

Diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Estado actual del conocimiento

Primera parte

Bacteriologic Diagnosis of Tuberculosis. Current State of Knowledge

First part

Símboli, Norberto Fabián¹; González, Claudio Daniel²

Grupo de Estudio Diagnóstico de TB

Amiano, Nicolás Oscar³; Armitano, Rita Inés⁴; Bisero, Elsa Delia⁵; Cerqueiro, María Cristina⁶; Duré, Roberto Miguel⁷; Fruhwald, Gladys Esther⁸; García, Verónica Edith³; González, Claudio Daniel²; González, Norma Edith⁹; Lombardero, Lorena Andrea⁵; Luque, Graciela Fabiana⁵; Melillo, Karina Claudia⁵; Símboli, Norberto Fabián¹

Recibido: 17/11/2021

Aceptado: 17/03/2022

Correspondencia

Claudio Daniel González
(claudiodgonzalez57@gmail.com)

DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS

Claudio D. González

Uno de los principales desafíos para los Programas de Control de Tuberculosis (PCT) lo constituye la detección temprana de formas abiertas de la enfermedad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que el desarrollo de un método de diagnóstico de tuberculosis (TB) que ofreciera un 85% de sensibilidad y un 95% de especificidad sobre muestras de esputo permitiría salvar unas 400 000 vidas al año.¹ En condiciones ideales, sería necesario, además, que un método accesible y preciso, aplicado en colectivos de mayor vulnerabilidad, pudiera aportar tanto a la identificación de especie como a su perfil de resistencia, en especial si este implicara un mayor riesgo de fracaso terapéutico.¹ En la última década, el desarrollo del sistema de diagnóstico GeneXpert MTB/RIF ha significado un gran avance en ese sentido. A un costo de USD 9,98 por determinación (en los 145 países subsidiados), el método permitió acercarse a los objetivos mencionados, es decir, la detección precoz de la TB y la detección de resistencia a rifampicina, usualmente tomada como un indicador de fracaso terapéutico.²⁻⁴

Desafortunadamente, la emergencia de la pandemia por el SARS-CoV-2 impactó negativamente sobre los logros obtenidos. Dos aspectos de la atención de pacientes con TB fueron afectados: uno, la provisión regular y completa de insumos para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad; el otro aspecto se refirió a las demoras y postergaciones en las consultas generadas por las medidas de confinamiento y distanciamiento social, adoptadas por la mayoría de los países.

Rev Am Med Resp 2022;22:249-259
<https://doi.org/10.56538/ramr.NNBE9983>

¹Servicio de Micobacterias del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

²Unidad Neumotisiología, Hospital General de Agudos José M. Ramos Mejía, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

³Investigador/a del CONICET. Laboratorio de Inmunidad y Tuberculosis del Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBI-CEN), Universidad de Buenos Aires (UBA) Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

⁴Laboratorio de Micobacterias. Hospital General de Agudos Parmenio Piñero. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

⁵Servicio de Pediatría. Sección Neumonología Infantil, Hospital Nacional Prof. Dr. Alejandro Posadas. El Palomar, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

⁶Consultora de la Sección Tisiología. Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

⁷Unidad de Broncoscopia Hospital de Infecciosas "Francisco J. Muñiz". Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

⁸Servicio de Neumonología de la Obra Social del Personal de Edificios de Renta y Horizontal (OSPERYH).

⁹Unidad Neumotisiología, Hospital General de Niños Pedro de Elizalde. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Algunos estudios, a través de modelos matemáticos, han estimado el impacto directo e indirecto de la pandemia sobre el funcionamiento de los PCT.⁵

El objetivo de este trabajo es el de revisar el estado del conocimiento actual sobre los métodos vigentes de diagnóstico de TB. Con el fin de agilizar la lectura, se divide este documento de actualización en tres publicaciones. Esta primera publicación incluye los métodos de diagnóstico dirigidos a identificar el agente causal y su perfil de sensibilidad, es decir, el *diagnóstico bacteriológico o de certeza*. La segunda entrega abordará los métodos que evalúan las respuestas del huésped ante el bacilo, esto es, el *diagnóstico no bacteriológico o presuntivo*, donde se incluyen algunos métodos aún bajo investigación. La tercera publicación se reservará al diagnóstico de TB en niños.

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS

Norberto Símboli

La Red Nacional de Laboratorios de Diagnóstico de Tuberculosis está organizada en una estructura piramidal donde cada nivel tiene requerimientos específicos de infraestructura y bioseguridad, las cuales son definidas por las actividades y métodos diagnósticos que se realizan en cada laboratorio. A medida que aumenta el nivel del laboratorio (1 a 3), las tecnologías se vuelven más avanzadas y, como resultado, las habilidades, la competencia y los requisitos de capacitación necesarios para el personal aumentan.⁶

Los métodos de diagnóstico se estratifican en los tres niveles de laboratorio, de acuerdo con el nivel de riesgo de cada procedimiento, la situación epidemiológica de la enfermedad y los recursos disponibles.⁶ Siguiendo dicho ordenamiento, este documento tiene como propósito revisar el estado del conocimiento actual sobre las técnicas disponibles y ofrecer un abordaje inicial hacia métodos de diagnóstico bacteriológico aún en desarrollo. Los niveles mencionados de complejidad son los siguientes:

1. PRIMER NIVEL DE COMPLEJIDAD

Corresponde a los laboratorios periféricos ubicados, en algunos casos, en centros de salud, que ofrecen examen directo de esputo (ED) por la técnica de Ziehl Neelsen (ZN) y cultivo en medio Kudoh-Ogawa (KO).

Actualmente se está incorporando el sistema de diagnóstico GeneXpert MTB-RIF, TB-LAMP (*loop-mediated isothermal amplification*) y el LF-LAM (*lateral flow lipoarabinomannan assay*).⁶

2. SEGUNDO NIVEL DE COMPLEJIDAD

Se incluyen aquí laboratorios de hospitales locales o regionales con capacidad para realizar todas las actividades del nivel 1 mencionadas, más cultivo en medios sólidos o líquidos, identificación del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) y pruebas de sensibilidad (PS) a drogas de primera línea (isoniacida y rifampicina), a los que se suman aquellos con capacidad para realizar FL-LPA (*line probe assay* para drogas de primera línea) y SL-LPA (*line probe assay* para drogas de segunda línea), siempre a partir de muestras de esputo con baciloscopia positiva.⁶

3. TERCER NIVEL DE COMPLEJIDAD

Está integrado por laboratorios de referencia nacional, provincial o laboratorios especializados que cuentan con los recursos para realizar, además de los estudios citados en los otros dos niveles, PS a drogas de segunda línea y técnicas moleculares complejas.

