

Estudio comparativo del rendimiento de GeneXpertMTB/RIF en lavado broncoalveolar frente al lavado bronquial en pacientes con sospecha clínica de tuberculosis

Autores: Muñoz Luis¹, Gallego Claudio¹, Joza Karla¹, Marchetti Eliana², Cordoma Natalia², Poropat Alejandra¹, Armitano Rita Ines², Salomone César¹

Hospital General de Agudos Parmenio P. Piñero CABA

¹Servicio de Neumonología

²Laboratorio Central, Sección Bacteriología

Resumen

La Tuberculosis (TB) es una de las diez causas principales de muerte en el mundo, y la principal causa por un solo agente infeccioso. La detección precoz del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) y de mutaciones que confieren resistencia a los principales fármacos empleados en la terapia antituberculosa, contribuye a la disminución de la transmisión de la infección y consecuentemente a la expansión de la TB resistente. La prueba GeneXpertMTB/RIF, mediante ensayos de PCR en tiempo real identifica de manera simultánea el CMT y detecta las mutaciones más frecuentemente asociadas con resistencia a rifampicina.

El objetivo de este estudio es comparar el rendimiento del método *GeneXpertMTB/RIF* en lavado broncoalveolar (BAL) frente al lavado bronquial (LB) en pacientes inmunocompetentes con sospecha clínica de TB pulmonar, sin documentación microbiológica previa.

Materiales y Métodos: Se incorporaron prospectivamente pacientes con infiltrados radiológicos pulmonares compatibles con TB activa o residual sin tratamiento previo, con baciloscopia directa negativa o tos improductiva, para valoración de enfermedad activa. Se identificó el segmento más afectado mediante tomografía axial computada realizándose broncoscopia con BAL en dicho segmento, seguido de LB en todo el lóbulo afectado. Se consideró significativa una recuperación del BAL >40%. Las muestras obtenidas fueron procesadas para baciloscopia, cultivo y GeneXpertMTB/RIF. Se analizó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) tomando como referencia el cultivo en medio sólido para el diagnóstico del CMT.

Resultados: Se incorporaron 20 pacientes, se excluyeron 3 por no obtener una muestra representativa de BAL. Se estudiaron 17 pacientes (11 mujeres, 65%), edad 37.2 ± 16.3 años. Se identificó al CMT con métodos convencionales en 10 pacientes: 10 con cultivo positivo en LB y 9 en BAL.

Comparando con métodos convencionales, 6 de 17 muestras obtenidas mediante BAL fueron positivas con GeneXpertMTB/RIF: S = 60.0% (IC 31%-83%), E = 100% (IC 65%-100%), VPP = 100% (IC 61%-100%) y VPN = 64% (IC 35.4%-84.8%). Con LB, 9 de 17 fueron Xpert MTB/RIF positivas: S = 90.0% (IC 60%-98%), E = 100% (IC 65%-100%), VPP = 100% (IC 70%-100%) y VPN = 88% (IC 53%-98%). Todos los casos identificados con GeneXpertMTB/RIF fueron verdaderos positivos en relación con los cultivos convencionales.

Conclusión: Considerando al cultivo sólido como método de referencia, el LB resultó más sensible que el BAL para el diagnóstico de infección tuberculosa por el método de GeneXpertMTB/RIF en los pacientes con sospecha de TB sin documentación microbiológica previa.

Palabras clave: Tuberculosis; Lavado broncoalveolar; Estudio comparativo

Introducción

La tuberculosis (TB), enfermedad prevenible y curable, es una de las enfermedades infecciosas más extendida a nivel global, y constituye una importante amenaza para la salud pública. En todo el mundo existen aproximadamente 2.000 millones de personas infectadas por el Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Cada año casi 9 millones de personas desarrollan la enfermedad activa y 2 millones pierden la vida por su causa¹.

