

Diagnóstico

2



Evaluación de riesgo	18
Factores de riesgo	19
Preguntas que debe hacer a su paciente	20
Exámenes para detectar la infección por TB.	22
Diagnóstico de laboratorio	22
Tiempos de retorno	23
Resultados falso positivos.	24
Pruebas de susceptibilidad	25
Interpretaciones.	25
Métodos.	26
Discrepancia en los resultados.	28
Uso de tipificación de cepas	29
Programas de genotipificación de los CDC	29
Referencias.	32

El primer paso en el diagnóstico de la TB fármacorresistente es reconocer que el paciente está en una situación de riesgo por lo cual es necesario agilizar las pruebas de laboratorio.

El diagnóstico de la tuberculosis (TB) requiere con frecuencia un alto nivel de sospecha, especialmente en áreas de baja prevalencia. Al existir sospecha de TB, deben recolectarse muestras de esputo y otros especímenes para baciloscopía (detección de BAAR), cultivo y pruebas de susceptibilidad. La posibilidad de fármacorresistencia debe sospecharse al mismo tiempo que se recolecta la muestra y se selecciona el tratamiento inicial. La evaluación incorrecta de la posibilidad de la existencia de TB fármacorresistente y la larga espera, semanas o meses, por los resultados de las pruebas de fármacosusceptibilidad, puede conllevar a la innecesaria administración de esquemas de tratamiento inapropiados.

Evaluación de riesgo para la fármacorresistencia

La pronta identificación de fármacorresistencia en pacientes con TB es primordial para:

- Tratar al paciente con el esquema de tratamiento empírico más apropiado
- Minimizar la transmisión
- Minimizar los potenciales efectos secundarios de los medicamentos
- Proporcionar la mejor opción de cura
- Prevenir futuras fármacorresistencias
- Ofrecer cuidado apropiado a los contactos.

El primer paso en la pronta detección de la fármacorresistencia es predecir quién está en riesgo de contraerla antes de recibir los resultados de las pruebas de susceptibilidad.

Las razones principales para predecir la presencia de TB fármacorresistente son:

- Un **tratamiento previo** contra la TB
- Hallazgos clínicos y radiográficos **progresivos** durante el tratamiento antituberculoso
- Ser **originario, haber vivido o viajado** frecuentemente a regiones/países con altos índices de fármacorresistencia
- **Estar expuesto a una persona infectada con TB fármacorresistente**, incluyendo lugares donde ha ocurrido este tipo de evento. Ej.: Instituciones correccionales, refugios u otros lugares comunitarios.

Factores de riesgo con antecedentes de TB

La sospecha de TB fármacorresistente debe ser alta si el paciente tiene uno o más de los siguientes síntomas en el tratamiento actual o tratamientos previos:

- **Una gran carga bacilar** con enfermedad extensa (bilateral o cavitaria)
- **Falta de conversión** de cultivos a negativos durante la terapia
- Los síntomas de la TB **no mejoran ni siquiera parcialmente**
- **Empeoramiento de los síntomas de TB o de los hallazgos radiográficos**
- **Falta de adherencia** al tratamiento o ingesta intermitente o errática del esquema de tratamiento antituberculosos prescrito
- **Una terapia que no fue directamente observada** (sin DOT) o que fue supervisada de manera insuficiente
- **Antecedentes de un esquema de tratamiento inapropiado**, considerando:
 - Administración de terapia con un solo medicamento
 - Muy pocos medicamentos efectivos
 - Dosis inadecuadas de medicamentos.

Factores de riesgo sin antecedentes de TB

La sospecha clínica de fármacorresistencia se da cuando un paciente con síntomas y signos de TB tiene uno o más de los siguientes antecedentes:

- **Exposición** a una persona que ya fue diagnosticada con TB fármacorresistente
- **Reside o viaja a regiones** con altos índices de TB fármacorresistente
- Reside o trabaja en una **institución** o lugar en el cual se ha diagnosticado TB fármacorresistente

- **Problema pulmonar de tratamiento prolongado con múltiples medicamentos o un agente inyectable por varias semanas en un país extranjero** (el paciente puede no haberse dado cuenta de que recibió tratamiento para la TB)
- Tratamiento con **fluoroquinolona** por algún problema pulmonar
- Tratamiento previo para infección latente de TB (LTBI) cuando no se detectaban signos de TB activa.