1. PRIMER NIVEL DE COMPLEJIDAD

Examen directo (ED)

Desde hace tiempo los países con recursos limitados se han basado en la microscopia como método principal para detectar el *M. tuberculosis*. Si bien es económico y requiere unas condiciones mínimas de bioseguridad, el ED posee una limitada sensibilidad, especialmente en pacientes que viven con VIH/sida y en niños menores de 5 años, y no proporciona información sobre el perfil de resistencia a drogas de los bacilos.⁷ A pesar de que la microscopia no es capaz de diferenciar *M. tuberculosis* de otras micobacterias, en los países con alta endemia de TB, una baciloscopia positiva de una muestra respiratoria de un paciente inmunocompetente tiene muy alto valor predictivo para el diagnóstico de TB.⁷

La coloración de ZN ha sido la técnica más empleada para el diagnóstico de TB en los países de

América Latina.⁷ Comparada con la microscopia de fluorescencia (MF), la microscopia convencional tiene como ventaja que requiere un entrenamiento más sencillo, ya que la capacidad de identificar el bacilo por esta metodología es más fácil de adquirir. Además, el ED a través de la coloración de ZN continúa siendo, en nuestro país, un recurso útil en la pesquisa de TB entre sintomáticos respiratorios (SR), esto es, personas con tos y expectoración por más de dos semanas.⁷

En 2011, la OMS recomendó el uso de la MF con lámpara LED. La MF es, al menos, 10% más sensible que la microscopia convencional de ZN.⁸ Dado que reduce el tiempo necesario para la realización de la lectura y requiere personal adiestrado, está especialmente recomendada para laboratorios con alta carga de trabajo. Comparado con la MF convencional (con lámpara de mercurio), la MF con lámpara LED ofrece considerables ventajas operativas porque tiene una elevada vida útil, no genera calor y no tiene los riesgos de contaminación del ambiente en caso de rotura. De ser adoptado este método en lugar de ZN, el centro debería complementar los requisitos técnicos exigidos por la OMS y el correspondiente monitoreo externo de calidad.⁸ En los últimos años, están disponibles pruebas rápidas y sensibles basadas en métodos moleculares para reemplazar o complementar la microscopia.

Cultivo por el método de Kudoh-Ogawa

Los laboratorios sin condiciones adecuadas para cultivar con métodos que requieren centrifugación y que se encuentran alejados de un laboratorio de referencia o que no cuentan con un sistema de transporte frecuente de muestras pueden sembrar las muestras empleando el método de Kudoh-Ogawa y enviar los tubos sembrados al laboratorio de referencia.⁹

Método GeneXpert MTB/RIF- MTB/ULTRA- Xpert XDR

El desarrollo del ensayo Xpert[®] MTB/RIF para la plataforma GeneXpert se completó en 2009 y se considera un avance importante en la lucha contra la TB. Por primera vez, una prueba molecular es lo suficientemente simple y robusta como para ser introducida y utilizada fuera de los entornos de los laboratorios convencionales.¹⁰

Detecta el Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) y también las mutaciones más frecuentes, que confieren resistencia a la rifampicina usando tres cebadores específicos y cinco sondas molecu-

lares únicas para asegurar un alto grado de especificidad. Es un sistema automatizado cerrado de extracción y amplificación en tiempo real. Permite detectar CMTB en un gran número de muestras clínicas en 2 h con un límite de detección de 114 ufc/mL, y razonables condiciones de accesibilidad, costo y seguridad.^{2, 3, 10}

Es una prueba rápida y sencilla que puede ser utilizada en laboratorios con infraestructura mínima y permite incrementar la detección de casos de TB en comparación con la microscopia. Esto resulta ventajoso a la hora de disminuir la inversión en infraestructura y equipamiento en los servicios de salud. Se suman otros beneficios para la salud pública, como la posible reducción en la transmisión secundaria de cepas resistentes, aspecto que adquiere especial relevancia en el contexto de la epidemiología de tuberculosis multirresistente (TB-MR) en nuestro país, en el cual el mayor impulso generador de TB-MR está asociado a la transmisión de cepas en la comunidad.¹¹

En muestras pulmonares, cuando se considera entre distintos estudios su sensibilidad y su especificidad agrupadas (*overall pooled sensitivity-specificity*) frente al ED, su rendimiento alcanzó 88% y 99%, respectivamente.²⁻⁴ Sobre muestras de esputo ED/cultivo positivas, la sensibilidad fue del 98%, mientras que sobre aquellas ED negativas/cultivo positivo, la sensibilidad agrupada fue del 80%. Este desempeño, tanto reemplazando al ED como prueba inicial o frente a muestras ED negativas, permitiría mejorar en un 30% la detección por baciloscopia con respecto a la técnica de ZN, y reduciría considerablemente el tiempo de inicio del tratamiento.¹² Este rendimiento se extiende también al colectivo de pacientes que conviven con VIH, duplicando la tasa de detección de TB en esa población, donde el rendimiento global alcanzó al 79%.^{2, 3}

Con el mismo cartucho el sistema ofrece una segunda utilidad, la de realizar la prueba de sensibilidad (PS) a la rifampicina, que alcanza una sensibilidad y especificidad agrupadas del 95% y el 99%, respectivamente.^{2, 3}

Por otra parte, sobre muestras extrapulmonares de adultos y niños, la sensibilidad y especificidad agrupadas más altas del Gene-Xpert frente al cultivo se alcanzaron en muestras ganglionares (84,9% y 94,2%, respectivamente), seguidas por las de lavado gástrico y aspirado (83,8% y 98,1%, respectivamente), de líquido cefalorraquídeo (79,5%

y 98,6%), y por último de líquido pleural (43,7% de sensibilidad y 98,1% de especificidad agrupadas, respectivamente).^{2, 3}

