

Artículo Original

Tuberculosis latente diagnosticada mediante liberación in vitro del interferón gamma

Latent tuberculosis confirmed by in vitro release of interferon gamma

Carmen Mirian Portillo Delvalle¹, Gloria Celeste Samudio Domínguez²,
Pasionaria Rosa Ramos Ruíz Díaz¹, Eugenio Báez Maldonado³

¹Laboratorio Carmen Portillo. Asunción, Paraguay

²Instituto de Previsión Social. Hospital Central, Servicio de Infectología. Asunción, Paraguay

³Servicios Médicos Migone. Asunción, Paraguay

RESUMEN

Introducción: la tuberculosis, enfermedad transmisible causada por organismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, es adquirida por gotitas de pacientes bacilíferos pero la infección latente (LTBI) se desarrolla tardíamente. Se diagnostica actualmente por detección in vitro de liberación de interferón gamma (IGRA) Quantiferon TB Gold® In tube en sangre, identificándolas en enfermedades reumatológicas, inmunocomprometidos, régimen de trasplante de órgano sólido, contactos familiares, personal de salud con pacientes bacilíferos.

Objetivo: determinar la utilidad del IGRA para diagnosticar presencia de tuberculosis latente en pacientes con factores de riesgo o exposición.

Materiales y Métodos: estudio retrospectivo de corte transversal realizado del 2014 a 2017. Fueron incluidos al estudio muestras de sangre a pacientes con sospecha de tuberculosis latente. Se utilizó el Quantiferon TB Gold® In Tube, acorde al fabricante: método de ELISA, interpretación con software QFT v2.62 y resultados: positivo, negativo e indeterminado.

Resultados: se revisaron 261 resultados de IGRA en muestras de sangre de pacientes de 3 a 86 años con una mediana de 49 años. Fueron 126 hombres y

105 mujeres. Provenían de la Seguridad Social 56 casos, Ministerio de Salud 35 y Servicios Públicos 176. Resultaron positivas 38 muestras (15%) y 10 indeterminados (4%). Los casos positivos fueron 18% mujeres, 37% del rango 81 a 90 años, provenían 16% de servicios privados, 24% tenían cuadro pulmonar, 20% tenían enfermedad autoinmune y contacto con bacilíferos, 15% cuadros mieloproliferativos, 6% eran trasplantados.

Conclusiones: se confirmaron 38 (15%) LTBI en el país con el IGRA, mayoría adultos de 81 a 90 años y mujeres, 24% cuadros pulmonares, 20% contactos y autoinmunes. El 16% de servicios privados, que sugiere mayor vigilancia en esta población.

Palabras clave: tuberculosis latente, interferón gamma, Paraguay

ABSTRACT

Introduction: tuberculosis, a communicable disease caused by organisms of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, is acquired by droplets from smear-positive patients, but latent infection (LTBI) develops late. It is currently diagnosed by in vitro detection of interferon gamma (IGRA) release Quantiferon TB Gold® In tube in blood, identifying them in rheumatological diseases, immunocompromised, solid organ transplant regimen, family contacts, health personnel with baciliferous patients.

Objective: to confirm the presence of latent tuberculosis in patients with risk factors or exposure.

Materials and Methods: Retrospective cross-sectional study conducted from 2014 to 2017. IGRA requests made on blood samples were reviewed for patients with suspected latent tuberculosis. Quantiferon TB Gold® In Tube was used, according to the manufacturer: ELISA method, interpretation with QFT software v2.62 and results: positive, negative and indeterminate.

Results: 261 IGRA results were reviewed in blood samples from patients aged 3 to 86 years patients aged 3 to 86 years, median of 49 years, 126 men and 105 women were analyzed. Social Security (IPS) 56, Ministry of Health (MSP)

35 and Public Services 176. They were 38 positive (15%), Inderterminados (4%); 18% women; 37% from 81 to 90 years, 16% private services, 24% pulmonary disease, autoimmune disease and contact with bacilliferous 20%; myeloproliferative 15%, transplant 6% and no data 11%.

