

Prueba de la tuberculina: ¿es la hora del cambio?

J. Domínguez y J. Ruiz-Manzano

Serveis de Microbiologia i Pneumologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.
Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. España.

La tuberculosis (TB) continúa siendo causa de una elevada morbilidad y mortalidad en todo el mundo¹. El factor esencial para el control de la expansión de esta enfermedad radica en la capacidad de diagnosticar precozmente y tratar a los individuos enfermos de forma apropiada. Los métodos microbiológicos de referencia en el diagnóstico de la TB continúan siendo el examen microscópico, el cultivo y aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* y la detección de sus ácidos nucleicos. Sin embargo, como es bien conocido, estas técnicas actualmente disponibles son insuficientes. Por otro lado, las personas infectadas representan un peligro potencial de nuevos casos de TB. Se estima que en el mundo existen unos 2.000 millones de infectados. El estudio de las personas infectadas que no han enfermado permite aplicar, según los casos, medidas de prevención y evitar que desarrollen la enfermedad. De este modo se contribuye a romper la cadena de transmisión del microorganismo.

Para conocer si un individuo ha sido infectado por *M. tuberculosis* se estudia su respuesta de hipersensibilidad retardada frente a determinados compuestos antigénicos específicos del bacilo. Éste sería el principio en que se basa la tuberculina. La tuberculina, que se obtiene del filtrado del cultivo de *M. tuberculosis* esterilizado y concentrado, actualmente está constituida por un derivado proteico purificado (PPD). La tuberculina se ha utilizado durante los últimos 100 años como herramienta de ayuda en el diagnóstico de la TB. Su principal inconveniente radica en que la mayoría de proteínas presentes en el PPD no son específicas de *M. tuberculosis*, sino que las comparte con otras micobacterias. Esto provoca una disminución de la especificidad de la prueba, ya que individuos sensibilizados por exposición previa a otras micobacterias o que han recibido la vacuna antituberculosa (cepas atenuadas de *M. bovis*) también responden inmunológicamente al PPD. Además, su utilización presenta bastantes inconvenientes: *a*) baja sensibilidad en personas inmunodeprimidas con alteraciones de la inmunidad celular, lo que da lugar a resultados falsos negativos; *b*) dificultades de manejo en niños de corta edad; *c*) errores en la administración de la tuberculina; *d*) subjetividad en la interpretación de los resultados, y *e*) visita de lectura, es decir, el paciente tiene que volver a los 2 o 3 días para

interpretar la prueba, lo que genera ansiedad y preocupación por su resultado, así como la consecuente pérdida de horas laborales; sin contar con el porcentaje no despreciable de pacientes que no vuelven a la consulta para la lectura².

Atendiendo a la historia natural de la enfermedad, la principal vía de infección es la llegada de *M. tuberculosis* a los alveolos pulmonares, donde lo fagocitan los macrófagos alveolares. Estos macrófagos liberan citocinas que atraen neutrófilos, linfocitos y más macrófagos para que fagociten a los bacilos extracelulares, así como para que generen un foco inflamatorio. Los linfocitos T CD4 específicos se transforman en linfocitos T *helper* (Th) 1 bajo la influencia de la interleucina 12 secretada por los macrófagos. Th1 segrega el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que permite la llegada de más macrófagos, y de interferón gamma (IFN- γ), que activa a los que están infectados. Por otro lado, se ha descrito que los linfocitos T $\gamma\delta$ también segregan IFN- γ para activar macrófagos e interleucina 12 para que proliferen a Th1. Además, el macrófago sintetiza la interleucina 12, que estimula a las células citolíticas, que también sintetizan IFN- γ . El IFN- γ es la citocina efectora clave en el control de la infección micobacteriana mediante la activación de los macrófagos y también en el desarrollo de la inmunidad protectora contra *M. tuberculosis*³. Por lo tanto, un método de inmunodiagnóstico basado en la cuantificación *in vitro* de la respuesta inmunitaria celular puede ser una alternativa a la tuberculina para identificar la infección tuberculosa.