El Xpert[®] MTB/RIF Ultra ha sido desarrollado como ensayo de nueva generación para superar las limitaciones del Xpert MTB/RIF y utiliza la misma plataforma GeneXpert[®].¹³

Para mejorar la sensibilidad para la detección de CMTB, el Xpert Ultra incorpora dos blancos multicopia diferentes de amplificación (IS6110 e IS1081) y una cámara de reacción de ADN más grande que Xpert MTB/RIF (reacción de PCR de 50 µL en Ultra versus 25 µL en Xpert MTB/RIF).¹³

También incorpora una amplificación anidada de ácido nucleico, ciclos térmicos más rápidos y fluidos y enzimas mejorados. Esto ha resultado que el Xpert Ultra tenga un límite de detección de 16 ufc/mL (comparado a 114 ufc/mL del Xpert MTB/RIF). Para mejorar la precisión de la detección de resistencia a rifampicina, el Ultra incorpora análisis basado en la temperatura de fusión en lugar de una PCR en tiempo real. Específicamente, cuatro sondas identifican mutaciones de resistencia a rifampicina en la región determinante del gen *rpoB*, las que cambian su temperatura de fusión respecto de la temperatura de referencia del tipo salvaje.¹³

La investigación de TB con cartuchos MTB/RIF ha demostrado consistentemente ser más sensible que la baciloscopia. La versión Ultra de los cartuchos de Xpert MTB/RIF es aún más sensible, especialmente en muestras ED negativas cultivo positivo y en muestras de pacientes con VIH, pero menos específica que la versión anterior, sobre todo entre pacientes con antecedentes de tratamiento para TB.⁹

Entre las personas con TB y TB resistente a la rifampicina (TBRR), se deben realizar con prontitud pruebas adicionales de resistencia al menos a la isoniacida y las fluoroquinolonas, respectivamente, para guiar las decisiones de tratamiento.

En 2020, la OMS encargó una revisión sistemática de los datos publicados y no publicados sobre tres clases de pruebas de amplificación de ácidos nucleicos que no habían sido revisadas previamente por esa organización.¹⁴ Una de ellas fue el nuevo cartucho MTB/XDR, en el que se observó una excelente sensibilidad y especificidad para detectar rápidamente la resistencia a isoniacida, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Recientemente la OMS recomendó el uso del cartucho para la detección rápida de mutaciones

que confieren resistencia a estas drogas.¹⁴ Esta recomendación se basó en el análisis de tres estudios que incluyeron muestras de esputos de 1605 participantes. De este análisis, resultó que la sensibilidad combinada general de este cartucho (IC del 95%) para la detección de resistencia a la isoniacida fue del 94,2% (89,3% al 97,0%) y la especificidad fue del 98,0% (95,2% al 99,2%). La sensibilidad combinada general (IC del 95%) para la detección de resistencia a las fluoroquinolonas fue del 93,1% (88,0% al 96,1%) y la especificidad fue del 98,3% (94,5% al 99,5). La sensibilidad global combinada (IC del 95%) para la detección de resistencia a la amikacina fue del 89,1% (80,9% al 94,1%) y la especificidad fue del 99,5% (96,9% al 99,9%). La PS fenotípica se utilizó como estándar de referencia para las tres estimaciones mencionadas anteriormente. La sensibilidad general (IC del 95%) para la detección de resistencia a la etionamida fue del 96,4% (92,2% al 98,3%) y la especificidad fue del 100,0% (82,5% al 100,0%). La secuenciación génica de la región promotora *inhA* se utilizó como estándar de referencia para la detección de resistencia a la etionamida.¹⁴

El sistema Xpert en todas sus formas de presentación puede ser implementado en laboratorios de baja complejidad, con las mismas condiciones que se requieren para realizar la baciloscopia.

Recomendaciones sobre la utilización del Xpert MTB/Rif y ULTRA:

La OMS recomienda el uso del Xpert MTB/RIF y Xpert Ultra como pruebas iniciales en adultos y niños con signos y síntomas de TB pulmonar y extrapulmonar basado en la evidencia científica actual.¹⁵

Como al momento de la realización de este consenso en nuestro país existe un limitado acceso a pruebas rápidas moleculares debido a la escasa disponibilidad de equipos Gene-Xpert, esta prueba está *recomendada* principalmente para su uso en los siguientes colectivos:

- I. Pacientes adultos o pediátricos con alta sospecha clínica y epidemiológica de TB y con riesgo de multirresistencia (recomendación fuerte).
- II. Pacientes adultos o pediátricos con alta sospecha clínica y epidemiológica de TB o TBMR y que conviven con el VIH (recomendación fuerte).
- III. Pacientes adultos o pediátricos con alta sospecha clínica y epidemiológica de TB meníngea (recomendación fuerte).
- IV. Pacientes adultos o pediátricos con alta sospecha clínica de TB extrapulmonar (recomendación condicional).¹⁵

Como indicación se plantea su uso en los siguientes casos:

- a) Muestras respiratorias de pacientes (adultos o pediátricos) que presentan signos y síntomas compatibles con TB y con mayor riesgo de tener TB resistente: personas que conviven con el VIH, inmunosuprimidos, personal de salud, contacto de paciente con TB-RR o TBMR, pacientes con antecedentes de tratamiento con drogas antituberculosas con más de 1 año de finalizado el tratamiento.
- b) Muestras de líquido cefalorraquídeo, aspirado de nódulo linfático, líquido sinovial, líquido pleural, líquido peritoneal, líquido pericárdico, orina y biopsias provenientes de pacientes (adultos o pediátricos) con alta sospecha clínica o epidemiológica de TB extrapulmonar.¹⁵

Estas recomendaciones son sometidas a revisiones periódicas, en la medida en que progrese el desarrollo tecnológico y se produzca evidencia científica que lo justifique.

Se recomienda el uso del cartucho Xpert MTB / XDR en muestras de esputo de personas con TBRR.

