



SALUD

SECRETARÍA DE SALUD

Lineamientos para el uso del equipo Xpert MTB –RIF (2014)

Laboratorio de Micobacterias
Departamento de Bacteriología. InDRE

*Dra. Claudia E. Bäcker
11 de Diciembre 2014*

Consideraciones de la prueba Xpert MTB / RIF

•La prueba Xpert MTB/RIF es un PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa) a tiempo real completamente automatizada en un cartucho que puede detectar *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) y resistencia a Rifampicina, en menos de 2 horas.

•En esta prueba el procesamiento, la amplificación y la detección están integrados en una unidad independiente cerrada que es el cartucho Xpert MTB/RIF.

•La preparación de la muestra es con un reactivo que licúa y mata al *M. tuberculosis* descartándose la preocupación sobre bioseguridad (nivel periférico).

•En caso de 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.



Consideraciones de la prueba Xpert MTB/RIF

• La prueba tiene una sensibilidad analítica para 5 copias de ADN purificado y 131 UFC/ml en el esputo. Esta sensibilidad hace posible su uso en muestras de esputo con baciloscopia (-). No tiene reacción cruzada con micobacterias no tuberculosas (MNTB).

• 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 *rpoB* 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 *rpoB* amplificado. Cuando una baliza se une a una secuencia coincidente emite luz fluorescente (se detecta cuando la señal fluorescente aumenta por encima de un ciclo del umbral de referencia predeterminado), lo que indica la presencia de la secuencia del gen que es característico de la tuberculosis sensible a Rifampicina.

Time to result, 1 hour 45 minutes

Figure 2. Assay Procedure for the MTB/RIF Test.

Two volumes of sample treatment reagent are added to each volume of sputum. The mixture is shaken, incubated at room temperature for 15 minutes, and shaken again. Next, a sample of 2 to 3 ml is transferred to the test cartridge, which is then loaded into the instrument. All subsequent steps occur automatically. The user is provided with a printable test result, such as "MTB detected; RIF resistance not detected." PCR denotes polymerase chain reaction.

Resultados Xpert MTB RIF

Los resultados posibles son los siguientes:

- **TB no detectada:** negativo para TB.
- **TB detectada, resistencia a Rifampicina no detectada:** positivo para tuberculosis, sin resistencia a Rifampicina.
- **TB detectada, resistencia a Rifampicina detectada:** positivo para tuberculosis, con resistencia a Rifampicina.
- **TB detectada, resistencia a Rifampicina indeterminada:** indeterminado. Examinar nueva muestra.
- **Invalidado/ Error / Sin resultado:** invalidado. Examinar nueva muestra.

Invalidado: no se puede determinar la presencia o ausencia de MTB. El control de procesamiento de muestra (Specimen Probe Control, SPC por sus siglas en inglés) no cumple los criterios de aceptación, la muestra no se ha procesado correctamente o se ha inhibido el PCR.

Error: uno o todos los resultados de comprobación de la sonda han fallado. Si la comprobación de la sonda es correcta, el error se debe al fallo en algún componente del sistema.

Indeterminado: no se puede determinar la resistencia a RIF debido a una detección insuficiente de la señal.

Recomendaciones para su uso

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 (baciloscopia, cultivo y pruebas de fármacosensibilidad) como prueba diagnóstica inicial en adultos con TB asociada a VIH o sospecha de tener TB-MFR (recomendación fuerte, evidencia de calidad alta).

En los siguientes Grupos de Riesgo:

Fracasos a retratamiento primario y crónicos.

Contacto de un caso de TB MFR.

Fracaso a tratamiento primario.

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

Recaídas y reingresos por abandono (pérdida de seguimiento).

Comorbilidad TB-VIH y TB-DM descompensada.

- La prueba Xpert MTB/ RIF **debe ser usada** en lugar de las pruebas convencionales (baciloscopia, cultivo y pruebas de fármacosensibilidad) como prueba diagnóstica inicial en niños con sospecha de tener TB-MFR o TB asociada a VIH (recomendación fuerte, numerosa evidencia de calidad baja).

