¿se debe de fijar el punto de corte dependiendo del riesgo de infección?

Caso 4. Resultado indeterminado en mujer con bajo riesgo

- Mujer de 65 años
- Nació y vive en México
- Sin antecedentes de TB ni síntomas clínicos ni radiológicos
- Se le hace una prueba de Quantiferon y su resultado es NO DETERMINADO

¿Diagnóstico?

¿Tratamiento?

Un resultado indeterminado puede significar que una persona se encuentra inmunosuprimida (en cuyo caso su sangre tendrá una respuesta baja al control positivo) o que pudieron haber errores durante el procedimiento de la prueba como un transporte inadecuado, mal manejo de la muestra en el laboratorio o un almacenamiento incorrecto.

REPETIR LA EVALUACIÓN, APLICAR PPD INTRADÉRMICO Y REVISIÓN DE INMUNOCOMPETENCIA



World Health
Organization

www.who.int/tb

TUBERCULOSIS

IGRA TB TESTS

Policy Statement 2011

**The use of TB Interferon-Gamma Release Assays
(IGRAs) in Low- and Middle-income Countries**

Testing for TB Infection and Disease

WHICH TEST AND WHEN?

- IGRAs and the TST are designed to detect **latent TB infection**. They are '*indirect tests*' - they do not detect the actual TB bacilli but instead an immune response that suggests past or present exposure to TB bacilli
- Microscopy, growth on culture, and molecular tests are designed to detect **active TB disease**. They are '*direct tests*' that show the presence of the actual TB bacilli or their DNA
- IGRA and the TST tests cannot distinguish between latent TB infection and active TB disease. They are therefore expected to have poor specificity for active TB in high-burden settings due to a high background prevalence of latent TB infection

IGRAs vs TUBERCULIN SKIN TEST

- IGRAs require a single patient visit, results are available in 24-48hrs, and prior BCG vaccination does not cause false-positive results
- IGRAs are expensive, require blood to be drawn, special laboratory infrastructure and supplies, and adequately trained staff
- TST requires two patient visits, results are available in 48-72hrs, and BCG vaccination may cause false-positive results in younger persons
- TST is not expensive, requires an injection into the skin, adequately trained staff, and no special laboratory infrastructure or supplies

CONCLUSION

- There is insufficient data and low quality evidence on the performance of IGRAs in low- and middle-income countries, typically those with a high TB and/or HIV burden
- IGRAs and the tuberculin skin test (TST) cannot accurately predict the risk of infected individuals developing active TB disease
- Neither IGRAs nor the TST should be used for the diagnosis of active TB disease
- IGRAs are more costly and technically complex to do than the TST. Given comparable performance but increased cost, replacing TST by IGRAs as a public health intervention in resource-constrained settings is not recommended