Conclusions: 38 (15%) LTBI were confirmed in the country with the IGRA, most adults aged 81 to 90 years and women, 24% pulmonary conditions, 20% contacts and autoimmune. 16% of private services, Greater vigilance is suggested in this population.

Key words: latent tuberculosis, interferon gamma, Paraguay

Autor correspondiente

Dra. Carmen Mirian Portillo Delvalle, Laboratorio Carmen Portillo. Asunción, Paraguay

Correo electrónico: portillolab@gmail.com

Artículo recibido: 14 agosto 2018

Artículo aceptado: 12 diciembre 2018

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad trasmisible de distribución mundial, con elevada morbimortalidad constituyendo una de las 10 principales causas de muerte. Más del 95% de las muertes se producen en países con ingresos bajos y medianos como en India, Indonesia, China, Filipinas, el Pakistán, Nigeria y Sudáfrica, con el 64% de la mortalidad total. Se considera que un tercio de la población mundial está infectada con nuevos casos preferentemente en niños y adolescentes⁽¹⁾. La Organización Mundial de la Salud, en el 2016 reportó 10,4 millones de personas enfermas de tuberculosis, un millón en niños y de los 1,7 millones de muertes, 250.000 fueron niños y 40% en personas VIH-positivas. La tuberculosis multirresistente constituye una crisis de salud pública porque

amenaza la seguridad sanitaria con 600.000 nuevos casos de resistencia a la rifampicina, que es la medicación de elección.

Esta enfermedad transmisible causada por organismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis* es adquirida por gotitas de pacientes con infección activa que constituyen solo 10%. En el 90 a 95% de los casos persiste la infección latente (LTBI), que es asintomática no transmisible pero puede desarrollar tuberculosis en meses o años en el 10% de la población general y en 15-43% de los niños⁽²⁾. En éstos es una causa importante de morbilidad y mortalidad, así como en pacientes inmunosuprimidos. LTBI es el síndrome clínico causado por la exposición al *M. tuberculosis* seguida de infección, evidenciada por la presencia de prueba cutánea positiva de tuberculina (PPD) en ausencia de signos y síntomas clínicos y radiológicos de la enfermedad activa ^(3,4). El diagnóstico de la LTBI requiere por ende los datos epidemiológicos, la historia personal o familiar, el examen físico y los estudios de laboratorio, ya que se estima que una cuarta parte de la población mundial tiene tuberculosis latente. La prueba de la tuberculina ha sido utilizada durante mucho tiempo como apoyo en el diagnóstico de tuberculosis latente o activa, pero su limitada sensibilidad dirigió las investigaciones hacia métodos más sensibles, planteándose el diagnóstico de tuberculosis latente mediante la detección in vitro de liberación de interferón gamma (IGRA) o Quantiferon TB Gold® In tube en sangre, con 70 a 80% de sensibilidad y 79 a 96% de especificidad⁽³⁾. Esta prueba mide producción de IFN γ producido por linfocitos T, en contacto con antígenos peptídicos que simulan ser proteínas bacterianas: ESAT-6, CFP10, TB7.7. Estos antígenos están ausentes en la BCG y micobacterias no tuberculosas, por lo que en pruebas positivas se debe considerar el *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum*, a fin de diferenciar entre infección por *M. tuberculosis* con PPD positivo por inmunización o por las otras micobacterias⁽⁵⁾. Diagnosticar la LTBI permite instaurar el tratamiento preventivo para tuberculosis además sirve como complemento en enfermedades reumatológicas, inmunocomprometidos, en regímenes de trasplante de órgano sólido, contactos familiares y personal de salud con pacientes bacilíferos.