Recomendaciones para su uso

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

- La prueba Xpert MTB/RIF **puede ser usada** en lugar de las pruebas convencionales (baciloscopia y cultivo) como prueba diagnóstica inicial en todos los adultos con sospecha de tener TB (recomendación condicional, reconociendo la implicación de recursos, evidencia de calidad alta).
- La prueba Xpert MTB/ RIF **puede ser usada** en lugar de las pruebas convencionales (baciloscopia y cultivo) como prueba diagnóstica inicial en todos los niños con sospecha de tener TB (recomendación condicional, reconociendo la implicación de recursos, numerosa evidencia de calidad baja).
- 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-MFR 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).

Estas recomendaciones aplican para muestras procesadas y sin procesar de esputo. También para muestras de jugo gástrico (lavado o aspirado); en este tipo de muestras la recomendación para adultos se basa en la información procedente de los niños.

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).

Recomendaciones para su uso

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).
- 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).

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 (cultivo en medio sólido y en medio líquido si está disponible)

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.

Recomendaciones para su uso

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

- *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).*
- *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.*

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.*

***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.

Procesamiento de muestras

- *Todas las muestras deben ser procesadas tan rápido como se pueda.*
- *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 están 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.*

Para aquellas muestras que requieran descontaminación se debe respetar estrictamente el tiempo de descontaminación y la concentración de los reactivos y procesarlas en un laboratorio de contención (Ejm: ganglio linfático, otro tejido-biopsia pleural, etc.) Es importante para este tipo de muestras no transferir grumos de tejido, deben estar correctamente homogenizados.

Registro de casos diagnosticados por Xpert MTB-RIF



Programa de tuberculosis

*Todos los casos de TB diagnosticados por Xpert MTB/RIF y encontrados como Rifampicina susceptible, independientemente del resultado del frotis, deben registrarse como **caso de TB bacteriológicamente confirmado**.*

Todos los casos de TB diagnosticados por Xpert MTB/RIF y encontrados como resistentes a Rifampicina deben ser registrados como resistentes a Rifampicina (designado como TB-RR) y también designado como Xpert MTB/RIF positivo con resistencia a Rifampicina. Si la resistencia a Isoniacida es detectada por las pruebas convencionales o pruebas moleculares el caso debe ser registrado como MFR. Si el resultado del Xpert MTB/RIF no está disponible y si hay un diagnóstico por pruebas convencionales debe quedar registrado usando la forma común.

Los pacientes que tienen TB-RR o TB-MFR deben iniciar el tratamiento estandarizado de manera oportuna.

Caso de TB bacteriológicamente confirmado, es aquél que tiene una muestra biológica positiva por baciloscopia, cultivo o prueba rápida aprobada por la OMS, como el Xpert MTB/RIF. **Todos estos casos deben ser notificados, independientemente si inician tratamiento o no.**

Caso de TB clínicamente diagnosticado es aquél que no cumple con los criterios para la confirmación bacteriológica, pero ha sido diagnosticado con TB activa por un médico u otro personal de salud, quien ha decidido dar al paciente un ciclo completo de tratamiento de TB. Esta definición incluye casos diagnosticados sobre la base de datos sugestivos en los rayos X o histología y casos extra pulmonares sin confirmación de laboratorio. Si estos casos clínicamente diagnosticados posteriormente resultan ser bacteriológicamente positivos (antes o después de comenzar el tratamiento) deben ser reclasificados como bacteriológicamente confirmados

Registro de casos diagnosticados por Xpert MTB-RIF

Laboratorio

En relación al laboratorio la solicitud de la prueba debe hacerse en el Formato de Solicitud de Prueba, solicitando la prueba de Xpert MTB/RIF especialmente con letra legible al pie del formato, hasta que se cuente con un nuevo formato donde esté incluida.

Para la emisión de resultados se debe usar la leyenda de la columna titulada Resultado y la nomenclatura de la columna Reporte del cuadro siguiente.