Truenat MTB, MTB Plus y MTB-Rif DX

Este es un nuevo método molecular desarrollado en India que puede ser utilizado en el mismo nivel de laboratorio que el Gene-Xpert. Se basan en una micro-PCR en tiempo real que permite la detección del CMT y su resistencia a la rifampicina a partir de una muestra de esputo en menos de 1 h. El Truenat MTB y el MTB Plus pueden ser usados como prueba diagnóstica inicial en adultos y niños con signos y síntomas de TB pulmonar, mientras que el MTB-RIF Dx es usado como una prueba para detectar resistencia a la rifampicina en aquellas muestras con resultados positivos en la prueba inicial.¹⁶

TB-LAMP (Loop-mediated isothermal amplification/ amplificación isotérmica mediada por enlace de ácidos nucleicos)

El TB-LAMP es un ensayo molecular comercial basado en amplificación isotérmica mediada por bucle y requiere una mínima infraestructura de laboratorio y requisitos de bioseguridad.¹⁷ Ha sido evaluado como una prueba rápida (<2 h) en el punto de atención como una alternativa al ED de esputo, que sigue siendo la prueba de diagnóstico primaria para TB pulmonar en entornos con recursos limitados.

En enero de 2016, la OMS convocó una reunión al Grupo de Desarrollo de Directrices (GDG), para

revisar la evidencia de los estudios publicados desde el 2012 hasta ese momento.¹⁷ La revisión incluyó todos los estudios prospectivos que evaluaron el ensayo TB-LAMP en muestras de esputo de adultos con signos y síntomas compatibles con TB pulmonar que se realizaron en un entorno de carga de TB intermedia o alta. De esta revisión, la cual incluyó veinte estudios (4760 pacientes adultos), el TB-LAMP resultó con una sensibilidad combinada 15% mayor que el ED para detectar TB pulmonar en adultos (el 78% en comparación con el 63%), aunque la especificidad combinada fue un 2% más baja (el 98% en comparación con el 100%). Esto puede explicarse en parte por la identificación de casos de TB que se clasificaron erróneamente como TB negativos mediante el uso de cultivos de referencia. Entre adultos que viven con VIH y signos y síntomas de TB pulmonar, la evaluación de la precisión de TB-LAMP demostró una sensibilidad y especificidad similar al ED de esputo (64% y 62%) y (99% y 99%), respectivamente.¹⁷

De acuerdo con esta evaluación de la evidencia y considerando los costos y beneficios asociados con el uso de TB-LAMP, la OMS lo recomienda para ser utilizado solo en muestras de esputo en alguna de las dos formas siguientes:

- a) Como prueba de reemplazo de la baciloscopia para el diagnóstico de TB pulmonar en adultos con signos y síntomas compatibles con TB (condicional recomendación, evidencia de muy baja calidad).
- b) Como prueba adicional al ED en adultos con signos y síntomas consistentes con TB pulmonar, especialmente cuando los ED de esputo son negativos (recomendación condicional, evidencia de muy baja calidad).

En nuestro país, aún este método no se encuentra disponible.

LF-LAM (lateral flow lipoarabinomannan assay/inmunocromatografía de flujo lateral de lipoarabinomananos)

Las pruebas basadas en la detección del antígeno micobacteriano lipoarabinomanano (LAM) en la orina han surgido como posibles pruebas rápidas en el punto de atención para el diagnóstico de la TB.¹⁸ El antígeno LAM es un lipopolisacárido presente en las paredes celulares de las micobacterias, que se libera de células bacterianas metabólicamente activas o en degeneración y parece estar presente solo en personas con TB activa. Esta prueba tendría ventajas sobre las basadas en esputo porque la orina es fácil de recolectar y

almacenar, y carece de los riesgos de control de infecciones asociados con la recolección de esputo.¹⁸

El ensayo de detección de LAM en orina a través de una inmunocromatografía de flujo lateral se encuentra comercialmente disponible. La prueba se realiza manualmente aplicando 60 μL de orina a la tira reactiva e incubando a temperatura ambiente durante 25 min. Luego, la tira se inspecciona visualmente. La intensidad de cualquier banda visible en la tira reactiva se clasifica comparándola con las intensidades de las bandas en una tarjeta de referencia proporcionada por el fabricante.¹⁸

Varios estudios y metaanálisis de una prueba de una generación anterior (LAM-ELISA), han demostrado una buena sensibilidad de la detección del LAM urinario en presencia de coinfección VIH-TB, la cual aumenta aún más cuando los recuentos de LTCD4⁺ son más bajos. Este hallazgo contrasta con los métodos de diagnóstico tradicionales para la TB en pacientes con VIH. Varias hipótesis pueden explicar la mayor sensibilidad de la detección de LAM en orina en pacientes con inmunosupresión relacionada con el VIH: una mayor carga bacilar y de antígeno, una mayor probabilidad de TB en el tracto genitourinario y una mayor permeabilidad glomerular para permitir un aumento de niveles de antígeno en la orina.¹⁸

Estudios publicados han informado tasas de mortalidad mucho más altas en pacientes con VIH

con recuentos bajos de LTCD4⁺ que tienen LAM urinario detectable en comparación con individuos LF-LAM negativos.¹⁸ Dado el potencial del ensayo para ayudar a reducir la mortalidad en personas que viven con el VIH, que la prueba es fácil de realizar y que requiere una infraestructura mínima de bioseguridad, la OMS encargó una revisión sistemática del uso del ensayo LF-LAM para el diagnóstico y detección de TB activa en personas que viven con el VIH. Luego de esa revisión la organización realizó las siguientes *recomendaciones de uso*:^{15, 18}

- Excepto para las personas con infección por VIH con bajo recuento de LTCD4⁺ o que están gravemente enfermos, LF-LAM NO DEBE utilizarse para el diagnóstico de TB (fuerte recomendación, evidencia de baja calidad).
- LF-LAM se puede utilizar para ayudar en el diagnóstico de TB en pacientes con VIH y con signos y síntomas de TB (pulmonar o extrapulmonar) que tienen un recuento de células LTCD4⁺ menor o igual o superior a 100 células/ μL , o pacientes VIH positivos que están gravemente enfermos independientemente del recuento de LTCD4⁺ o con recuento desconocido (recomendación condicional; evidencia de baja calidad).

En la Tabla 1 se resumen los métodos de diagnósticos correspondientes a este nivel.