Preguntas que debe hacer a su paciente

Cuando se recolecta información acerca de la historia de tratamientos previos contra la TB, se requiere mucha paciencia y atención a los detalles. Para obtener esta información es necesario establecer un ambiente confortable y de confidencialidad. Procure tener el tiempo suficiente y utilizar un intérprete médico preciso e imparcial (en el caso que sea necesario); además de estar dispuesto a repetir o a parafrasear las preguntas con el fin de obtener la información. Proporcione al paciente la motivación suficiente para que revele el contenido preciso, utilizando preguntas y respuestas, y evitando emitir juicio alguno en ellas. Pregunte al paciente si ella/él poseen CUALQUIER información por escrito respecto de su tratamiento, alguna radiografía antigua, etc.

- **¿Le habían dicho alguna vez que usted tenía TB?**
- **¿Ha sido tratado contra la TB?**
- **¿Ha recibido inyecciones como tratamiento por problemas pulmonares?**
- **¿Ha comprado o usado jarabes para la tos en un país extranjero?**

Si su paciente responde “**sí**” a cualquiera de las preguntas que indican que él o ella pueden haber sido tratados previamente por TB:

- ¿Dónde fue tratado?
- ¿Qué medicamentos recibió?
- ¿Cuántos medicamentos distintos le dieron? ¿Cuántas pastillas al día? ¿De qué tamaño y color eran las pastillas/cápsulas?
- ¿Recibió inyecciones?
- ¿Por cuánto tiempo estuvo usted en tratamiento?
- ¿Cuándo empezó?
- ¿Cuándo terminó? ¿Por qué paró (completó el tratamiento, reacción adversa)?
- Es difícil recordar tomar medicamentos todos los días, ¿Tomó usted medicamentos diariamente? ¿Todas las pastillas?
- La medicina para la TB es costosa. ¿Alguna vez se quedó sin medicamentos?
- ¿Dejó de tomar sus medicamentos alguna vez? ¿Con qué frecuencia?
- ¿Algún trabajador de salud le observaba al tomarse la medicina?
- ¿Su orina se volvió color naranja?
- ¿Se sintió mejor?

- ¿Alguna vez analizaron su esputo/flema? ¿Cuál fue el resultado?
- Si el resultado fue positivo, ¿Su esputo/flema se convirtió en negativo en análisis posteriores?
- ¿Alguna vez el doctor le advirtió que usted debía ser tratado por más tiempo, que usted tuvo una recaída de TB o que usted presentaba resistencia a los medicamentos?
- ¿Regresaron los síntomas de TB una vez terminado su tratamiento?

Si el paciente fue previamente tratado por TB en los Estados Unidos o México, los registros detallando su historia médica deben obtenerse en la jurisdicción local o en Cure TB (ver Apéndice 2, “*Directorio de Organizaciones Trabajando para el Control y Prevención de la TB en la Arena Internacional*”). Si el paciente fue tratado en Europa del Oeste, o por un profesional privado en un país desarrollado; los registros médicos deben estar disponibles y por ende solicitarse. El Apéndice 3, “*Recursos Internacionales para el Tratamiento y Políticas de la TB*”, proporciona una lista de sitios en internet que pueden ser de gran ayuda en la identificación de las políticas sobre la TB en países específicos.

Si su paciente responde “no” a las preguntas que indican que el paciente ha recibido tratamiento previo para la TB:

- ¿Ha estado usted expuesto o ha tenido contacto con alguien que tenga TB?
- Si la respuesta a la anterior pregunta es SI, ¿Cuándo ocurrió?
- ¿Cuál es el nombre completo y fecha de nacimiento del paciente? ¿Dónde y cuándo fue tratado? ¿Por cuánto tiempo? ¿Se curó?
- ¿Le hicieron una prueba cutánea para la TB? ¿Sabe los resultados?
- ¿Le tomaron una radiografía de pecho? ¿Sabe los resultados?
- ¿Recibió medicamentos para prevenir la TB? Si ese fue el caso, ¿Qué medicamentos y por cuánto tiempo? ¿Fue usted a una clínica por los medicamentos en donde un profesional de la salud le vio tomar las pastillas o un profesional de la salud le visitó a usted y le dio a tomar las medicinas?
- ¿Tuvo usted tos, fiebre, pérdida de peso u otros síntomas?
- Si la respuesta a la pregunta anterior es SI, ¿Cuándo empezaron esos síntomas?
- ¿Alguna vez ha dado muestras de esputo para ser analizados para la TB?

En la medida que sea posible, trate de obtener los registros relacionados con el tratamiento de un presunto caso fuente.

Tuberculosis MDR se refiere a un aislado que es resistente al menos a la isoniacida y a la rifampicina. Tuberculosis XDR se refiere a una tuberculosis MDR donde el aislado es resistente a una fluoroquinolona y al menos a uno de los siguientes medicamentos inyectables: Amikacina, kanamicina y capreomicina.