Resultado	Interpretación	Reporte
TB no detectada	Negativo	N
TB detectada, resistencia a Rifampicina no detectada	Positivo para tuberculosis, sin resistencia a Rifampicina	T
TB detectada, 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.	TI
Invalidado/ Sin resultado/ Error	Invalidado. Repetir la prueba en nueva muestra.	I

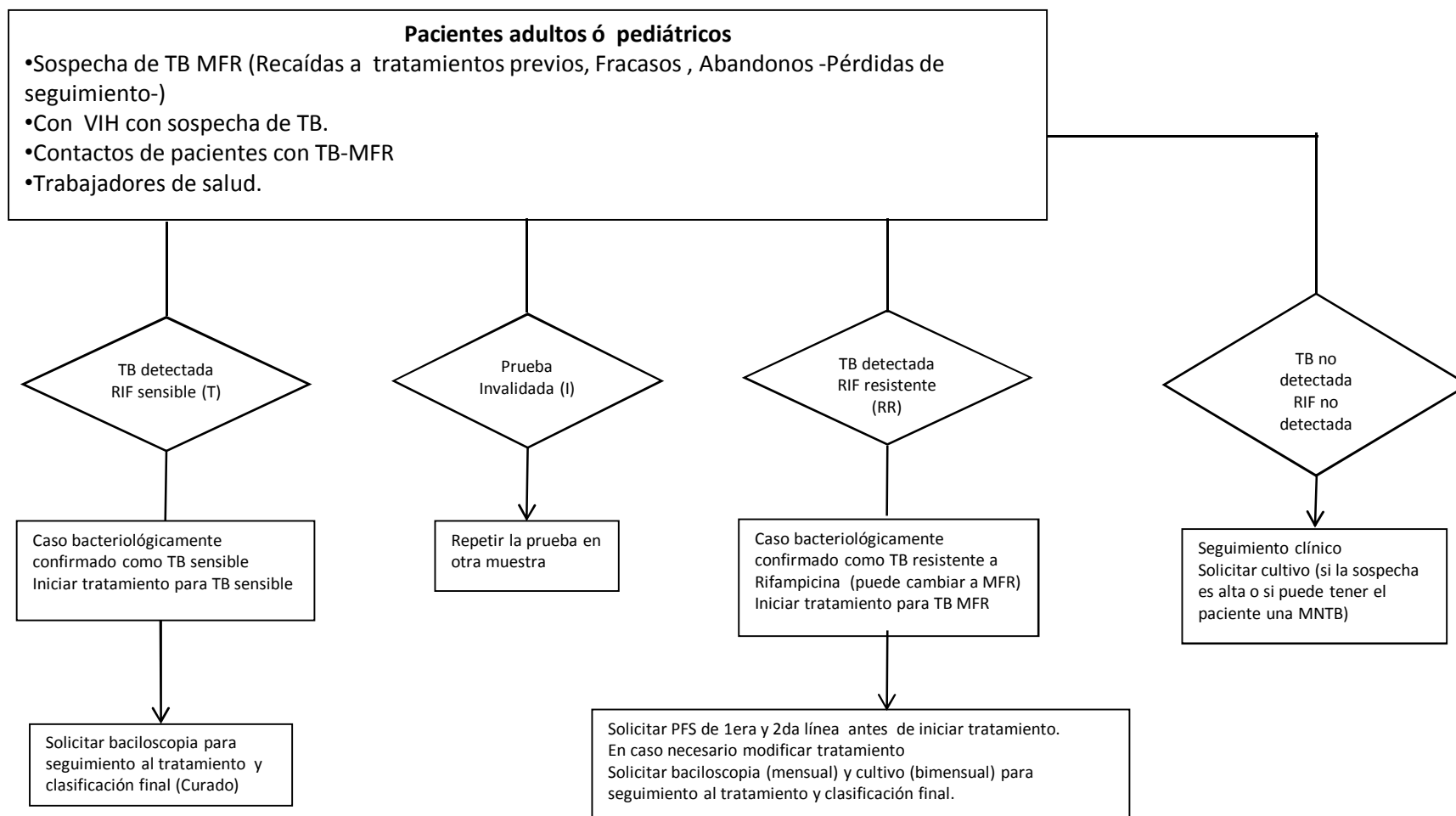
Requerimientos del equipo para su uso

Si bien el equipo puede colocarse en laboratorios con diferentes niveles de bioseguridad para su uso este equipo necesita:

