

Rendimiento del GeneXpert en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar en la edad pediátrica

GeneXpert for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in pediatric patients

GeneXpert para o diagnóstico da tuberculose pulmonar e extrapulmonar em pacientes pediátricos

Gabriela Amaya¹, Mariela Contrera², Fernando Arrieta³, Alicia Montano⁴, Catalina Pérez⁵

Resumen

Introducción: las técnicas de biología molecular, como el Xpert MTB/RIF, son recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el diagnóstico de tuberculosis (TB) y la detección de resistencia a rifampicina. En Uruguay, el Xpert MTB/RIF se utiliza desde el año 2014, sin haberse realizado una evaluación de su rendimiento. Una revisión Cochrane reciente promueve que investigaciones futuras deben evaluar la precisión diagnóstica del Xpert en grupos difíciles de diagnosticar, como los niños, las personas que viven con el VIH y personas con tuberculosis extrapulmonar.

Objetivos: describir los casos de TB en menores de 15 años en Uruguay en los años 2018-2019 y la contribución de las diferentes pruebas diagnósticas en la confirmación bacteriológica de la enfermedad. Evaluar el rendimiento del Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB en muestras respiratorias y no respiratorias de pacientes menores de 15 años utilizando el cultivo como patrón de referencia. Comparar el rendimiento del GeneXpert con la baciloscopia para el diagnóstico de TB.

Material y método: estudio analítico, retrospectivo, de los menores de 15 años estudiados por TB en Uruguay entre enero de 2018 y junio de 2019, basado en datos del sistema informático del PNC-TB. Se describieron: características clínico-epidemiológicas de los casos de TB. Las definiciones se tomaron de la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes (CHLA-EP) de acuerdo con las recomendaciones de la OMS. Se analizaron todas las muestras respiratorias y no respiratorias recibidas por el laboratorio nacional de referencia (LNR) en TB de la CHLA-EP del 1/1/2018 al 30/06/2019, ingresadas al sistema informático (TB soft), correspondientes a: pacientes con sospecha clínica de TB, estudiados como contactos, o en la detección de TB en grupos de riesgo (con inmunodeficiencias o con riesgo de inmunosupresión, principalmente). A las muestras se les realizó baciloscopia y/o Xpert MTB/RIF (según el protocolo CHLA-EP) y cultivo. La detección de resistencia a rifampicina en el Xpert se comparó con las pruebas de sensibilidad a drogas de primera línea (PSD) utilizando métodos moleculares a partir de los cultivos. Se calculó sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo

1. Pediatra supervisor. CHLA-EP.
2. Subdirectora Programa Nacional Tuberculosis. CHLA-EP.
3. Director Programa Nacional Tuberculosis. CHLA-EP.
4. Coordinadora general CHLA-EP.
5. Presidenta CHLA-EP.
CHLA-EP.
Trabajo inédito.
Declaramos no tener conflictos de intereses.
doi: 10.31134/AP.91.S2.2

negativo (VPN) del Xpert y la baciloscopía, tomando como patrón de referencia el cultivo. Se calculó el likelihood ratio (LR) positivo y negativo del Xpert.

Resultados: se diagnosticaron 67 menores de 15 años con TB, confirmándose bacteriológicamente el 46% de los casos. Se analizaron 1.670 muestras; 82% respiratorias y 17% no respiratorias; 32 muestras fueron positivas para *M. tuberculosis* en el cultivo (14 respiratorias y 18 no respiratorias). La S del Xpert para todas las muestras fue de 80%; la E de 99,5%; VPP 80%; VPN 99,5%. Baciloscopía: la S de 44,4%, la E de 99,4%, el VPP de 70,6% y el VPN de 98,2%. Muestras respiratorias: Xpert S 100%; E 99,4%; VPP 66,7%, y VPN 100%. Baciloscopía: S 72,7%; E 99,6%; VPP 72,7%; VPN 99,6%. Muestras no respiratorias: Xpert S: 66,7%; E 100%; VPP 100%; VPN 97,9%. Baciloscopía: S 25%; E 98,8%; VPP 66,7%; VPN 93,2%. El LR + del Xpert para todas las muestras fue de 160 y el LR - de 0,2.