TABLA 1. Métodos de diagnóstico correspondientes al primer nivel de complejidad

| Método | Indicaciones | Ventajas | Limitaciones |
|------------------------|---|---|--|
| ED por ZN | Sintomáticos respiratorios | Accesibilidad y bajo costo. Rapidez | Baja sensibilidad |
| ED por MF LED | Sintomáticos respiratorios. Centros con alta carga de muestras | Mayor sensibilidad que la técnica de ZN. Rapidez | Se requiere personal altamente entrenado |
| Cultivo de Kudoh-Ogawa | Laboratorios sin equipamiento adecuado. | Accesibilidad y bajo costo | Recomendado solo para muestras de esputo |
| XPERT-TB | Diagnóstico de TB y TBRR como prueba inicial | Rapidez. Alta sensibilidad para detectar CMTB en muestras de distintos orígenes. Alta sensibilidad para detectar TBRR | Costo relativo. Requiere un sistema de alimentación ininterrumpida de electricidad (UPS) y temperatura ambiente controlada |
| XPERT-TB Ultra | Diagnóstico de TB y TBRR como prueba inicial | Mayor sensibilidad en ambas funciones | Iguals limitaciones |
| XPERT- MTB/XDR | Diagnóstico de TBMR y TBXDR | Aporta perfil de resistencia a H, FQ aminoglucósidos y etionamida | Iguals limitaciones |
| TB-LAMP | Diagnóstico de TB pulmonar como reemplazo del ED | Rapidez. Mayor sensibilidad que el ED | No disponible aún en nuestro país. Recomendado solo para esputo |
| LF-LAM | Complemento diagnóstico solo en pacientes VIH con bajos LTCD4 ⁺ o con formas graves. | Sencillez. Seguridad | Uso restringido a pacientes inmunocomprometidos |

ED: Examen directo. **ZN:** Técnica de Ziehl-Neelsen. **MF:** Técnica de fluorescencia. **TBRR:** Tuberculosis resistente a rifampicina **CMTB:** Complejo *Mycobacterium Tuberculosis*. **UPS:** *Uninterruptable Power Supply*. **TBMR:** Tuberculosis Multirresistente. **TBXDR:** Tuberculosis Extensamente Resistente. **H:** Isoniacida. **FQ:** Fluoroquinolona. **TB-LAMP:** Técnica de amplificación isotérmica mediada por enlace de ácidos nucleicos. **LF-LAM:** Inmunocromatografía de flujo lateral de lipoarabinomananos. **VIH:** Virus de inmunodeficiencia humana. **LTCD4+:** Conteo de linfocitos CD4+

2. SEGUNDO NIVEL DE COMPLEJIDAD

Cultivo

Como se expresó con anterioridad, el ED sigue siendo la prueba de diagnóstico primaria para TB pulmonar en entornos con recursos limitados.

El cultivo complementa al ED, ya que permite evidenciar bacilos viables presentes en escasa cantidad en una muestra de lesión, caracterizarlos y conocer si es sensible o resistente a las drogas antituberculosas. El rol del cultivo es más importante en escenarios con mediana o baja incidencia de TB, con alta coinfección del bacilo de la TB y VIH y con carga mediana o alta de TBMR.¹⁹

Mediante el cultivo es posible incrementar la confirmación del diagnóstico de TB en aproximadamente 15%-20% del total de casos y en 20%-30% de los casos de TB pulmonar. Si se considera el total de casos con diagnóstico de TB pulmonar confirmado bacteriológicamente, la baciloscopia detecta el 70%-80% y el cultivo, el restante 20-30%.¹⁹

El cultivo en medio sólido continúa usándose como testigo frente a los medios de cultivos líquidos y automatizados más modernos y mantiene su condición de método de referencia frente a otros sistemas de diagnóstico. El medio sólido tiene la ventaja de ser económico pero la detección del desarrollo es más tardía.

Métodos de cultivo en medio líquido

La principal ventaja de estos sistemas frente al cultivo tradicional sigue midiéndose en la rapidez de los resultados. Estos métodos utilizan, o bien, un sistema colorimétrico para informar del crecimiento bacteriano (MB Bact Alert), o bien, la detección de oxígeno consumido detectado por fluorescencia (MGIT 960). Para muestras de sangre y médula ósea, se realiza la técnica de lisis-centrifugación para hemocultivos.⁷

La utilización de estos medios exige condiciones de bioseguridad diferentes respecto a los medios sólidos, aunque pueden ser utilizados en este nivel de complejidad si se cuenta con esas condiciones.

Indicaciones del cultivo

a) Dado que las lesiones en niños suelen ser paucibacilares, como recomendación de fortaleza se sugiere que todas las muestras pediátricas deben cultivarse, ya que aportan un 20% de rendimiento sobre el ED.³ Se incluyen en la indicación, las siguientes muestras respiratorias por orden de preferencia: esputo, aspirado gástrico en niños

SR con radiografía (Rx) de tórax patológica, esputo inducido, lavado broncoalveolar y broncoaspirado; entre las muestras no respiratorias, el contenido de cavidades serosas y el de biopsias.³

b) Muestras de pacientes sintomáticos, con signos clínicos o Rx u otras imágenes compatibles con TB y alguna de las siguientes características:

- Baciloscopia negativa de tres muestras respiratorias.
- Localización extrapulmonar de la enfermedad.
- Pacientes inmunosuprimidos, particularmente VIH positivos.
- Baciloscopia positiva en lavado gástrico, lavado bronquial o hisopados.
- Antecedentes de tratamiento antituberculoso, especialmente si se registró pérdida de seguimiento o fracaso.
- Exposición a infección por bacilos resistentes a las drogas (contactos de casos con TB resistente, internados o trabajadores de instituciones de salud o de prisiones donde se registran casos con TB-MR).^{7, 19}
- Como complemento de las pruebas rápidas diagnósticas cuando son utilizadas como primera prueba diagnóstica.

Pruebas de sensibilidad a drogas de primera línea (H y R). Pruebas fenotípicas

En este nivel de complejidad, el método de las proporciones en medio de Löwenstein-Jensen (método de Canetti, Rist y Grosset) continúa aportando la reconocida sencillez y confiabilidad que le ha valido su consideración como método de referencia frente a los métodos genotípicos de base molecular. Es un método económico, pero tiene la desventaja que para obtener un resultado de sensibilidad se demora entre 30 a 40 d.