Exámenes para detectar la infección por TB

La sospecha o la evaluación de TB comienza en algunas ocasiones con el uso de la prueba cutánea de la tuberculina, o con un ensayo de liberación de interferón gamma (IGRA) como el QuantiFERON®-TB Gold (QFT-G) o T-SPOT.TB. Ni el IGRAs ni la prueba cutánea tienen la sensibilidad del 100 %, ni la precisión para el diagnóstico de la infección de TB; y su capacidad para diagnosticar la enfermedad por TB puede ser aun menor. La literatura sugiere que los resultados positivos de la prueba cutánea y el QFT-G entre los casos nuevos de TB con cultivo positivo, puede ser menor al 80% en el caso de la prueba cutánea y 70% en la QFT-G. Por lo tanto, resultados negativos en estas pruebas, no descartan la enfermedad de TB.

Diagnóstico de laboratorio

El papel del laboratorio es imprescindible en el diagnóstico de la TB activa y aun más en el caso de la TB fármacorresistente. El diagnóstico final de la TB fármacorresistente requiere que se aisle la *M. tuberculosis* y que los resultados de las pruebas de fármaco-susceptibilidad se completen y se comuniquen al médico clínico. La rapidez de la entrega de los resultados de las pruebas de laboratorio es de suma importancia para un diagnóstico rápido y tratamiento apropiado de la TB fármacorresistente y TB extremadamente fármacorresistente (XDR).

Un diagnóstico óptimo por parte del laboratorio comienza con una **relación estrecha** y un **diálogo abierto** entre los trabajadores de salud, los de control de TB y el laboratorio de TB.

Los resultados del laboratorio son esenciales para el manejo del paciente con TB, control de infección, y salud pública. Esta carga dual, servir al paciente y a la salud pública, debe ser visualizada dentro del contexto de los cambios sociales, políticos, económicos, científicos y técnicos que están ocurriendo en países industrializados. Todos los grupos de interés deberían formar una red sinérgica, haciendo que la totalidad de la organización virtual sea más efectiva que la suma de sus partes.

El diagnóstico de TB por parte del laboratorio comienza contestando un formulario. El proveedor de asistencia médica, los programas de control y el laboratorio de TB, tienen que diseñar formularios que sirvan a todas las partes involucradas beneficiando el cuidado del paciente y el control de la TB. A continuación se indica la información que debe ser recolectada para optimizar tanto los escasos recursos disponibles en el actual sistema de asistencia médica como la contribución del laboratorio:

- ¿Diagnóstico contra muestra de seguimiento?
- ¿Fecha de inicio del tratamiento antituberculoso y detalles de su esquema de medicamentos?
- ¿En instalaciones donde hay mucha gente?
- ¿En aislamiento respiratorio?
- ¿Se sospecha fármacorresistencia?

El laboratorio está encargado de informar a sus socios de las condiciones para optimizar las pruebas, como por ejemplo las exigencias de volumen de muestra, las condiciones de tránsito y las limitaciones de pruebas. Los laboratorios de salud pública pueden afinar sus operaciones comunicando oportunamente a los programas locales de control de TB, pero esto podría plantear un desafío para laboratorios comerciales que proporcionan servicios al país entero.

Tiempos de retorno de los resultados de laboratorio

El crecimiento e identificación del complejo de *M. tuberculosis* puede tomar unas semanas. Los cultivos y las pruebas de sensibilidad requieren de 2 a 3 semanas adicionales. El crecimiento lento de algunas cepas de micobacteria (una característica común presente en muchas cepas de tuberculosis MDR) prolonga aun más la duración de las pruebas de identificación y de susceptibilidad. También las demoras en la entrega de los reportes de confirmación de cultivos y de las pruebas de susceptibilidad dilatarán la identificación de los pacientes con TB fármacorresistente y la iniciación del tratamiento apropiado.

Afortunadamente, las nuevas tecnologías y las estrategias adoptadas recientemente por los laboratorios, están impactando en el cuidado de la TB. Una de las metas de “Healthy People 2010” para el cuidado de TB, es reducir el tiempo promedio de un laboratorio en confirmar y reportar casos desde 21 días en 1996, a 2 días para el 75% de casos. Para superar la sensibilidad y la especificidad escasa de la baciloscopia, se está utilizando la amplificación del ácido nucleico en las instalaciones, tales como en el laboratorio de salud pública del condado de Orange en California demostrando así la capacidad de acercarse a la meta (el 75% de casos detectados en un plazo de 4 días). Tecnologías innovadoras, tales como line probe assays y molecular beacon assays/ensayos de sonda lineal y ensayos moleculares “beacon”, han sido estudiadas o puestas en ejecución, permitiendo una rápida evaluación para tuberculosis MDR por análisis directo del sedimento de esputo sin tener que esperar por el crecimiento de los cultivos.