En el Paraguay, el Programa Nacional de Tuberculosis notificó en el 2015 un total de 2.069 casos nuevos de infección activa y 389 retratados, en población general, con una incidencia de 30.5/100.000 hab. De entre ellos, 253 (10,3%) fueron casos de tuberculosis todas las formas en niños/as, 357 (14,5%) en población indígena, 280 (11,4%) en personas privadas de libertad y 181 (7,4%) fueron por co-infección tuberculosis/VIH, similar a lo observado en varios países de la región aunque sin datos de la proporción de la infección latente^(6,7). En los Departamentos Central, Alto Paraná y Asunción se concentra el 60% de la carga de enfermedad del país por lo que se intensifica la detección de casos así como en Presidente Hayes en comunidades indígenas⁽⁸⁾.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia de tuberculosis latente y la utilización del IGRA en pacientes con factores de riesgo o exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: estudio retrospectivo de corte transversal realizado del 2014 al 2017.

Población: pacientes con sospecha de tuberculosis latente, de cualquier edad o sexo, incluidos en forma consecutiva. Las muestras sanguíneas y fichas epidemiológicas provinieron de hospitales de referencia del área urbana.

Metodología: luego del llenado de datos clínicos y demográficos en los centros de referencia, las muestras de sangre de los mismos se remitieron a un laboratorio especializado en la técnica laboratorial. Para la determinación del IGRA se tomaron muestras de sangre con heparina de litio a los pacientes. El estudio se realizó mediante el reactivo comercial, Quantiferon TB Gold® In Tube (Cellestis, Australia), de acuerdo las instrucciones del fabricante: con 3 tubos heparinizados especiales conteniendo el mitógeno o control positivo, antígenos peptídicos de tuberculosis (ESAT-6, CFP-10, TB 7,7) y un control negativo o NIL. Estos tubos con la sangre heparinizada se agitaron e inmediatamente incubaron por 24 horas a 37 °C, posteriormente previa centrifugación se recolectó el plasma y conservó a -20 °C hasta su procesamiento. La determinación de la concentración del Interferón gamma se realizó por el método de ELISA, la lectura

e interpretación de las absorbancias obtenidas por medio del software QFT v2.62. Los resultados se informaron como positivos, negativos e indeterminados y expresados en UI/mL.

Para el análisis de estos datos se utilizó la estadística descriptiva. Para la interpretación de las variables, se transcribieron a una planilla electrónica en el formato Microsoft Excel 2010, analizados mediante el programa estadístico Epi Info.7[®], se expresaron en tablas a manera de frecuencias absolutas y relativas.

Consideraciones éticas: se tuvieron en cuenta las consideraciones éticas dispuestas para los estudios a partir de muestras clínicas que se analizan con fines diagnósticos, donde se respetó la confidencialidad de los datos de los pacientes. Además, se respetaron los principios de beneficencia y justicia, puesto que no se realizó ninguna intervención y tampoco implicó ningún riesgo para los pacientes.

RESULTADOS

Se analizaron los resultados del IGRA de 261 muestras de sangre de pacientes de entre 3 a 86 años, con una media de 47 años, mediana 49 años y moda 54 años. Los hombres fueron 126 y las mujeres 105. La mayoría eran procedentes de los servicios privados y tenían antecedentes de enfermedad pulmonar.

De este total de 261 muestras resultaron positivas para tuberculosis latente 38 (15%) y 10(4%) fueron indeterminados. Al excluir los registros sin datos sobre condiciones de la indicación, quedaron 147 con datos válidos, 37,4% (55) con antecedentes clínicos o sospecha de enfermedad tuberculosa como presencia de fiebre y/o tos, o un nódulo o linfadenopatía. Hubo predominio de varones y sujetos del rango etario de 51-60 años (Tabla 1).