Una alternativa económica para acelerar los resultados es el ensayo de nitrato reductasa (NRA). Idealmente, el método debe ser realizado directamente con muestras ED positivo recién recolectadas o en cuanto se obtiene desarrollo en el primocultivo. Esta prueba cuenta con el aval de la OMS por considerarse una PS accesible y eficaz para la determinación de resistencia a las drogas isoniacida y rifampicina.¹⁹

Otra alternativa, aunque más costosa, es la utilización de medios de cultivos líquidos (MGIT) que permiten acelerar los resultados, ya que emplean equipos semiautomatizados que detectan el desarrollo antes que sea visible.¹⁹

Indicaciones de PS

Idealmente, todos los casos con diagnóstico de TB confirmado bacteriológicamente deben tener acceso a la PS, al menos para los fármacos que son claves para el éxito del tratamiento (H y R). Esto requiere garantizar el acceso universal a las pruebas rápidas recomendadas (Xpert, LPAS, etc.). En el proceso que lleva a alcanzar este objetivo, se debería priorizar la realización de la PS para los casos con las siguientes características que elevan el riesgo de resistencia a los fármacos.⁷

- a) Falla de tratamiento.
- b) Antecedentes de tratamiento previo, irregularidad en el cumplimiento de un tratamiento o prescripción de un esquema incompleto o inadecuado.
- c) Exposición a infección por TB resistente a los fármacos.
- d) Niños.
- e) Pacientes inmunosuprimidos (personas que viven con VIH y o diabetes, etcétera).
- f) Residencia anterior en países con alto nivel de resistencia a fármacos (Ecuador, Perú, algunos países asiáticos y de Europa del Este).
- g) Personas que abusan del alcohol o drogas.

Nuevas plataformas

Las nuevas tecnologías de detección rápida de la TB y la resistencia a la rifampicina están cada vez más disponibles y adoptadas por los países. Son varios los fabricantes que han desarrollado plataformas automatizadas para la detección de TB y la resistencia a isoniacida y rifampicina (Abbott, Becton Dickinson, Roche, Hain Lifescience/Bruker) basadas en la amplificación de ácidos nucleicos.²⁰

Las pruebas que pertenecen a esta clase son más rápidas y menos complejas de realizar que las pruebas de sensibilidad fenotípicas a fármacos basadas en cultivos y los ensayos de sonda de línea (LPA). Tienen la ventaja de ser en gran parte automatizadas y se pueden utilizar como prueba inicial para la detección de TB y la resistencia a ambos medicamentos de primera línea simultáneamente (rifampicina e isoniacida). Ofrecen resultados precisos en forma rápida y porque pueden procesar un gran número de muestras son adecuados para laboratorios de mediana y alta carga de pruebas de sensibilidad. Por tanto, estas tecnologías son adecuadas para áreas con una alta densidad de población y sistemas rápidos de referencia de muestras.²⁰ En la Tabla 2, se resumen los métodos de diagnósticos correspondientes a este nivel.

TABLA 2. Métodos de diagnóstico correspondientes al segundo nivel de complejidad

| Método | Indicaciones | Ventajas | Limitaciones |
|----------------------------|--|-------------------------------|---|
| Cultivo en medios sólidos | Identificación de micobacterias en contextos de mediana- baja incidencia de TB y mediana de TBMR. Muestras de formas paucibacilares o pulmonares negativas al ED Niños. Inmunocomprometidos | Alta sensibilidad. Bajo costo | Demora 4-8 semanas para obtener resultados. Requiere la implementación de estrictas medidas de bioseguridad |
| Cultivo en medios líquidos | Pacientes con tratamiento previo, exposición a casos de TBMR, o procedencia de un país con alta prevalencia de TBMR | Mayor sensibilidad y rapidez | Mayor costo. Mayor riesgo de contaminación, requiere la implementación de estrictas medidas de bioseguridad |
| PS fenotípicas a HR | | | |
| Proporciones en LJ | Fallo terapéutico o con tratamiento previo. Niños. Inmunocomprometidos. Exposición a focos de TBMR conocida o procedencia de países con alta incidencia | Bajo costo | Demora 3-4 semanas a partir de aislamiento. Requiere la implementación de estrictas medidas de bioseguridad |
| NTA | Estudio de resistencia bacteriana a RH sobre muestras de ED | Sencillez. Rapidez | Requiere la implementación de estrictas medidas de bioseguridad |
| MGIT | Estudio de resistencia bacteriana a RH sobre muestras de cultivo | Alta sensibilidad. Rapidez | Costo relativo. Implementación de estrictas medidas de bioseguridad |

TBMR: Tuberculosis multirresistente; **ED:** Examen directo; **PS:** Pruebas de sensibilidad; **R:** Rifampicina; **H:** Isoniacida; **LJ:** Medio de Löwenstein-Jensen; **NTA:** Ensayo de nitratasa; **MGIT:** Método de crecimiento de micobacterias en tubo.

3. TERCER NIVEL DE COMPLEJIDAD

Identificación de especie. Pruebas de sensibilidad a drogas de primera y segunda línea

Pruebas fenotípicas para identificación de especie

Además del sistema tradicional de identificación de especie en cultivos de medios sólidos, existe una inmunocromatografía de flujo lateral que identifica cualitativamente el Complejo *M. tuberculosis* a partir de los cultivos líquidos positivos. Este sistema detecta una proteína (MPT64) segregada por las bacterias al medio de cultivo. Es una técnica simple, rápida, de bajo costo y alta sensibilidad y especificidad; como desventajas, no permite diferenciar entre especies de ese complejo y sus resultados deben contextualizarse con la información clínica.¹⁹ También pueden emplearse para la identificación del CMTB en cultivos de medios sólidos positivos.

Prueba de sensibilidad fenotípica a drogas de primera y segunda línea

La PS indirecta a través del método de las proporciones utilizando medios sólidos es el método más común para probar la sensibilidad de los aislamientos de *M. tuberculosis*.