Para asegurar un diagnóstico rápido de TB y de TB fármacorresistente, deben ser cumplidos los siguientes tiempos de retorno, los cuales han sido establecidos como estándar nacional para los laboratorios:

- Las muestras clínicas deben llegar al laboratorio **dentro de las 24 horas desde su recolección**
- Los resultados de las baciloscopías (BK) deben llegar al médico **dentro de las 24 horas de haber recibido la muestra** en el laboratorio
- La identificación de cultivo positivo debe reportarse **dentro de los 14 días de recolección de la muestra**
- El aislado debe ser identificado de manera definitiva como *M. tuberculosis* **dentro de 17 a 21 días desde la recolección de la muestra**
- Los resultados de susceptibilidad al antibiótico deben ser informados al médico **dentro de los 28 días desde la recolección de la muestra.**

Debido a que el éxito del tratamiento contra la TB fármacorresistente depende de los resultados de las pruebas de susceptibilidad del aislado de *M. tuberculosis*, **las pruebas de susceptibilidad a medicamentos de segunda línea deben requerirse tan pron-**

to se sospeche o se identifique la fármacorresistencia. Consulte con el laboratorio para averiguar qué pruebas de susceptibilidad de segunda línea realizan (si es que realizan alguna), y cuál laboratorio de referencia están usando. Ver Apéndice 4, “Recursos de Laboratorio”. En caso de ser necesario, los médicos clínicos deben contactar a los programas de TB en su estado o localidad, o a un experto en tuberculosis MDR para conseguir ayuda en la identificación de los laboratorios de salud pública y de referencia calificados. En algunas jurisdicciones, hay disponibilidad de métodos moleculares para diagnosticar con prontitud alguna fármacorresistencia.

Si existe una fuerte sospecha de fármacorresistencia basada en los antecedentes médicos del paciente o en la exposición a la enfermedad fármacorresistente, esta sospecha debe discutirse inmediatamente con el director del laboratorio.

En algunas ocasiones las pruebas de susceptibilidad molecular o las pruebas de susceptibilidad convencionales pueden realizarse en caso de ser requeridas. Lo anterior puede acelerar los resultados (Ver Apéndice 4, “Recursos de Laboratorio”; y Apéndice 5, “Métodos Directos”). En dichas circunstancias las pruebas de susceptibilidad de segunda línea deben ordenarse antes de haber recibido los resultados de las de primera línea. El laboratorio debe notificar al médico clínico sobre los resultados preliminares tan pronto como esté seguro de su validez y no esperar una confirmación **final**.

- Cuando se encuentra resistencia a rifampicina o a más de un medicamento de primera línea (INH, RIF, PZA, ETB, SM), las pruebas de susceptibilidad deben solicitarse para todo el espectro de los agentes de segunda línea. Amikacina o kanamicina, capreomicina, ofloxacina o fluoroquinolona (ofloxacina, levofloxacina o moxifloxacina) y la etionamida son los medicamentos mínimos de segunda línea. Pocos laboratorios realizan pruebas para cicloserina, ácido para-aminosalicílico (PAS), rifabutina y otros agentes, pero éstos también pueden ser necesarios.
- La comunicación oportuna y frecuente con el laboratorio es esencial. Si el laboratorio que hizo el cultivo del aislado tiene una capacidad limitada en cuanto a las pruebas de susceptibilidad, el proveedor debe enviar inmediatamente el aislado a un laboratorio de referencia.
- El médico clínico debe conocer el nombre, teléfono y persona de contacto para cada laboratorio que procesará y realizará las pruebas de fármacosusceptibilidad en los aislados de los pacientes de quienes se sospecha la fármacorresistencia.

Resultados falsos-positivos

Pueden ocurrir resultados falso-positivos para el aislado del complejo *M. tuberculosis* o en la detección de fármacorresistencia. Cuando se duda con respecto a resultados del laboratorio, es importante discutirlo con ellos.

- **¿Cuándo un clínico sospecharía un resultado falso-positivo?**
 - Cuándo las manifestaciones clínicas del paciente no parecen ser compatibles con el laboratorio
 - Cuando solamente 1 cultivo es positivo entre varios especímenes recolectados o hay resultados discrepantes entre diversos cultivos del mismo paciente.

