

DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS EN PEDIATRÍA

Rodríguez Vega H.D., Alfayate Miguelez S. Grupo de Patología Infecciosa de AEPap. Diagnóstico de la Tuberculosis en Pediatría. Abril 2014. [Disponible en <http://www.aepap.org/grupos/grupo-de-patologiainfecciosa/contenido/documentos>]

MANTOUX

En 1908, un médico francés, Charles Mantoux, puso a punto el test que lleva su nombre para el diagnóstico de los contactos tuberculosos (infección tuberculosa latente ITBL). Es, desde hace más de 80 años y hasta la fecha, la prueba estándar para el diagnóstico de la infección tuberculosa en niños. El Mantoux o Tuberculin Skin Test (TST) es un extracto antigénico obtenido del filtrado de cultivos de bacilos tuberculosos. El tipo de antígeno que se utiliza en la tuberculina es el PPD (purified protein derivative). Actualmente en España se usa la variante PPD RT-23 con Tween 80 como adsorbente. 2 Unidades de Tuberculina (UT) de este PPD equivalen a 5 UT del PPD utilizado en otros países. Pero el PPD no contiene sólo proteínas del *Mycobacterium tuberculosis* (MT) sino también del *Mycobacterium bovis* (vacuna BCG) y de otras micobacterias no tuberculosas (MNT), lo que resta especificidad a la prueba^{1, 2}.

Debe de realizarse, con aguja de calibre 27, en la cara anterior del antebrazo, con inyección intradérmica de 0,1ml y se debe producir de forma inmediata una pápula de 6 – 10 mm que desaparecerá en unos 10-15 minutos. Si no se forma esta pápula o desaparece inmediatamente tras la inyección, significa que la administración ha sido subcutánea y no intradérmica; debe entonces repetirse la prueba a unos 5 cm de la previa. La lectura se efectuará entre las 48-72 horas (rango 2-4 días) midiéndose solamente los milímetros de induración del diámetro transversal bien por palpación o con la ayuda de un bolígrafo (técnica de Sokal), y registrando la existencia, si la hubiera, de vesiculación o necrosis³.

Tras el contacto con MT, generalmente por vía respiratoria, el primer mecanismo de defensa frente a este microorganismo lo constituyen los macrófagos alveolares que, mediante fagocitosis, consiguen contener la infección en la gran mayoría de los casos. Semanas más tarde, se produce la afectación de los ganglios linfáticos regionales, donde Linfocitos T (LT) CD4+ específicamente estimulados frente a MT responden produciendo Interferón γ (IFN γ) que aumenta la capacidad de los

macrófagos para destruir las micobacterias fagocitadas. La reactividad tuberculínica indica la presencia de LT sensibilizados a cualquiera de los antígenos del PPD y aparece entre las 2-12 semanas (mediana 3-4 semanas del contacto)³.

La valoración del resultado ha de realizarse en el contexto de una historia clínica que incluya los antecedentes personales generales y específicamente antecedentes de TBC, vacunación con BCG, vacunación con virus vivos atenuados, fiebre amarilla y fiebre tifoidea oral, intensidad de la exposición si la hay e inmunodeficiencias congénitas o adquiridas predisponentes a esta infección o que pudieran interferir en la respuesta frente a la misma³.

El TST no sensibiliza aunque se repita más de una vez. Sólo en personas vacunadas de BCG, infectados por algunas MNT y en adultos mayores de 55 años, por lo tanto previamente sensibilizadas, el primer TST puede ser negativo por debilitamiento del estímulo, y debe repetirse a los 7-10 días, considerando como válido el resultado de este último. Es el llamado efecto booster¹.

Valoración del resultado:

De acuerdo con el documento elaborado por las Sociedades Españolas de Infectología Pediátrica (SEIP) y Neumología Pediátrica (SENP) publicado en 2010 se admite como resultado positivo³:

- Induración \geq 5mm:
 - Niños en contacto con el caso índice o sospechoso de TB.
 - Niños sospechosos de enfermedad tuberculosa (ET) clínica o radiológica.
 - Niños en situaciones de inmunosupresión o infección VIH.
 - Niños con conversión de la prueba de la tuberculina previamente negativa.
- Induración \geq 10mm:
 - Cualquier otro caso, incluido el niño inmigrante, viajero, en el cribado de niños sanos, independientemente del antecedente de vacunación con BCG.