- *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 equipo 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.*
- *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, que considere los trámites de aduana.*
- *Seguro contra robo.*

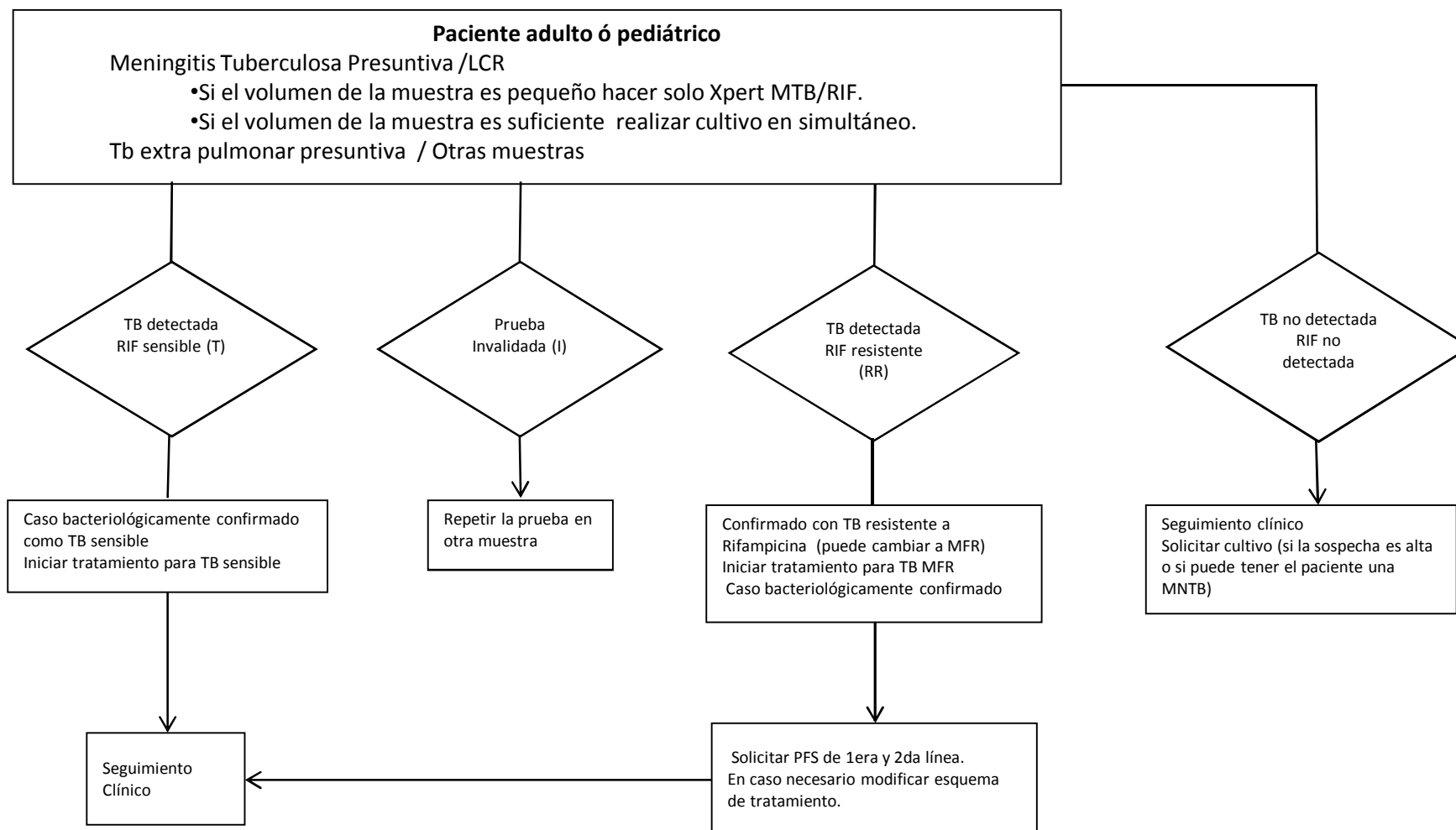
Algoritmo para el diagnostico de TB pulmonar