- **¿Cuándo debe sospechar el laboratorio un resultado falso-positivo?**
 - Cuando un cultivo se convierte positivo de manera tardía (en 5 ó 6 semanas), especialmente si hay proximidad a un cultivo fuertemente positivo (que sugiere la posible contaminación cruzada)
 - Cuando se encuentran patrones inusuales de resistencia a medicamentos en pacientes sin ninguna relación sugiriendo la posible inoculación equivocada o equivocación al etiquetar especímenes.

Las causas posibles de resultados discrepantes, de pseudo-brotes y de diagnósticos equivocados de TB fármacorresistente incluyen:

- **Errores en el sitio de la recolección del espécimen:**
 - Los especímenes están mal etiquetados en la clínica, en el pabellón, o en la sala de broncoscopia
 - Los dispositivos médicos usados para recolectar especímenes están contaminados o existe una esterilización inadecuada de los tubos del broncoscopio.
- **Errores en el laboratorio:**
 - Medios o especímenes están mal etiquetados:
 - Al transferir un espécimen del envase original a un tubo de centrifuga
 - Al inocular medios con el espécimen
 - Al trabajar con un cultivo positivo para la identificación o prueba de susceptibilidad
 - Malfuncionamiento de gabinetes bio-seguros
 - Malfuncionamiento de los sistemas de pruebas de laboratorio
 - Contaminación cruzada debido a técnicas deficientes o por utilizar un recipiente común para agregar reactivos entre los especímenes
 - La no comprobación de la contaminación con bacterias
 - La no comprobación de la infección mixta con *micobacteria no-tuberculosa* (NTM)
 - Registro equivocado de resultados.
- **Al investigar resultados discrepantes, compruebe todas las fuentes de errores posibles:**
 - Si es posible, pruebe otro aislado del mismo paciente
 - Repita la prueba en la muestra original (si aún está disponible)
 - Repita la prueba de susceptibilidad usando otro método u otro laboratorio
 - Consulte con los expertos. Puede requerir un esfuerzo de equipo, pero al existir una comunicación franca entre los trabajadores de salud y el personal del laboratorio, es posible encontrar una solución.

Pruebas de susceptibilidad

Interpretaciones de susceptibilidad

La interpretación de los resultados de las pruebas de susceptibilidad para micobacteria es de algún modo distinta a la mayoría de otros patógenos. En última instancia, el médico clínico compara la concentración mínima inhibitoria (MIC) del patógeno con el nivel sérico máximo. Si una dosis segura de antibiótico matara a la bacteria en el paciente, el medi-

En la interpretación de los resultados de susceptibilidad de M. tuberculosis, los ensayos clínicos han determinado que la efectividad clínica es menos probable cuando más del 1% de los organismos dentro de una población son mutantes resistentes a ciertos medicamentos.

camento podría ser usado de manera exitosa. La interpretación de las pruebas de susceptibilidad para micobacteria no es tan directa. Muchas variables complican la interpretación de éstas: 1) La micobacteria puede estar dentro o fuera de las células humanas, 2) Poseen un tiempo generacional muy grande y pueden existir en un estado latente o activo y 3) Viven en tipos de tejidos muy variados para los cuales los medicamentos pueden alcanzar distintos niveles de penetración.

En la interpretación de los resultados de susceptibilidad de *M. tuberculosis*, los ensayos clínicos han determinado que la efectividad clínica es menos probable cuando más del 1% de los organismos dentro de una población son mutantes resistentes a ciertos medicamentos. La concentración que constituye el punto medio entre la resistencia y la susceptibilidad de la cepa se llama “concentración crítica”. **La concentración crítica es el nivel del medicamento que inhibe una cepa de *M. Tuberculosis* de tipo salvaje (una cepa que no ha sido expuesta a medicamentos contra la TB), pero que no suprime el crecimiento de una cepa resistente de forma evidente. La concentración crítica depende del medio de cultivo usado para la detección del crecimiento de la *M. tuberculosis*.**

En los primeros estudios que se realizaron para medir la eficacia, se utilizó el método de proporciones con agar 7H10 de Middlebrook. En los Estados Unidos este método es usado como un método estándar con el cual se comparan todos los nuevos métodos de susceptibilidad. Cada método establece la concentración crítica para cada medicamento basado en el crecimiento de la *M. tuberculosis* comparado al crecimiento en el agar 7H10 (ver Apéndice 6, “Concentraciones Críticas”).

Si el crecimiento de la población de la cepa es mayor al 1% en la concentración crítica del medicamento para ese medio en particular, considere el aislado como resistente a ese medicamento y planee el uso de otros. (Tenga en cuenta que la INH puede probarse tanto en nivel bajo como alto, e incluso puede ser utilizada en caso de que muestre resistencia a bajo nivel).