Tabla 1. Características generales de la muestra sometida a detección in vitro de liberación de interferón gamma para *M. tuberculosis*

Edad	Menores a 10	13 (4,9%)
	10 a 20	15 (5,7%)
	21 a 30	33 (12,6%)
	31 a 40	32 (12,2%)
	41 a 50	34 (13%)
	51 a 60	47 (18%)
	61 a 70	30 (11,4%)
	71 a 80	30 (11,4%)
	81 a 90	8 (3%)
	Sin datos	19 (7,3%)
	Sexo	Femenino
Masculino		126 (48,3%)
Sin datos		30 (11,4%)
Procedencia	Instituto Previsión Social	56 (21,5%)
	Salud Pública	35 (13,4%)
	Servicios privados	170 (65%)
Cuadro clínico	Pulmonar	75 (28,7%)
	Trasplante	32 (12,3%)
	Mieloproliferativo	20 (7,6%)
	Autoinmune	15 (5,7%)
	HIV	11 (4,2%)
	Contacto con tuberculosis	5 (1,9%)
	Inmunosupresión	4 (1,5%)
	Infeccioso	3 (1,1%)
	Sin datos	96 (36,7%)

De las 38 muestras positivas por el IGRA, el 18% (19/105) correspondió a mujeres y el 11% (14/126) a hombres. En cuanto al grupo etario con más casos positivos fue el de 81 a 90 años (37%) (Gráfico 1).

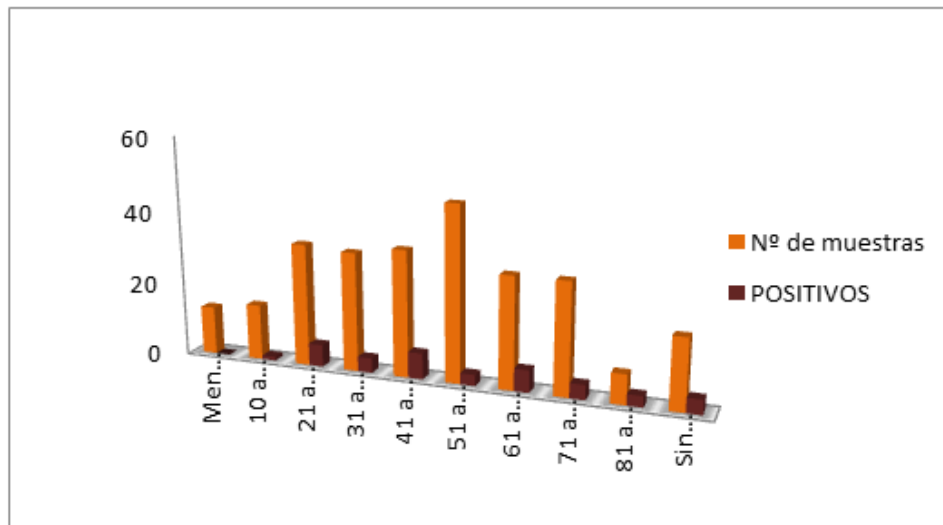


Gráfico 1. Distribución etaria de tuberculosis latente obtenida por detección in vitro de liberación de interferón gamma (n 261)

La procedencia mostró que el 16% fue de Servicios privados, 14% de Instituto Previsión Social y 9% del Ministerio de salud (Gráfico 2).

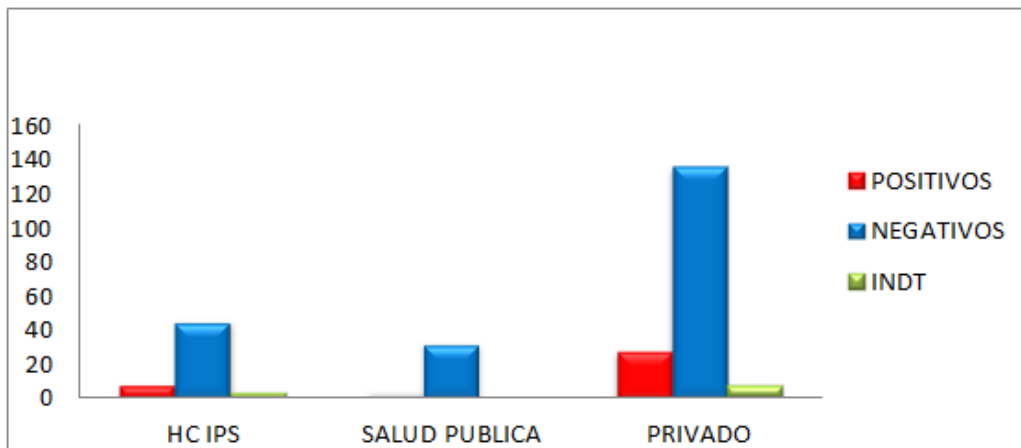


Gráfico 2. Procedencia de pacientes con tuberculosis latente. Paraguay 2014 - 2017 (n 261)