Falsos negativos:

- Factores dependientes del huésped
 - o Edad menor de 6 meses.
 - o Contacto reciente (periodo prealérgico).
 - o Comorbilidades.
- Vacunas, tratamientos inmunosupresores
- Formas diseminadas o que afectan a serosas
- Factores dependientes de la técnica
 - o Deficiente conservación
 - o Errores en la técnica de aplicación o en la lectura

Falsos positivos ²:

- Reacción Cruzada con MNT
- Vacunados con BCG
- Lectura errónea (eritema, no induración)
- Infección de la zona de punción o rotura de vaso
- Sensibilidad a los componentes de la tuberculina

Recomendaciones para la realización de una prueba de la tuberculina en niños y adolescentes ^{1, 3}

- TST inmediato
 - o Contacto con individuo con sospecha o certeza de TBC activa (estudio contactos).
 - o Hallazgos clínicos o radiológicos sugestivos de enfermedad tuberculosa.
 - o Inmigrantes o adoptados de países con alta prevalencia.
- Niños viajeros procedentes de zonas endémicas y contacto sustancial con población nativa, recomendable después de 10 semanas del regreso.

- Antes de la administración de tratamientos con inmunosupresores, corticoesteroides o antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa.

IGRAs

Los Interferón-Gamma Release Assays (IGRAs), son test que detectan la producción de IFN γ por LT sensibilizados frente a MT. La principal diferencia entre TST e IGRAs es que mientras el primero utiliza PPD, una mezcla de antígenos comunes a distintas especies de micobacterias, los IGRAs utilizan antígenos más específicos de MT: *Early Secreted Antigenic Target-6* (ESAT-6), *Cultured Filtrated Protein-10* (CFP-10) y TB 7.7. Estos antígenos, sin embargo, no son completamente exclusivos de MT y se encuentran también en algunas MNT (*M. szulgai*, *M. marinum* y *M. kansasii*). Una ventaja adicional de los IGRAs es su menor período ventana, alrededor de 2 semanas.

QuantIFERON-TB-Gold In Tube (QFT-GIT) (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia)^{2, 4}

Constituye la última generación de este tipo de ensayos. El kit comercial consta de 3 tubos; uno incluye los 3 antígenos descritos (ESAT-6, CFP-10 y TB 7.7), otro contiene fitohemaglutinina (un mitógeno inespecífico de LT, control positivo) y el tercero no contiene ningún reactivo (control negativo). Debe recogerse 1 ml de sangre en cada tubo, mezclarse adecuadamente, incubarse a 37°C durante 18-24 horas y luego centrifugarse. El plasma separado por centrifugación puede conservarse durante varias semanas si fuera necesario, lo que facilitaría la acumulación de muestras para su procesamiento posterior. El último paso consiste en determinar mediante ELISA los niveles de IFN γ en el plasma extraído de cada uno de los tubos. La interpretación se basa en comparar los niveles de IFN γ obtenidos en el tubo problema con los obtenidos en los controles positivo y negativo; el resultado será informado como positivo, negativo o indeterminado.

T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Abingdon, UK)^{2, 4}

Este tipo de ensayo se basa en una técnica conocida como ELISPOT. Utiliza entre 2 y 8 ml de sangre, según la edad del niño. En primer lugar, la sangre extraída debe procesarse para separar las células mononucleares periféricas del resto de componentes sanguíneos y aislarlas a una concentración conocida (250.00 células/ml). Para el ensayo se utiliza una placa con 4 pocillos; 2 que contienen los antígenos ESAT-