Métodos de susceptibilidad

Las pruebas de susceptibilidad de la micobacteria utilizan el mismo medio sólido, caldo y métodos de inoculación como técnicas de cultivo, pero en las pruebas de susceptibilidad se le agrega medicamentos antituberculosos. El crecimiento de organismos en presencia de medicamentos antituberculosos se compara con los controles con el fin de interpretar la susceptibilidad o resistencia. (Para ver ejemplos y más detalles acerca de pruebas de susceptibilidad y cada uno de los siguientes métodos, ver Apéndices 5 a 11).

Método de las proporciones de agar: La muestra clínica (método directo) o un subcultivo de crecimiento micobacteriano (método indirecto), se usa para inocular placas de agar que contienen medicamentos antituberculosos o ningún medicamento (control). El crecimiento de las colonias en placas que contienen medicamento se comparan con el que contiene el control como una proporción (porcentaje de resistencia). Este proceso por lo general toma como mínimo entre 3 a 4 semanas. (Ver Apéndice 8, “Método de las Proporciones”).

Método directo: La muestra clínica (por lo general BK+) es procesada y después inoculada directamente en platos de agar que contienen varios medicamentos antituberculosos. (Ver Apéndice 5, “Métodos Directos”).

Método indirecto: Después que la *M. tuberculosis* crece desde una muestra clínica, se prepara una suspensión y se inocula dentro de platos de agar, botellas o tubos de caldo que contengan medicamento. (Ver Apéndice 9, “Métodos Indirectos”).

Métodos en caldo: Con una suspensión de células de colonias de *M. tuberculosis* se inocula dentro de un vial o tubos de caldo que contienen la concentración crítica de un medicamento antituberculoso o ningún medicamento (control). El crecimiento del organismo en el medio que contiene medicamento es comparado con el de control. Los métodos preferidos para pruebas de medicamentos de primera línea son los de caldo ya que son mucho más rápidos (generalmente de 5 a 10 días) que los métodos de proporción usando un medio de agar.

Método BACTEC 460 TB: El crecimiento de la *M. tuberculosis* se hace en ampollas de caldo que contienen un sustrato marcado con $^{14}\text{CO}_2$. El sistema BACTEC 460TB está bien estandarizado y es confiable, sin embargo, es un sistema de prueba radioactivo que requiere el uso de agujas/jeringas y no está totalmente automatizado. (Ver Apéndice 10, “Método BACTEC 460 TB”).

Nuevos métodos en caldo: Otros sistemas en caldo han sido desarrollados para detectar el crecimiento micobacteriano en un sistema totalmente automatizado. Además estos sistemas pueden ser usados para pruebas de susceptibilidad. Algunos de estos son:

- **BACTEC MGIT 960** es un sistema de susceptibilidad antimicrobiano no radiométrico para probar el complejo *M. tuberculosis* de un caldo de cultivo. Se ha validado para proporcionar resultados para el SM, INH, RIF, EMB (SIRE) y PZA en un lapso de tiempo cerca al del sistema de BACTEC 460 TB. MGIT 960 ha sido aprobada por la FDA.
- **VersaTREK** es un método automatizado que primero fue desarrollado para cultivos de la sangre y luego adaptado para la recuperación y la fármacosusceptibilidad de la micobacteria. Se ha validado para realizar pruebas de susceptibilidad cualitativa en INH, RIF, EMB y PZA con aislados del complejo de la *M. tuberculosis*.
- **MB/BacT ALERT 3D** es un sistema de susceptibilidad antimicrobiano no-radiométrico para comprobar aislados de complejo *M. tuberculosis*. Fue desarrollado para proporcionar resultados de susceptibilidad para SM, INH, RIF y EMB; pero recientemente las concentraciones críticas de los medicamentos enumerados fueron modificadas y se introdujo un nuevo vial acidificado para la prueba estandarizada de PZA. Sin embargo, ningún medicamento antimicobacteriano ha sido autorizado por la FDA como prueba de susceptibilidad utilizando este sistema.

Métodos moleculares: El ADN se extrae de los organismos y se amplifica. Las mutaciones que ocasionan la fármacorresistencia son detectadas. (Ver Apéndice 7, “Métodos Moleculares”).