En este sentido, se han desarrollado diversos métodos de cuantificación de esta respuesta inmunitaria celular utilizando diferentes antígenos micobacterianos para la estimulación de las células T sensibilizadas y para la detección *in vitro* de la liberación de IFN- γ . La técnica consiste en una estimulación *in vitro* de los linfocitos con antígenos micobacterianos, seguida de la detección del IFN- γ producido mediante técnica inmunológica⁴. El éxito de este método depende fundamentalmente de los antígenos que se empleen en la estimulación. En una primera fase se utilizó el PPD como estimulador de los linfocitos. El PPD es una mezcla compleja de antígenos, poco definida, que contiene principalmente proteínas en diversos estadios de desnaturalización. Varios estudios realizados desde entonces han puesto de manifiesto problemas de especificidad^{5,6}. Sin embargo, la utilización de *early secretory antigen target-6* (ESAT-6) y *culture filtrate protein 10* (CFP-10), que son antígenos secretados por el complejo *M. tuberculosis* y que están ausentes en la vacuna antituberculosa y en otras micobacterias ambienta-

Financiado en parte con las becas SEPAR-Infecciones 2004 y FUCAP 2004.

Correspondencia: Dr. J. Ruiz-Manzano.
Servei de Pneumologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.
Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona.
Ctra. del Canyet, s/n. 08916 Badalona. Barcelona. España.

Recibido: 6-5-2005; aceptado para su publicación: 30-8-2005.

les, parece tener una mayor capacidad en la detección de la infección por *M. tuberculosis*⁷⁻⁹. Estudios recientes muestran su utilidad como indicador de riesgo de progresión a TB en pacientes expuestos¹⁰. Sin embargo, se ha descrito que individuos con exposición frecuente a determinadas micobacterias ambientales, así como pacientes infectados con *M. leprae* e incluso individuos vacunados, pueden tener resultados positivos¹¹.

Estos resultados, limitantes y esperanzadores a la vez, justifican la necesidad de estandarizar los antígenos, desarrollar técnicas más sensibles y específicas, y realizar evaluaciones rigurosas para determinar su utilidad real. En este sentido, actualmente disponemos de 2 métodos comercializados para el diagnóstico de la infección tuberculosa: Quantiferon Gold (Cellestis, Australia) y T-SPOT-TB (Oxford Immunotec, Reino Unido). Ambos se basan en la estimulación de los linfocitos específicos mediante ESAT-6 y CFP-10, con la posterior detección de la producción de IFN- γ . Sin embargo, existen diferencias metodológicas que deben tenerse en cuenta. Quantiferon Gold estimula los linfocitos presentes en muestras de sangre total y determina la producción de IFN- γ mediante técnica de enzoinmunoanálisis, mientras que T-SPOT-TB requiere una separación previa de células mononucleares para su estimulación y determina la presencia de IFN- γ mediante ELISPOT.

Nuestro grupo de investigación está explorando las posibilidades reales de estas nuevas técnicas. Todavía no disponemos del tamaño de la muestra que pretendemos alcanzar para difundir los resultados. No obstante, con nuestros datos preliminares creemos que ambos métodos ofrecen resultados similares y constituyen alternativas reales a la tuberculina. La dificultad para la evaluación de estas técnicas radica en la inexistencia de un método de referencia con el que comparar los resultados, ya que la tuberculina no es totalmente específica. En estudios de contactos se ha visto que estas técnicas se relacionan mejor que la tuberculina con el grado de exposición a *M. tuberculosis* y que, además, la vacunación antituberculosa no interfiere en el resultado^{8,12}. Según nuestros datos preliminares de sensibilidad y especificidad, y teniendo en cuenta los procedimientos de las últimas versiones de las 2 técnicas, nuestra impresión es que serán apropiadas tanto para realizar estudios de contactos y de cribado como para efectuar estudios más concretos y específicos, entre otros, los siguientes: individuos inmunodeprimidos, población pediátrica y enfermos con TB.