Conclusiones: la TB en menores de 15 años continúa siendo difícil de diagnosticar. Se intentó la confirmación bacteriológica en el 88% de los casos de TB, siendo positivos por alguna técnica bacteriológica casi el 50%. El Xpert mostró un buen perfil de S y E, tanto en muestras respiratorias como no respiratorias, similar a la reportada en trabajos internacionales. El principal aporte en relación con la baciloscopía es la mayor sensibilidad para el diagnóstico de TB en menores de 15 años. El Xpert es muy útil para el diagnóstico de TB en caso de ser positivo, aunque no permite descartar la enfermedad en los casos negativos.

Palabras clave: Tuberculosis
Xpert MTB/RIF
Diagnóstico
Niño

Summary

Introduction: the World Health Organization (WHO) recommends molecular biology techniques, such as Xpert MTB/RIF, for the diagnosis of tuberculosis (TB) and for the detection of Rifampicin resistance. In Uruguay, the Xpert MTB/RIF has been used since 2014, and no research papers have yet assessed its performance. A Cochrane review recommends the

assessment of the Xpert diagnostic accuracy in difficult to diagnose groups, such as, children, people living with HIV and with extrapulmonary tuberculosis.

Objectives: describe cases of TB in children of under 15 years of age in Uruguay during 2018 and 2019 and describe the influence of the various diagnostic tests on the bacteriological confirmation of the disease. Evaluate the performance of the Xpert MTB/RIF for the diagnosis of TB in respiratory and non- respiratory samples using the culture as a reference standard. Compare the performance of GeneXpert with smear microscopy for TB diagnosis.

Material and methods: analytical, retrospective study of children of under 15 years of age in Uruguay between January 2018 and June 2019, based on data obtained from the PNC-TB information system. Clinical-epidemiological characteristics of the TB cases were described. Definitions were taken from CHLA-EP, as per WHO recommendations. All respiratory and non-respiratory samples received by the National Reference Laboratory in Tuberculosis of the CHLA-EP from 1/1/2018 to 6/30/2019, entered in the IT system ("TB soft") were analyzed; they belonged to patients with clinical suspicion of TB, studied as contacts, or to TB risk groups (patients with immunodeficiency or at risk of immunosuppression, mainly). All samples underwent smear microscopy and/or Xpert MTB/RIF (according to the CHLA-EP protocol) and culture. The detection of Rifampicin resistance in the Xpert was compared with first-line drug sensitivity tests using molecular methods made from the cultures. The sensitivity, specificity, PPV and NPV of GeneXpert and ZN microscopy were calculated using *Mycobacterium tuberculosis* culture as gold standard. We calculated the Xpert positive and negative likelihood ratio (LR).

Results: 67 patients under 15 years of age were diagnosed with TB, and 46% cases were bacteriologically confirmed. A total of 1670 samples were analyzed; 82% respiratory and 17% non-respiratory. A total of 32 samples showed a positive culture for *M. tuberculosis* (14 respiratory and 18 non- respiratory). One rifampicin resistance sample was detected in the Xpert that was not confirmed in the culture. The sensitivity of Xpert for all samples was

80%; the specificity 99,5%; PPV 80%; NPV 99,5%. In the case of smear microscopy for all samples: S 44,4%, specificity 99,4%, PPV 70,6%; NPV 98,2%. Respiratory samples: Xpert S 100%; E 99,4%; PPV 66,7%; NPV 100%. Bacilloscopy: S 72,7%; E 99,6%; PPV 72,7%; NPV 99,6%. Non-respiratory samples: Xpert S: 66,7%; E 100%; PPV 100%; NPV 97,9%. Bacilloscopy: S 25%; E 98,8%; PPV 66,7%; NPV 93,2%. The LR + of the Xpert for all samples was 160 and the LR - 0,2.

Conclusions: TB in children under 15 remains difficult to diagnose. Bacteriological confirmation was attempted in 88% of TB cases, and almost 50% showed positive results by some bacteriological technique. The Xpert showed a good sensitivity and specificity profile in both respiratory and non-respiratory samples, similar to those reported in international papers. The main contribution in relation to smear microscopy is the greater sensitivity for the diagnosis of TB in children under 15 years of age. The Xpert is very useful for TB diagnosis when it is positive, although it does not ensure we can rule out the disease in case of negative results.