La utilización del sistema BACTEC-MGIT es el método preferido para realizar la PS a muchos agentes antibacilares, dada la estandarización de los medios e instrumentos MGIT. Este sistema de lectura automatizada es el más ampliamente utilizado en este nivel de complejidad, ya que acorta sensiblemente los tiempos de detección de resistencias a rifampicina e isoniacida, con sensibilidad del 95%-98%.² La desventaja de este sistema para la detección de resistencia a etambutol, pirazinamida y estreptomycin (esta droga ya no se utiliza en el tratamiento, pero, en ciertas ocasiones, es necesaria su incorporación) radica en su baja reproductibilidad, por lo que se reserva su uso para los laboratorios de referencia nacional que posean otros métodos para confirmar los resultados a estas drogas. Las indicaciones ya fueron enumeradas anteriormente.

Pruebas de sensibilidad genotípicas (Line Probe Assay, LPAs)

La amplificación y detección de ácidos nucleicos del Complejo *M. tuberculosis* es una tecnología que ha demostrado ser muy sensible y específica. Algunas tecnologías de amplificación tienen la gran ventaja de poder detectar también resistencias a determinados fármacos antituberculosos.²¹

La PCR en tiempo real aplicada en algunas herramientas es la tecnología más utilizada en la actualidad. Estas herramientas detectan el ADN de Complejo *Mycobacterium tuberculosis* y pueden distinguir mutaciones en genes relacionadas con la resistencia a los fármacos. Por lo general, poseen un costo considerable y exigen capacitación de personal para dar adecuadas respuestas a los requerimientos en materia de estándares internacionales y de auditoría externa.^{19, 21}

Los LPA son una familia de pruebas basadas en PCR multiplex e hibridación reversa en tiras. Amplifican segmentos de los genes donde se producen las mutaciones más frecuentes que originan resistencia.²¹

Además, amplifican un segmento específico del Complejo *M. tuberculosis*, por lo que también permiten detectar al complejo. Entre los aislamientos de *M. tuberculosis* resistentes a rifampicina e isoniacida, la resistencia de hasta un 5% y 15%, respectivamente, podrían no ser detectadas por estos sistemas porque tienen alteraciones genéticas en regiones no investigadas por ellos.

Los LPA son técnicamente más complejos de realizar que el ensayo Xpert MTB / RIF-ULTRA o XDR; sin embargo, también pueden detectar resistencia a una gama de agentes de primera y segunda línea (por ejemplo, isoniacida, fluoroquinolonas e inyectables) y sus resultados se pueden obtener en 24 h.

Hay dos grandes grupos de ensayos:²¹

- Los que detectan CMT y resistencia a los agentes antituberculosis de primera línea (conocidos como LPA de primera línea [FL-LPA]) por ejemplo, GenoType MTBDRplus v1 y v2, Genoscholar NTM + MDRTB II.
- Los que detectan resistencia a los agentes antituberculosis de segunda línea (conocidos como LPA de segunda línea [SL-LPA]), por ejemplo, GenoType MTBDRsl

La implementación de LPA para detectar la resistencia no elimina la necesidad de realizar el cultivo convencional y la PS fenotípica, ya que desempeñan un papel crítico en el seguimiento de las respuestas de los pacientes al tratamiento y la detección de resistencia adicional a otras drogas.⁷

En general, los LPA no pueden ser empleados como prueba diagnóstica inicial en reemplazo del ED, porque tienen sensibilidad limitada y requieren ser realizados en laboratorios con cierto nivel de complejidad.²¹

Dada la creciente incidencia de TBMR, el sistema LPA ha sido evaluado para detectar o descartar TBMR y tuberculosis extensamente resistente (TBXDR).

Otras técnicas moleculares para identificación de especie o su clonalidad

La secuenciación de nueva generación (NGS) tiene un gran potencial como método para diagnosticar rápidamente la TB resistente a medicamentos (TB-DR) en diversos entornos de laboratorios clínicos de referencia en todo el mundo.²²

El enfoque NGS supera muchos de los desafíos importantes asociados con las pruebas fenotípicas convencionales, así como las limitaciones de otras pruebas moleculares menos completas, al proporcionar información rápida y detallada de secuencias para múltiples regiones de genes o genomas completos de interés. Sin embargo, la adopción de estas tecnologías para el diagnóstico de TB-DR se ha visto obstaculizada debido a los altos costos, la integración dentro de los flujos de trabajo del laboratorio, los requerimientos de capacitación técnica para la utilización de la tecnología y la necesidad de una orientación experta respecto al manejo y la interpretación clínica de los datos.²²

Otros métodos de diagnóstico complejos están dirigidos a conocer la transmisión de la enfermedad en la comunidad; esto se logra mediante la identificación de la clonalidad de especies por técnicas

moleculares, como ser RFLP (polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción) o por técnicas de secuenciación de genoma completo (SGC). En todos los casos, su uso queda restringido a laboratorios centrales de referencia.²²

En la Tabla 3, se resumen los métodos de diagnóstico de este nivel de complejidad.

CONCLUSIONES

La estrategia y metas para la prevención, la atención y el control de la tuberculosis después del 2015, que en forma abreviada es llamada “Fin a la TB”, aprobada por la 67.º Asamblea Mundial de la Salud en mayo del 2014 a través de la Resolución WHA 67.1 y lanzada por la OMS, propone un abordaje del control de la TB que va más allá del sector de salud. Toma en consideración los factores biológicos, las condiciones socioeconómicas que define a las poblaciones en mayor riesgo de padecer de TB, así como el fortalecimiento de la investigación de nuevas vacunas, los métodos diagnósticos y medicamentos que trazarán el camino para llegar a la eliminación de esta enfermedad.