La posible utilización de estas técnicas *in vitro*, como una prueba de laboratorio estandarizada, tendría indudables ventajas respecto a la prueba de la tuberculina: se evita la subjetividad en la interpretación de los resultados, la determinación puede repetirse inmediatamente si es necesario, la obtención de los resultados es rápida, se elimina la visita de lectura, se evita la pérdida de individuos que no acuden a la lectura, es de fácil estandarización y aplicación en el laboratorio, permite la inclusión de controles en todas las series para detectar respuestas por micobacterias ambientales, vacunación antituberculosa o pacientes anérgicos y, al realizarse en el laboratorio y no en un lugar visible como ocurre con la prueba de la tuberculina, no atenta contra la privacidad del paciente. Uno de los incon-

venientes principales puede ser el coste económico de estas técnicas, que en el momento actual supondría un mayor gasto que el que representa la utilización de la tuberculina. Sin embargo, estudios preliminares demuestran que, en términos globales de coste-efectividad (coste de una quimioprofilaxis no necesaria, coste de las horas laborales perdidas, etc.), el uso de estas nuevas técnicas supondría un menor coste para los sistemas de salud que la utilización de la tuberculina; esto sin tener en cuenta que el precio unitario de estas técnicas se reducirá paulatinamente a medida que aumente el consumo.

En resumen, la detección de la infección tuberculosa mediante la tuberculina es imperfecta, por lo que deben realizarse esfuerzos para la estandarización de técnicas *in vitro* basadas en la respuesta inmunológica del huésped frente al patógeno. Las técnicas actualmente exploradas se muestran como una alternativa real a la tuberculina. Discriminan a los individuos sensibilizados por *M. tuberculosis* de los que han recibido la vacuna anti-tuberculosa y a los expuestos a otras micobacterias. En nuestra experiencia, son fáciles de realizar en un laboratorio entrenado y suponen una simplificación para la estrategia del estudio de contactos de la TB.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. Consensus statement: WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 1999;282:677-86.
2. American Thoracic Society/Centers for Diseases Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Am J Respir Crit Care Med. 2000;161:S221-47.
3. Hirsch CS, Toossi Z, Othieno C, Johnson JL, Schwander SK, Robertson S, et al. Depressed T-cell interferon- γ responses in pulmonary tuberculosis: analysis of underlying mechanisms and modulation with therapy. J Infect Dis. 1999;180:2069-73.
4. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet. 2000;356:1099-104.
5. Mazurek G, LoBue P, Daley C, Bernardo J, Lardizabal A, Bishai W, et al. Comparison of a whole-blood interferon γ assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. JAMA. 2001;286:1740-7.
6. Belleste B, Coberly J, Barnes GL, Ko C, Chaisson RE, Comstock GW, et al. Evaluation of a whole-blood interferon-gamma release assay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in 2 study populations. Clin Infect Dis. 2002;34:1449-56.
7. Ewer K, Deeks J, Álvarez L, Bryant G, Waller S, Andersen P, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet. 2003;361:1168-73.
8. Lalvani A, Pathan A, McShane H, Wilkinson R, Latif M, Conlon C, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. Am J Respir Crit Care Med. 2001;163:824-8.
9. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon- γ -based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170:59-64.
10. Doherty TM, Demissie A, Olobo J, Wolday D, Britton S, Eguale T, et al. Immune responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. J Clin Microbiol. 2002;40:704-6.
11. Cardoso F, Antas P, Milagres A, Geluk A, Franken K, Oliveira E, et al. T-cell responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigen ESAT-6 in Brazilian tuberculosis patients. Infect Immun. 2002;70:6707-14.
12. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2004;4:761-76.