El diagnóstico microbiológico de la TB es complejo. La baciloscopia es una técnica rápida, sencilla y económica, pero con baja sensibilidad^{2,3}. Si bien el cultivo sigue siendo el método de referencia o estándar de oro para el diagnóstico de la TB en todas sus formas, ya que permite la identificación de género y especie, requiere laboratorios de mayor nivel con condiciones de infraestructura y equipamiento más exigentes y los resultados se obtienen tras 15 días y hasta 8 semanas de incubación de las muestras clínicas.

La detección precoz del CMT y de mutaciones que confieren resistencia a los principales fármacos empleados en la terapia antituberculosa, tiene gran impacto en el manejo, pronóstico y evolución de la enfermedad, además de contribuir a la disminución de la transmisión de la infección y consecuentemente a la expansión de la TB resistente¹⁻⁴.

En este punto en los últimos años han emergido diferentes técnicas de biología molecular, lo que ha acelerado notablemente el diagnóstico de la TB en comparación al uso de la baciloscopia y el cultivo.

La prueba GeneXpert[®]MTB/RIF se basa en la detección de ácidos nucleicos específicos del CMT mediante ensayos de PCR en tiempo real. De manera simultánea GeneXpert[®]MTB/RIF identifica el CMT y detecta las mutaciones en el gen *rpoB* que son más frecuentemente asociadas con la resistencia a rifampicina el cual constituye el fármaco más importante contra esta enfermedad. Es un proceso totalmente automatizado que permite obtener un diagnóstico en un plazo de dos horas². La OMS recomienda esta prueba para el diagnóstico inicial de TB¹⁻⁴.

En aquellos pacientes con sospecha clínica de TB y tos improductiva o baciloscopia negativa, se pueden obtener muestras respiratorias para análisis infeccioso mediante broncoscopia, proporcionando una confirmación diagnóstica precoz⁵⁻⁹.

La broncoscopia flexible es un procedimiento diagnóstico y terapéutico esencial en la medicina respiratoria^{6,7}. El lavado broncoalveolar (BAL) es la muestra broncoscópica de referencia para el estudio de enfermedades infecciosas que afectan al parénquima pulmonar^{8,9}, dejando al lavado bronquial (LB) como muestra complementaria debido a la posibilidad de contaminación con secreciones del tracto respiratorio superior.

Cuando el BAL no es accesible o las muestras obtenidas no resultan significativas para su análisis, surge el interrogante de considerar al LB como la muestra representativa para el estudio etiológico en las ocasiones previamente mencionadas.

El objetivo de este estudio es comparar el rendimiento del método GeneXpert[®]MTB/RIF en BAL frente al LB en pacientes inmunocompetentes con sospecha clínica de TB pulmonar, sin documentación microbiológica previa, con el fin de optimizar la utilización de los recursos diagnósticos.

Materiales y Métodos

Este estudio prospectivo y transversal, se realizó en el Servicio de Neumonología y el Laboratorio Central, sección Bacteriología del Hospital General de Agudos Parmenio Piñero, en el período comprendido entre junio de 2018 - diciembre de 2019.

Todos los procedimientos de broncoscopia fueron realizados por personal de la división de neumología. Utilizamos un videobroncoscopio de la serie 70K con un diámetro de 6,2 mm (modelo EB - 1970K, PEN-TAX). Mediante anestesia tópica se inspecciona todos los bronquios y segmentos pulmonares visibles, se recolectaron muestras del segmento pulmonar o subsegmento que mostraron lesiones anormales sugerentes de TB activo en la TCAR.

Para el BAL se instilaron de 100 a 120 ml de solución salina al 0.9% en cinco o seis alícuotas, la primera fue separada y adjuntada al LB. En el LB se realizó posterior al BAL, se instilo de 20-40 ml de solución salina al 0.9% en los otros segmentos pulmonares involucrados, se aspiró hasta que se recogieron de 20 a 30 ml de líquido en la trampa de aspiración, a lo que se agregó la primera alícuota obtenida con el BAL.