En cuanto a las presentaciones más frecuentes, el cuadro pulmonar fue el principal con 24%, seguida presencia de enfermedades autoinmunes en 20% así como en contacto con pacientes bacilíferos (Tabla 2).

Tabla 2. Presentación clínica de pacientes con tuberculosis latente (n 147)

Afectación clínica	Total (n 147)	Positivo (n 27)	Indeterminado (n 8)
Pulmonar	68	18 (26%)	4 (6%)
Mieloproliferativo	13	3 (23%)	0
HIV	11	0	1 (9%)
Trasplante	32	2 (6%)	1 (3%)
Autoinmune	15	3 (20%)	1 (7%)
Infeccioso	2	0	1 (50%)
Inmunosupresión	1	0	0
Contacto con tuberculosis	5	1 (20%)	0

DISCUSIÓN

Se confirmaron los primeros 38 casos (15%) de LTBI en el país mediante el IGRA, que en su mayoría fueron adultos de 81 a 90 años y en 18% de mujeres. El 37,4% de estos casos fueron compatibles con infección activa por *M. tuberculosis* en base a los antecedentes clínicos recopilados, ya que ante un resultado del IGRA positivo o negativo (Quantiferon®TB) debe combinarse con la epidemiología, clínica y otros datos a fin de confirmar o excluir la enfermedad tuberculosa⁽¹²⁾. Así, 26% presentó un cuadro pulmonar y 20% contacto con pacientes bacilíferos, por lo que podemos considerar que hubo sobre-indicación del IGRA, ya que, con la baciloscopía, el cultivo o biología molecular se podría haber logrado la confirmación necesaria.

El porcentaje de tuberculosis latente fue aumentado con las edades, de un 20% entre personas de 61 a 70 años y 37% entre 81 a 90 años, similar a la casuística de Chile en personal de salud con un 83% entre 60 a 69 años⁽⁶⁾.

El IGRA que confirma el diagnóstico de infección latente, tiene una sensibilidad de 84% y 93% de especificidad con respecto a la PPD en inmunocompetentes y en niños >5 años^(3,12), lo que explicaría ningún caso positivo en nuestro reducido

número de niños. Además, detectó un 23% en pacientes con procesos mieloproliferativos.

Esta casuística que mostró 20% de LTBI en personas con contacto familiar con pacientes bacilíferos, fue superior al 8,35% de Alemania en trabajadores de la Salud, donde el mayor número de casos fue entre el personal de Enfermería, Medicina Interna, Radiología y Laboratorio de Microbiología y Patología^(11,17,18).

En Chile de los 26,3% casos de LTBI en trabajadores de la salud, la mayoría fue en personal del Programa de tuberculosis, 40% de los encargados de la baciloscopia y los cultivos, 42% en enfermeros que ayudan en el esputo inducido⁽⁶⁾.

En nuestro estudio ninguno de los 11 pacientes portadores de HIV resultó con LTBI, probablemente por los recuentos menores a 200 de CD4, diferente al observado en 6% de Brasil^(13,14,15) pero menor al 52% de Irán en personas en situación de calle⁽¹⁹⁾, con mejores resultados que con la prueba cutánea a tuberculina.