6 y CFP-10 respectivamente, un control negativo y otro positivo. En cada uno de los pocillos se coloca una cantidad idéntica de células mononucleares y se incuba a 37°C en atmósfera al 5% de CO₂ durante 16-20 horas. El IFN γ producido por los LT activados incubados con antígeno es capturado por unos anticuerpos anti IFN γ presentes en el fondo de cada pocillo. A continuación, se añaden otros anticuerpos, conjugados con fosfatasa alcalina, y dirigidos contra un epítipo diferente del IFN γ . Por último, se añade un sustrato que cambia de color por acción de la fosfatasa alcalina; de esta manera, se forma una mancha, o spot, alrededor de cada una de las células mononucleares productoras de IFN γ . La interpretación de la prueba se basa en la comparación del número de spots producidos en los pocillos que contienen antígeno con los observados en los controles positivo y negativo. El resultado se informa también como positivo, negativo o indeterminado. El T-SPOT.TB comparado con el QFT-GIT requiere más sangre, es técnicamente más complejo y no permite el almacenamiento de muestras para su procesamiento diferido.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE TST E IGRAS

Existen resultados contradictorios sobre muchos aspectos relacionados con el uso tanto del TST como de los IGRAs en niños. La interpretación de estos test está condicionada por la prevalencia de infección tuberculosa en el ambiente en que se realizan y, además, en el caso del TST por la medida que consideremos positiva. En entornos con baja prevalencia la sensibilidad de los IGRAs es comparable a la del TST, alrededor de 85%⁵. La principal ventaja de los IGRAs radica en una mayor especificidad al no verse afectado el resultado por la vacunación previa con BCG o la exposición a MNT. Además, la realización repetida de IGRAs no produce efecto booster, a diferencia de TST, que puede producirlo en pacientes previamente sensibilizados. En ambientes con alta prevalencia de infección tuberculosa, coexisten habitualmente otros factores como la desnutrición, la infección por VIH, helmintiasis y una excesiva exposición a MNT y MT, que condicionan una menor sensibilidad para el diagnóstico de ITBL, y una sensibilidad y especificidad menores para el diagnóstico de ET⁶.

USO DE TST E IGRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE ITBL Y ET

Al igual que ocurre con el TST, los IGRAs no pueden diferenciar entre ITBL y ETBC, y un resultado negativo no descarta ET en un paciente con cuadro clínico compatible.

Existen diversas guías de práctica clínica que intentan protocolizar el uso de TST e IGRAs. Son posibles 3 aproximaciones diagnósticas: uso de una prueba única, IGRA o TST; uso simultáneo de IGRA y TST; o uso secuencial de TST e IGRA⁷.

Es conocido que en niños pequeños y neonatos, existe una inmadurez funcional de macrófagos y células dendríticas, así como un bajo nivel de producción de IFN γ por los LT estimulados^{8, 9}. Esta podría ser la causa de la menor sensibilidad tanto de TST como de IGRAs en niños de corta edad. La mayoría de estudios disponibles no evalúan el uso de IGRAs en este grupo de edad por lo que, en general, la mayoría de guías aceptan que en niños menores de 5 años el TST es de elección mientras que en niños mayores de esta edad, los IGRAs podrían sustituir al TST en cualquiera de sus indicaciones, especialmente en niños con baja probabilidad de retorno para la lectura del TST¹⁰. Existen sin embargo estudios recientes que han encontrado en IGRAs una sensibilidad comparable a la del TST, incluso en niños menores de 2 años¹¹. En niños inmunodeprimidos, especialmente en linfopénicos, y en niños de corta edad, el T-SPOT.TB podría tener cierta superioridad frente a QFT-GIT¹².

El uso combinado de IGRAs + TST puede aumentar la sensibilidad diagnóstica hasta un 91%¹³; por lo tanto, en niños con uno de los test negativo, podría realizarse secuencialmente el otro si existe alta sospecha clínica de tuberculosis o, si en un estudio de contactos el paciente presenta un especial riesgo de progresión a enfermedad tuberculosa³.