Discrepancia en los resultados

Las discrepancias en los resultados pueden ocurrir entre distintos laboratorios. Entre algunas de las razones se incluyen:

- A pesar de la validación de nuevos métodos, no se ha llegado a ningún acuerdo. La discrepancia en los resultados es inevitable debido a los diferentes métodos, medios y concentraciones críticas.
- Algunas cepas de la *M. tuberculosis* tienen concentraciones mínimas inhibitorias que están cerca de la concentración crítica. La experiencia ha demostrado que es posible que la reproducibilidad de las pruebas de esas cepas sea deficiente.
- Existe la posibilidad que los diferentes laboratorios no hayan usado la misma muestra.
- Algunos errores pueden ocurrir durante las pruebas de susceptibilidad a los medicamentos:
 - Error por no usar una inoculación estandarizada (una suspensión bien diseminada)
 - Error por no añadir un medicamento al medio
 - Error por no añadir el medicamento o la concentración correctos
 - Error en la inoculación
 - Error al no reconocer una infección mixta (*M. tuberculosis* complex y una NTM), lo cual es más difícil de detectar en sistemas de caldo
 - Error al no reconocer la contaminación con otro organismo, lo cual es más difícil de detectar en sistemas de caldo.
- Pueden ocurrir cambios de la actividad del medicamento o el soporte del metabolismo micobacteriano entre lotes diferentes de medios de cultivo. Los laboratorios deben revisar los ingredientes de nuevos lotes de medios para verificar que el medio que ellos producen tiene la misma actividad que los anteriores. Dado lo anterior se recomienda establecer la validación de lotes de medios.
- Si un subcultivo es examinado, es posible que no represente la totalidad de la población inicial.

Debido a que las ramificaciones de la resistencia a la rifampicina o de la tuberculosis MDR son tan significativas, solicite constantemente al laboratorio de salud pública que confirme el patrón de resistencia.

- Examine los resultados y determine si se ajustan al cuadro clínico y epidemiológico.
- Hable con él/la laboratorista y discuta las razones de los conflictos en los resultados.
 - **Pregunte cómo el laboratorio descarta cualquier infección mixta con una micobacteria no tuberculosa**
 - **Pregunte cómo el laboratorio reglamenta cualquier contaminación con organismos que no son bacilos ácido alcohol resistente (BAAR)**
 - **Si tiene dudas, el laboratorio de salud pública deberá repetir la prueba usando el aislado más reciente que tenga disponible.**

Uso de tipificación de cepas

El genotipo molecular de *M. tuberculosis complex* puede ser útil en:

- Detectar brotes no reconocidos o confirmar brotes de casos relacionados que están bajo investigación
- Investigar o identificar posibles cultivos falso-positivos
- Ayudar a distinguir entre una recaída o una segunda infección (si el aislado previo está todavía disponible para establecer un genotipo)
- Documentar la amplificación de la monorresistencia inicial a la tuberculosis MDR contra la pre-infección con una cepa más resistente.

Los aislados con tipos de cepas iguales pueden tener diferente patrón de susceptibilidad, esto puede ser posible ya que una cepa puede haber sido originalmente susceptible y como resultado a un inadecuado o inapropiado tratamiento, los organismos resistentes proliferan. Sin embargo el genotipo no cambia porque se haya desarrollado la fármaco-resistencia.

Descripción de los programas de genotipificación de la tuberculosis de los CDC

Dos laboratorios de genotipificación de salud pública, uno en Michigan y uno en California, están bajo contrato con los CDC para proporcionar servicios de genotipificación a los programas de TB en los Estados Unidos. Los programas de TB, a través de sus laboratorios de salud pública del estado, pueden enviar a un laboratorio de genotipificación un aislado por cada paciente con cultivo positivo de TB.

Los laboratorios de genotipificación usarán tres métodos de descripción:

- Espoligotipificación
- Análisis de Unidades Repetitivas Intercaladas (**MIRU**)
- Análisis de Polimorfismo por Restricción del Largo de los Fragmentos basado en IS6110/IS6110-based restriction fragment length polymorphism (**RFLP**)

Los análisis por espoligotipificación y MIRU son métodos de genotipificación basados en la reacción en cadena de la polimerasa (**PCR**). Los laboratorios de genotipificación analizarán todos los aislados recibidos con ambos métodos basados en PCR y en las pruebas de genotipificación. Bajo ciertas circunstancias, y por solicitud de los programas de TB, los aislados que tienen el mismo genotipo tanto por el método de espoligotipificación como el de MIRU; pueden también ser analizados con RFLP. Los servicios de genotipificación son gratuitos para los programas de TB, pero ni los CDC ni los laboratorios de genotipificación pagarán los gastos de envío de paquetes y mensajería.