En los trasplantados del estudio, el IGRA resulto positivo en 6% mucho menor al 32,5% entre los trasplantados de riñón en China, donde solamente uno desarrolló la enfermedad, aunque su porcentaje global de LTBI fue del 46%^(9,17). El 16% detectado en pacientes provenientes de los servicios privados sugieren mayor vigilancia en esta población a fin de cortar la transmisión, mediante el tratamiento e identificación la fuente de contagio, porque es imposible correlacionar la concentración del IFN γ con el grado de infección y progresión a enfermedad activa^(11,16). En Polonia, el mejor factor predictivo de progresión a tuberculosis activa en el 36,7% de personas sin hogar y 27,2% de contacto cercano fue la detección simultánea de un IGRA positiva junto con una prueba cutánea a la tuberculina positiva⁽¹⁰⁾.

Entre las limitaciones del IGRA en otras casuísticas se han mencionado resultados falsos negativos en casos de anergia en los estados avanzados, desnutrición, recuento bajo de los linfocitos CD4 o en el laboratorio por demoras en los procesos, temperatura, volúmenes inadecuados o un periodo corto entre exposición al bacilo y la realización de la prueba. En cambio, los falsos positivos

se observaron por el efecto *booster* de los antígenos ESAT-6 y CFP-10. En nuestra casuística fue la detección de 8 (5%) de resultados indeterminados^(2,19) que se hubieran definido con una segunda determinación, para confirmar conversión o variación del resultado obtenido. Este dato podría relacionarse a lo observado en Perú donde se sugiere una activación inmune en curso en LTBI, aumentando también la posibilidad de detección⁽²¹⁾.

Los IGRAs se relacionan mejor que PPD con el grado de exposición al bacilo, por lo que serían más indicativos de existencia de TB latente que la prueba cutánea, sin embargo no son marcadores del pronóstico de la enfermedad.

CONCLUSIÓN

Con esta metodología (IGRA) se pudo detectar casos de tuberculosis latente, en los principales grupos de riesgo pero en un solo caso se observó discordancia entre el IGRA y la PPD, en su mayoría hubo correlación⁽²⁰⁾ por lo que convendría seguir ampliando este estudio, a fin de definir su aplicación y limitación, porque con el tratamiento oportuno de los casos detectados se podría disminuir la elevada prevalencia de tuberculosis en nuestro país.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

Al Dr. Víctor M. Cárdenas de UAMS Fay W. Boozman College of Public Health, Arkansas. USA., por su desinteresado apoyo con el análisis e interpretación clínica de la base de datos y a la Dra. Romina Samudio Rojas con el registro y los gráficos.

REFERENCIAS

1. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, et al. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium

tuberculosis infection - United States, IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention 2010. MMWR Recomm Rep. 2010;59(RR-5):1-25.

2-Tagmouti S, Slater M, Benedetti A, Kik SV, Banaei N, Cattamanchi A, et al. Reproducibility of Interferon Gamma (IFN- γ) release assays: a systematic review. Ann Am Thorac Soc. 2014;11(8):1267-76

3- Sester M, Sotgiu G, Lange C, Giehl C, Girardi E, Migliori GB, et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J 2012;32(1):100-11

4- Santin M, García-García JM, Rigau D, Altet N, Anibarro L, Casas I, et al. Executive summary of the guidelines for the use of interferon γ release assay in the diagnosis of tuberculosis infection. Enf.Infect. Microb.Clin. 2016;34(5): 304-8

5- QuantiFERON®-TB Gold In-Tube package insert Cellestis: . 2011. 1-29 p.