Fueron excluidos aquellos pacientes en los que durante el procedimiento no se pudo realizar BAL o en quienes la muestra obtenida no fue significativa. Se consideró significativa una recuperación del BAL > 40%. No presentamos complicaciones durante el procedimiento.

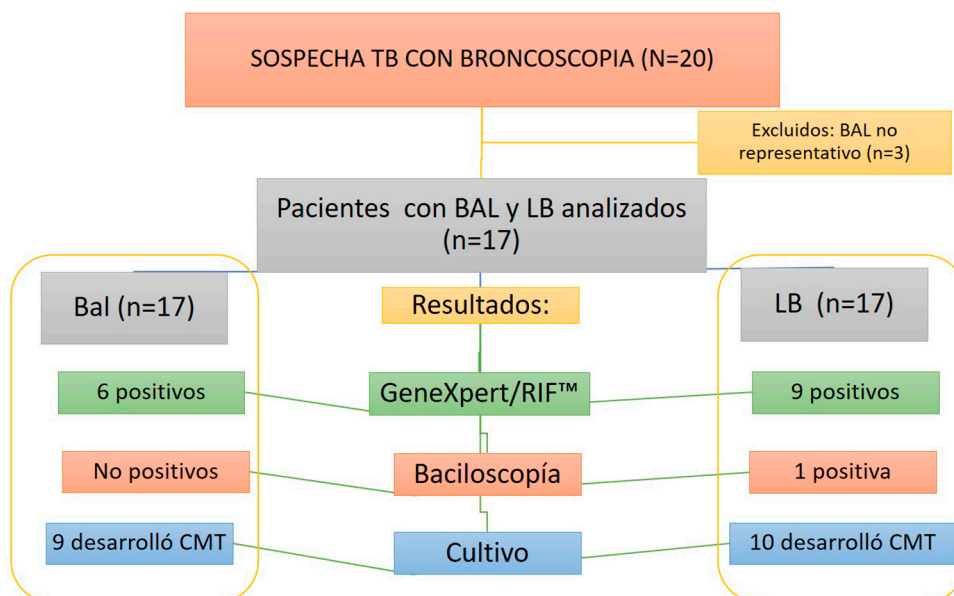
Las muestras obtenidas fueron divididas y derivadas para realizar estudios bacteriológicos y citológicos. En el servicio de bacteriología cada muestra fue fraccionada en dos: una de estas fue empleada para la identificación del CMT y detección de sensibilidad a rifampicina por GeneXpertMTB/RIF, mientras que la alícuota restante fue empleada para realizar de baciloscopia y cultivo en medio líquido (MGIT 960, Becton Dickinson-BD) y en medio sólido (Lowenstein Jensen y Stone Brink).

Se determinó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) tomando como método de referencia el cultivo en medio sólido, Löwenstein-Jensen y Stone Brink.

Resultados

De los 20 pacientes incorporados al estudio, 3 (15%) fueron excluidos debido al insuficiente volumen obtenido con el BAL (Figura 1).

Se estudiaron 17 pacientes (11 mujeres, 65%), con un promedio de edad 37.2 ± 16.3 años, la distribución por nacionalidad fue 10 (59%) argentinos, 6 (35%) bolivianos y uno (6%) peruano. La mayoría de los pacientes no presentaban comorbilidades ($n = 15$, 88%) y no tenían antecedentes de TB ($n = 16$, 95%). Las lesiones más frecuentes fueron infiltrados o consolidaciones en lóbulos superiores ($n = 17$, 100%).



BAL: lavado broncoalveolar; LB: lavado bronquial; CMT: Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

Figura 1. Flujo de pacientes incluidos en el análisis

La combinación de los resultados de las dos muestras BAL y LB permitió identificar 10 pacientes con CMT con métodos convencionales (uno con baciloscopia positiva en LB, 10 con cultivos positivos en LB y 9 en BAL), realizándose seguimiento clínico en el resto.