Los recientes avances en el diagnóstico de TB proveen una oportunidad para mejorar la capacidad de los laboratorios hacia un diagnóstico certero y precoz de la TB sensible y resistente. Uno de los elementos centrales para la adopción de estas

TABLA 3. Métodos de diagnóstico correspondientes al tercer nivel de complejidad

| Método | Indicaciones | Ventajas | Limitaciones |
|---|---|--|--|
| Pruebas fenotípicas de identificación de especie. LF | Cultivos sólidos o líquidos positivos | Rapidez Sencillez. Alta sensibilidad y especificidad | No identifica especies dentro del CMT |
| PS fenotípicas a drogas de primera línea | Mismas indicaciones que para el segundo nivel de complejidad. El MGIT es el sistema más utilizado en la detección de resistencias a R e H | Rapidez. Sencillez. Alta sensibilidad y especificidad. Método patrón de oro | Baja reproductibilidad para drogas como E, Z y S. |
| PS genotípicas a drogas de 1.º-2.º línea. GenoType MTBDRplus y GenoType MTBDRsl | Necesidad de detección rápida de resistencia a drogas | Rapidez. Detecta TBMR y TBXDR | Costo elevado. Capacitación del personal. No elimina la necesidad del cultivo y la PS convencional |
| Otras pruebas genotípicas para identificación de especie. NSG | Secuenciación de nueva generación para la identificación de mutaciones | Rapidez. Información muy detallada sobre secuencias | Costo elevado. Capacitación del personal. Interpretación de resultados |
| Pruebas genotípicas de clonalidad. | Estudio de transmisibilidad de cepas en una comunidad | Rapidez. Información muy detallada sobre secuencias | Costo elevado. Capacitación del personal. Restringido a centros de referencia |

CMT: Complejo *Mycobacterium tuberculosis*; **LF:** Inmuno cromatografía lateral; **MGIT:** Método de crecimiento de micobacterias en tubo; **R:** Rifampicina; **H:** Isoniacida; **E:** etambutol; **Z:** pirazinamida; **S:** estreptomocina; **TBMDR:** Tuberculosis multiresistente; **TBXDR:** Tuberculosis extremadamente resistente; **PS:** Prueba de sensibilidad; **NSG:** Secuenciación de nueva generación; **RFLP:** Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción. **SGC:** Técnicas de secuenciación de genoma completo.

nuevas tecnologías es la existencia de políticas de diagnóstico, que incluyan tanto la incorporación de estas técnicas en los algoritmos diagnósticos como el establecimiento de planes de capacitación y evaluación externa de calidad de las técnicas incorporadas.

Conflicto de intereses

Los autores de este trabajo no declaran conflicto de interés alguno.

BIBLIOGRAFÍA

- McNerney R, Maeurer M, Abubakar I, et al. Tuberculosis Diagnostics and Biomarkers: Needs, Challenges, Recent Advances, and Opportunities. *J Infect Dis* 2012; 205 (Suppl 2): S147-58. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir860>.
- World Health Organization (WHO). Automated-real time nuclei acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: X-pert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in adults and children. WHO/HTM/TB/2013.16 World Health Organization <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112472>
- World Health Organization (WHO). Using the Xpert MTB/RIF assay to detect pulmonary and extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and children. Expert Group Meeting Report 2013. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112659>
- FIND [Internet]. GeneXpert negotiated prices. (date unknown) (Cited 2020 June 23). En: <https://www.finddx.org/pricing/genexpert/>.
- Hogan AB, Jewell BL, Sherrard-Smith D et al. Potential impact of the COVID-19 pandemic on HIV, tuberculosis, and malaria in low-income and middle-income countries: a modelling study. *Lancet Glob Health* 2020; 8(9): e1132-e1141. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30288-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30288-6).
- GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening, March 2017. En: https://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI_practical_guide.pdf
- Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Normas Técnicas 2013, 4ta Edición Argentina. <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000278cnt-normas-tecnicas-2013-tuberculosis.pdf>
- World Health Organization. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis: policy statement. World Health Organization 2011 WHO/HTM/TB/2011.8. En: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44602>
- Organización Panamericana de la Salud 2008. Guía Técnica para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, Parte 2: Cultivo. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/18616>
- World Health Organization. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational 'how-to'; practical considerations. World Health Organization 2014. WHO/HTM/TB/2014.1 En: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112469>
- Eldholm V, Monteserin J, Rieux A, Lopez B, Sobkowiak B, Ritacco V, Balloux F. Four decades of transmission of a multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis outbreak strain. *Nat Commun* 2015; 11-6: 7119. <https://doi.org/10.1038/ncomms8119>
- Zifodya JS, Kreniske JS, Schiller I et al. Xpert Ultra versus Xpert MTB/RIF for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults with presumptive pulmonary tuberculosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2021, Issue 2. Art. No.: CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub5>.
- FIND. A multicentre non-inferiority diagnostic accuracy study of the Ultra assay compared to the Xpert MTB/RIF assay. Version 1.8, February 2017. En: <https://www.finddx.org/wp-content/uploads/2019/12/Multicentre-noninferiority-study-Ultra-Xpert-FEB2017-FINAL.pdf>
- World Health Organization. Update on the use of nucleic acid amplification tests to detect TB and drug-resistant TB: rapid communication. Geneva: World Health Organization; 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/update-on-the-use-of-nucleic-acid-amplification-tests-to-detect-tb-and-drug-resistant-tb-rapid-communication>.
- WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis-rapid diagnostics for tuberculosis detection. World Health Organization 2020. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332862/9789240007307-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Stop TB / USAID / GLI Practical Guide to Implementation of Truenat Tests for the Detection of TB and Rifampicin Resistance. Version 2: March 2021. https://www.stoptb.org/assets/documents/resources/publications/sd/Truenat_Implementation_Guide.pdf.
- World Health Organization The use of loop-mediated isothermal amplification (TB-LAMP) for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: policy guidance. World Health Organization 2016. WHO/HTM/TB/2016.11 <https://www.who.int/publications/i/item/9789241511186>
- World Health Organization. The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV. Policy guidance. World Health Organization 2015. WHO/HTM/TB/2015.25. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509633>
- Organización Panamericana de la Salud 2018. Guía Técnica para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, Parte 3: Pruebas de Sensibilidad. Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas" - Lima: ORAS - CONHU; 2017). <https://www.paho.org/en/documents/technical-guide-bacteriological-diagnosis-tuberculosis-part-3-susceptibility-tests-2018>
- WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis - rapid diagnostics for tuberculosis detection, 2021 update. Geneva: World Health Organization; 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030589>
- World Health Organization. The use of molecular Line Probe Assay for the detection of resistance to second line anti-tuberculosis drugs. World Health Organization 2016. WHO/HTM/TB/2016.07. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241510561>
- World Health Organization. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex: Technical guide. Geneva: World Health Organization 2018 (WHO/CDS/TB/2018.19). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274443> Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.