Disponible en:

https://impactnetwork.org/DocFiles/.../QuantiFERON_TB_Gold.pdf

6-Hernández M, Casar C, García P, Morales V, Mamani N, Gómez-Cofré N, et als. Latent tuberculosis infection screening in healthcare workers in four large hospitals in Santiago, Chile. Rev Chilena de infectol. 2014;31(3):254-60

7-Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Incidencia por tuberculosis en Paraguay, con tendencia decreciente. 2016. Asunción: MSPyBS. Disponible en: <https://www.mspbs.gov.py/portal/8212/incidencia-por-tuberculosis-en-paraguay-con-tendencia-decreciente.html>

8- Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Programa Nacional de tuberculosis. Datos estadísticos sobre tuberculosis en Paraguay. 2016. Asunción: MSPyBS. Disponible en: <https://www.mspbs.gov.py/portal/8205/brindaran-datos-estadisticos-sobre-tuberculosis-en-paraguay.html>

9- Jeong JC, Koo TY, Jeon HJ, Park HC, Ryu HJ, Lee JP, et al. Utility of QuantiFERON-TB assay for prediction of tuberculosis development in kidney transplant patients in an intermediate-tuberculosis-burden country: lack of

evidence for enhanced prediction for short-term tuberculosis development. *Transpl. Proc.* 2014;46(2): 583-587

10- Kruczak K, Duplaga M, Sanak M, Cmiel A, Mastalerz L, Sladek K, et al. Comparison of IGRA tests and TST in the diagnosis of latent tuberculosis infection and predicting tuberculosis in risk groups in Krakow, Poland. *Scand J of Inf Dis.* 2014;48(9):649-55

11- Schablon A, Nienhaus A, Ringshausen F, Preisser A, Peters C. Occupational Screening for Tuberculosis and the Use of a Borderline Zone for Interpretation of the IGRA in German Healthcare Workers. *PloS ONE.* 2014;9(12):1-16

12-Vallada M, Okay T, Del Negro G, Amaral A, Yamamoto L, Ramos S. Accuracy of the Quantiferon TB Gold in tube for diagnosing tuberculosis in a Young population previously vaccinated with Bacille Calmette-Guerin. *Rev Paul Pediatr* 2014;32(1):4-14

13- Oliveira Souza J, Nantua M, Trajman A. Added value of QuantiFERON TB-Gold in tube for Detecting Latent Tuberculosis Infection among Persons living with HIV/AIDS. *BioMed Res Int.* 2014;2014:294963

14- Kussena GM, Dalla-Costa LM, Rossoni A, Raboni SM. Interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for latent tuberculosis infection among HIV patients in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2016;20(1):69-5

15- Diaz A, Diez M, Bleda MJ, Aldamiz M, Camafort M, Camino X, et al. Eligibility for and outcome of treatment of latent tuberculosis infection in cohort of HIV-infected people in Spain. *BMC Infect Dis.* 2010;10:2672-8

16- Oliveira CDL, Melo AC, Oliveira LRS, Froede EM, Camargos P. Control measures to trace ≤15-years old contacts of index of active pulmonary tuberculosis. *J Bras Pneumol.* 2015;41(6):449-53

17-He G, Li Y, Zhao F, Wang L, Cheng S, Guo H, Klena JD, et al. The Prevalence and Incidence of Latent Tuberculosis Infection and its Associated Factors among Village Doctors in China. *PloS ONE* 2015;10(5): 1-14

18-Schablon A, Peters C, Diel R, Diner G, Anske U, Pankow W, et al. Serial IGRA testing of trainees in the healthcare sector in a country with low incidence for

tuberculosis - a prospective cohort study. *GMB Hygiene and Infection Control* 2013;8(2):1-8

19- Amiri FB, Saifi M, Gouya MM, Rohani M, Mostafavi E. Comparison of an interferon-gamma release assay and the tuberculin skin test for diagnosis of latent tuberculosis in homeless people in Iran: a cross-sectional study. *J Inf Dis.* 2015;47(8): 536-41

20- Takashi Y, Nobuyuki H, Kazue H, Masami S, Seiya K. Use of the QuantiFERON®-TB Gold in Tube test for screening TB contacts and predictive value for active TB. *J Inf Dis* 2015;47(8):542-49

21-Huaman MA, Henson D, Rondan PL, Ticona E, Miranda G, Kryscio RJ, et al. Latent tuberculosis infection is associated with increased unstimulated levels of interferon-gamma in Lima, Peru. *PLoS One.* 2018;13(9):1-9