Para el BAL, 6 de 17 muestras obtenidas fueron positivas con GeneXpert *MTB/RIF*: S = 60.0%, E = 100%, VPP = 100% y VPN = 64%.

Con LB 9 de 17 fueron GeneXpert *MTB/RIF* positivas: S = 90.0%, E = 100%, VPP = 100% y VPN = 88%. Todos los casos identificados con GeneXpert *MTB/RIF* fueron verdaderos positivos en relación con los cultivos convencionales. Los resultados obtenidos se muestran en forma esquemática y con los intervalos de confianza en la Tabla 1.

En este estudio no se evaluó el valor del ensayo GeneXpert *MTB/RIF* para detectar la resistencia a la rifampicina en muestras FBC, aunque no se detectaron en los pacientes estudiados.

TABLA 1. Comparación del Rendimiento de Xpert *MTB/RIF*

| Muestras Broncoscopias | Referencia Cultivo-pos 10/17 | S % | E % | LR Positivo | LR Negativo | VPP % (IC) | VPN % (IC) |
|------------------------|------------------------------|-----|-----|-------------|-------------|--------------|------------|
| BAL | PCR-pos 6/17 | 60 | 100 | 0,6 | 0,4 | 100 (61-100) | 64 (35-85) |
| LB | PCR-pos 9/17 | 90 | 100 | 0,9 | 0,1 | 100 (70-100) | 88 (53-98) |

BAL = Lavado bronco alveolar; LB = Lavado bronquial, S = Sensibilidad, E = Especificidad, LR = Likelihood ratios

Discusión

El diagnóstico broncoscópico de la tuberculosis pulmonar se basa tradicionalmente en la baciloscopia y el cultivo del CMT. El estudio genómico mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, como el GeneXpert *MTB/RIF*, permite un diagnóstico rápido con alta sensibilidad.

Dado que las recomendaciones de la OMS sobre GeneXpert *MTB/RIF* solo se refieren a muestras de esputo, faltan más investigaciones sobre el uso de esta PCR en muestras broncoscópicas.

Le Palud et al., 2014 realizó un estudio observacional retrospectivo de la precisión diagnóstica del ensayo GeneXpert *MTB/RIF* en muestras de fibrobroncoscopia, donde el tipo de muestra quedó a criterio del especialista y en función de la tolerancia del paciente al procedimiento¹⁰.

En nuestro trabajo, el rendimiento diagnóstico del LB resultó superior al del BAL para identificar TB pulmonar activa. En relación con otros trabajos que analizan en forma individual el rendimiento del BAL^{11, 12} o del LB^{13, 14}, nosotros comparamos el rendimiento de GeneXpert *MTB/RIF* en BAL y LB realizados en un mismo procedimiento en pacientes con sospecha clínica de TB y consideramos al cultivo como método de referencia. Observamos que el BAL resultó ser menos sensible que el LB para diagnosticar de TB (60% frente 90%, respectivamente), con una misma especificidad (100%).

El lavado bronquial es referido en investigaciones realizadas en Japón (Kohno, Kurashima y Takano), India (Arshad, Gupta¹⁵) y Corea del Sur (Yoo, Song) como la muestra de referencia para el estudio de TB, utilizando al BAL en otras patologías respiratorias. Son centros con alta incidencia de TB.

Una limitación del trabajo es la pequeña muestra de individuos incluidos. Otra observación, respecto del procedimiento utilizado para la toma de muestras (LB posterior al BAL, incluyendo al mismo segmento valorado con este último), es que podría inferirse un aumento en el rendimiento diagnóstico del LB al incluir el material remanente del primero.

Conclusión

Considerando al cultivo sólido como método de referencia, el lavado bronquial resultó más sensible que el lavado broncoalveolar para el diagnóstico de infección tuberculosa por el método de GeneXpert *MTB/RIF* en los pacientes con sospecha de TB sin documentación microbiológica previa.