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



Algoritmo para el diagnostico de TB extra-pulmonar

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



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. World Health Organization. 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.*
- *Manual de bioseguridad en el Laboratorio de tuberculosis. OMS 2013.*
- *Definiciones y marcos de trabajo para la notificación de tuberculosis. OMS. Revisión 2013.*

Line Probe Assay (LIPAs)

Eur Respir J 2008; 32: 1165–1174
DOI: 10.1183/09031936.00061808
Copyright ©ERS Journals Ltd 2008

GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis

D.I. Ling*, A.A. Zwerling* and M. Pai*[#]

ABSTRACT: The global extensively drug-resistant tuberculosis (TB) response plan calls for implementation of rapid tests to screen patients at risk of drug-resistant TB. Currently, two line probe assays exist, the INNO-LiPA[®]Rif.TB assay (Innogenetics, Ghent, Belgium) and the GenoType[®] MTBDR assay (Hain LifeScience GmbH, Nehren, Germany). While LiPA studies have been reviewed, the accuracy of GenoType assays has not been systematically reviewed.

The present authors carried out a systematic review and used meta-analysis methods appropriate for diagnostic accuracy. After the literature searches, 14 comparisons for rifampicin and 15 comparisons for isoniazid were identified in 10 articles that used GenoType MTBDR assays. Accuracy results were summarised in forest plots and pooled using bivariate random-effects regression.

The pooled sensitivity (98.1%, 95% confidence interval (CI) 95.9–99.1) and specificity (98.7%, 95% CI 97.3–99.4) estimates for rifampicin resistance were very high and consistent across all subgroups, assay versions and specimen types. The accuracy for isoniazid was variable, with lower sensitivity (84.3%, 95% CI 76.6–89.8) and more inconsistent than specificity (99.5%, 95% CI 97.5–99.9).

GenoType MDTBR assays demonstrate excellent accuracy for rifampicin resistance, even when used on clinical specimens. While specificity is excellent for isoniazid, sensitivity estimates were modest and variable. Together with data from demonstration projects, the meta-analysis provides evidence for policy making and clinical practice.

KEYWORDS: Diagnostic accuracy, drug resistance, line probe assay, multidrug-resistant tuberculosis, sensitivity and specificity, tuberculosis

Droga	Sensibilidad	IC95%	Especificidad	IC95%
Rifampicina	98.10%	95.9 a 99.1%	98.70%	97.3 a 99.4%
Isoniacida	84.30%	78.6 a 89.8%	99.50%	97.5 a 99.9 %

AFFILIATIONS
*Dept of Epidemiology, Biostatistics and Occupational Health, McGill University, and
*Respiratory Epidemiology and Clinical Research Unit, Montreal Chest Institute, Montreal, QC, Canada.

CORRESPONDENCE
M. Pai
Dept of Epidemiology, Biostatistics and Occupational Health
McGill University
1020 Pine Avenue West
Montreal
QC H3A 1A2
Canada
Fax: 1 514 398 4503
E-mail: madhukar.pai@mcgill.ca

Received:
April 23 2008
Accepted after revision:
June 27 2008

SUPPORT STATEMENT
The present study was supported by funding from the World Health

El GenoType MDTBDR tiene una excelente exactitud para detectar resistencia en Rifampicina (aislamientos y muestras clínicas) . Mientras que la especificidad es excelente para Isoniacida, la sensibilidad encontrada fue variable y modesta.