Los objetivos de la genotipificación universal son:

1. Determinar la extensión y la dinámica de la transmisión en curso para enfocar intervenciones del programa en áreas y poblaciones específicas
2. Determinar la transmisión de TB en brotes y ajustar las investigaciones de contacto
3. Determinar la transmisión nosocomial no identificada por métodos convencionales
4. Investigar posibles resultados de cultivos falso-positivos y que los clínicos puedan ser notificados rápidamente de los errores en el diagnóstico, permitiendo el término de un tratamiento antituberculoso innecesario.

Por lo tanto, es sumamente importante que se realice un estudio de genotipificación a todos los aislados de TB fármacorresistente.

Resumen

- **Los pacientes con alto riesgo de TB fármacorresistente son aquellos que:**
 - Han sido previamente tratados contra la TB
 - Proviene o han viajado hacia regiones/países con altos índices de fármacorresistencia
 - Han estado expuestos a personas con TB fármacorresistente
 - Cuyo tratamiento antituberculoso está fallando.
- **Cada paciente de TB debe recibir una evaluación de riesgo ante la fármacorresistencia.**
- **El laboratorio es crucial en el diagnóstico y manejo de la TB fármacorresistente.**
- **Informarle al laboratorio que se sospecha TB fármacorresistente es esencial para las pruebas de susceptibilidad oportunas y una óptima atención al paciente.**
- **La TB fármacorresistente debe ser confirmada por un laboratorio de salud pública o por un laboratorio de referencia con experiencia.**
- **El control adecuado de la transmisión de la TB demanda que todas las pruebas de laboratorio se hagan oportunamente y que entre el médico clínico y el laboratorio exista una estrecha comunicación.**
- **A todos los aislados de TB fármacorresistente se les debe practicar genotipificación.**

Referencias

- Barnard M, Albert H, Coetzee G, O'Brien R, Bosman ME. Rapid molecular screening for MDR-TB in a high volume public health laboratory in South Africa. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; Jan 17; [Epub ahead of print]; PMID: 18202343
- Bearman G, Vaamonde C, Larone D, Drusin L, Zuccotti G. Pseudo-outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* associated with presumed laboratory processing contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2002;23(10):620-622.
- Cowan LS, Mosher L, Diem L, Massey JP, Crawford JT. Variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates with low copy numbers of IS6110 by using mycobacterial interspersed repetitive units. *J Clin Micro*, 2002; 40(5):1592-1602.
- Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J Clin Micro*. 1999;37(8):2607-2618.
- Lin SY, Probert W, Lo M, Desmond E. Rapid detection of isoniazid and rifampin resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex from cultures or smear-positive sputa by use of molecular beacons. *J Clin Micro*. 2004;42(9):4204-08.
- Moore DF, Guzman JA, Mikhail LT. Reduction in turnaround time for laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis by routine use of a nucleic acid amplification test. *Diag Micro Infect Dis*. 2005;52(3):247-54.
- Nitta AT, Davidson PT, de Koning ML, Kilman RJ. Misdiagnosis of multidrug-resistant tuberculosis possibly due to laboratory-related errors. *JAMA*. 1996;276(24):1980-1983.
- Parsons LM, Somoskovi A, Urbanczik R, Salfinger M. Laboratory diagnostic aspects of drug resistant tuberculosis. *Front Biosci*. 2004;9:2086-2105.
- Segal-Maurer S, Kreiswirth BN, Burns JM, et al. *Mycobacterium tuberculosis* specimen contamination revisited: the role of the laboratory environmental control in a pseudo-outbreak. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1998;19(2):101-105.
- Somoskovi A, Parsons LM, Salfinger M. The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Respir Res*. 2001;2(3):164-168.
- U.S. Department of Health and Human Services. *Healthy People 2010*. 2nd ed. With Understanding and Improving Health and Objectives for Improving Health. 2 vols. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, November 2000
- Viveiros M, Leandro C, Rodrigues L, et al. Direct application of the INNO-LiPA Rif.TB line-probe assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains and detection of rifampin resistance in 360 smear-positive respiratory specimens from an area of high incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *J Clin Micro*. 2005;43(9):4880-4884.
- Woods GI, Warren NG, Inderlied CB. Antibacterial Agents and Susceptibility Test Methods: Susceptibility Test Methods: Mycobacteria, Nocardia and other Actinomycetes. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J, Pfaller MA, Landry ML. American Society for Microbiology. *Manual for Clinical Microbiology*. 9th edition. ASM Press; 2007.
- Wurtz R, Demarais P, Trainor W, et al. Specimen contamination in mycobacteriology laboratory detected by pseudo-outbreak of multidrug-resistant tuberculosis: analysis by routine epidemiology and confirmation by molecular technique. *J Clin Microbiol*. 1996;34(4):1017-1019.