Bibliografía

1. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis - rapid diagnostics for tuberculosis detection. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. (<https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-3-diagnosis-rapid-diagnostics-for-tuberculosis-detection>) Mondoni M, Repossi A, Carlucci P, et al. Bronchoscopic techniques in the management of patients with tuberculosis. *Int J Infect Dis.* 2017; 64: 27-37.
2. Herráez O, Asencio-Egea M, Huertas M, et al. Cost-effectiveness study of the microbiological diagnosis of tuberculosis using geneXpert MTB/RIF®. *JM. Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017; 35: 403-10.
3. Mondoni M, Repossi A, Carlucci P, Centanni S, Sotgiu G. Bronchoscopic techniques in the management of patients with tuberculosis. *Int J Infect Dis.* 2017; 64: 27-37.
4. Herráez O, Asencio-Egea M, Huertas M, et al. Estudio de coste-efectividad del diagnóstico microbiológico de tuberculosis mediante geneXpert MTB/RIF®. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017; 35: 403-10.
5. Du Rand IA, Blaikley J, Booton R, et al. British Thoracic Society guideline for diagnostic flexible bronchoscopy in adults: accredited by NICE. *Thorax* 2013; 68 (Suppl 1): i1-i44.
6. Prakash UBS, Kato H. The flexible bronchoscope. In: Prakash U B S, editor. *Bronchoscopy*. New York: Raven Press, 1994: 156-157.
7. Castella J, Ancochea J, Llorente L, et al. Normativa SEPAR: lavado broncoalveolar. *Arch Bronconeumol* 1997; 33: 515-26.
8. De Gracia J, Curull V, Vidal R, et al. Diagnostic value of bronchoalveolar lavage in suspected pulmonary tuberculosis. *Chest* 1988; 93: 329-2.
9. Jafari C, Kessler P, Sotgiu G, et al. Impacto de una Mycobacterium tuberculosis ensayo de liberación de interferón γ específico de en líquido de lavado broncoalveolar para un diagnóstico rápido de tuberculosis. *J Intern Med* 2011; 270: 254-6.
10. Le Palud P, Cattoir V, Malbrun B, et al. Estudio observacional retrospectivo de precisión diagnóstica de la Xpert® MTB / RIF ensayo en fibra óptica broncoscopia de muestreo para el diagnóstico precoz de los pacientes frotis negativo de esputo o con escasez con sospecha de tuberculosis. *BMC Pulm Med.* 2014; 14: 137.
11. Tueller C, Chhajed PN, Buitrago-Tellez C, Frei R, Frey M, Tamm M. Value of smear and PCR in bronchoalveolar lavage fluid in culture positive pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J.* 2005; 26: 767-72.
12. Mondoni M, Sotgiu G, Bonifazi M, et al. Transbronchial needle aspiration in peripheral pulmonary lesions: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J.* 2016; 48: 196-204.
13. Chen N, Liu Y, Tsao T, et al. Combined bronchoalveolar lavage and polymerase chain reaction in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in smear-negative patients. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2002; 6: 350-5.
14. Lee JE, Lee BJ, Roh EY, Kim DK, Chung HS, Lee CH. La precisión diagnóstica del análisis de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real de la tuberculosis de muestras de lavado bronquial guiadas por tomografía computarizada. *Diagnóstico Microbiol Infect Dis.* 2011; 71: 51-6.
15. Wong CF, Yew WW, Chan CY, Au LY, Cheung SW, Cheng AF. Rapid diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis via fibreoptic bronchoscopy: utility of polymerase chain reaction in bronchial aspirates as an adjunct to transbronchial biopsies. *Respir Med.* 1998; 92: 815-9.
16. Altaf Bachh A, Gupta R, Haq I, Varudkar HG. Diagnosing sputum/smear-negative pulmonary tuberculosis: Does fibre-optic bronchoscopy play a significant role? *Lung India.* 2010; 27: 58-62.