Tras obtener un resultado positivo de TST, debería considerarse el uso de IGRA si el paciente tiene historia previa de vacunación con BCG o si existe sospecha clínica de infección por MNT^{3, 10}.

En países subdesarrollados, dados los inconvenientes que pueden presentar los IGRAs en zonas de alta prevalencia de infección tuberculosa, y su mayor complejidad técnica, la OMS se muestra a favor del uso de TST y recomienda no sustituirlo por IGRAs¹⁴.

COMPARACIÓN ENTRE TST E IGRAS ¹⁵

	TST	IGRA
Antígenos incluidos	Múltiples	2-3
Reacción cruzada	Si	Rara
Sensibilidad	55-83%	52-94%
Especificidad	70-92 %	90-100%
Coste	Bajo	Elevado
Distinción entre infección/enfermedad	No	No

Tabla 1. Comparación entre TST e IGRAs

BIBLIOGRAFÍA

1. Gonzalez-Martin J, Garcia-Garcia JM, Anibarro L, et al. [Consensus document on the diagnosis, treatment and prevention of tuberculosis]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:297 e1-20.
2. Arias Guillen M. Advances in the diagnosis of tuberculosis infection. *Arch Bronconeumol* 2011;47:521-30.
3. Moreno-Perez D, Andres Martin A, Altet Gomez N, et al. [Diagnosis of tuberculosis in pediatrics. Consensus document of the Spanish Society of Pediatric Infectology (SEIP) and the Spanish Society of Pediatric Pneumology (SENP)]. *An Pediatr (Barc)* 2010;73:143 e1- 14.
4. ECDC. Mastering the basics of TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods. Stockholm; 2011.
5. Hesselning AC, Mandalakas AM. Interferon-gamma release assays for childhood tuberculosis: what does the future hold? *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15:1423-4.
6. Shaik J, Pillay M, Jeena P. The role of interferon gamma release assays in the monitoring of response to anti-tuberculosis treatment in children. *Paediatr Respir Rev* 2013;pii: S1526-0542(13)00149-8. doi: 10.1016/j.prrv.2013.11.007. [Epub ahead of print].

7. Denkinger CM, Dheda K, Pai M. Guidelines on interferon-gamma release assays for tuberculosis infection: concordance, discordance or confusion? *Clin Microbiol Infect* 2011;17:806-14.
8. Lewinsohn DA, Gennaro ML, Scholvinck L, Lewinsohn DM. Tuberculosis immunology in children: diagnostic and therapeutic challenges and opportunities. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8:658-74.
9. Wilson CB, Westall J, Johnston L, Lewis DB, Dower SK, Alpert AR. Decreased production of interferon-gamma by human neonatal cells. Intrinsic and regulatory deficiencies. *J Clin Invest* 1986;77:860-7.
10. AAP. Red Book 2012: Report of the Committee on Infectious Diseases. 29th Edition. 2012:743-44.
11. Garazzino S. Performance of interferon-gamma Release Assay for the Diagnosis of Active or Latent Tuberculosis in Children in the First Two Years of Age: A Multicenter Study of the Italian Society of Pediatric Infectious Diseases. *Pediatr Infect Dis J* 2014;DOI: 10.1097/INF.0000000000000353 [Epub Ahead of print].
12. Carvalho AC, Schumacher RF, Bigoni S, et al. Contact investigation based on serial interferon-gamma release assays (IGRA) in children from the hematology-oncology ward after exposure to a patient with pulmonary tuberculosis. *Infection* 2013;41:827-31.
13. Bamford AR, Crook AM, Clark JE, et al. Comparison of interferon-gamma release assays and tuberculin skin test in predicting active tuberculosis (TB) in children in the UK: a paediatric TB network study. *Arch Dis Child* 2009;95:180-6.
14. WHO. Use of tuberculosis interferon-gamma release assays (IGRAs) in low- and middle-income countries: policy statement; 2011.
15. Cruz AT, Starke JR, Lobato MN. Old and new approaches to diagnosing and treating latent tuberculosis in children in low-incidence countries. *Curr Opin Pediatr* 2013;26:106-13.