Key words: Tuberculosis
Xpert MTB / RIF
Diagnostic
Child

Resumo

Introdução: a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda técnicas de biologia molecular, como o Xpert MTB / RIF para o diagnóstico de tuberculose (TB) e para a detecção de resistência à Rifampicina. No Uruguai, o Xpert MTB / RIF é usado desde 2014, e o seu desempenho ainda não tem sido avaliado. Uma revisão recente da Cochrane promove que pesquisas futuras devem avaliar a precisão diagnóstica do Xpert, em grupos difíceis de diagnosticar, como crianças, pessoas vivendo com HIV e pessoas com tuberculose extrapulmonar.

Objetivos: descrever os casos de tuberculose em crianças menores de 15 anos no Uruguai nos anos 2018-2019 e a contribuição dos diferentes testes de diagnóstico na confirmação bacteriológica da doença.

Avaliar o desempenho do Xpert MTB / RIF para o diagnóstico de TB em amostras respiratórias e não respiratórias de pacientes menores de 15 anos, utilizando a cultura como padrão de referência. Comparar o desempenho do GeneXpert com a baciloscopia para o diagnóstico da TB.

Material e métodos: estudo analítico e retrospectivo de crianças menores de 15 anos estudadas para TB no Uruguai entre janeiro de 2018 e junho de 2019, utilizando a base em dados do sistema informático PNC-TB. Descrevemos as características clínico-epidemiológicas dos casos de TB. As definições foram retiradas do CHLA-EP de acordo com as recomendações da OMS. Todas as amostras respiratórias e não respiratórias recebidas pelo Laboratório Nacional de Referência (LNR) em Tuberculose do CHLA-EP de 01/01/2018 a 30/06/2019, inseridas no sistema computacional (TB Soft), corresponderam a pacientes com suspeita clínica de TB, estudados como contatos ou na detecção de TB em grupos de risco (pacientes com imunodeficiências ou com risco de imunossupressão, principalmente). As amostras foram realizadas por esfregaço (baciloscopia) e/ou Xpert MTB/RIF (de acordo com o protocolo CHLA-EP) e por cultura. A detecção da resistência à Rifampicina no Xpert foi comparada com os testes de sensibilidade a drogas de primeira linha (PSD), utilizando os métodos moleculares das culturas. A sensibilidade, especificidade, PPV e NPV do Xpert e esfregaço foram calculados usando a cultura como padrão de referência. Calculamos a razão de verossimilhança positiva e negativa (LR) do Xpert.

Resultados: 67 crianças menores de 15 anos foram diagnosticadas com TB, e 46% dos casos foram confirmados bacteriologicamente. 1670 amostras foram analisadas; 82% respiratórias e 17% não respiratórias. 32 amostras tiveram uma cultura positiva para *M. tuberculosis* (14 respiratórias e 18 não respiratórias). A sensibilidade (S) do Xpert para todas as amostras foi de 80% (IC95% 37,5-96,3), especificidade (E) 99,5% (IC95% 97,3-99,9), PPV 80% (37,5-96,3), NPV 99,5% (97,3-99,9). Baciloscopia: S de 46,1% (28,7-64,5), E 99,5% (98,7-99,8), PPV 75% (50,5-89,8), VPL 98,3% (97,2-99). Amostras

respiratórias: Xpert S 100%; E 99,3% VPP 66% e VPN 100%. Baciloscopia: S 66,6%, E 99,8%, PPV 80%, NPV 99,7%. Amostras não respiratórias: Xpert S: 66,6%, E 100%, PPV 100%, NPV 97,9%; Esfregaço S: 25%, E 99,3%, PPV 80%, NPV 93%. O LR + do Xpert para todas as amostras foi de 160 e o LR - 0,2.

Conclusões: a TB em crianças menores de 15 anos é ainda difícil de diagnosticar. Tentamos a confirmação bacteriológica em 88% dos casos de TB, e quase 50% deles tiveram resultados positivos utilizando alguma técnica bacteriológica. O Xpert mostrou um bom perfil de sensibilidade e especificidade em amostras respiratórias e não respiratórias, semelhante ao relatado em papers internacionais. A principal contribuição em relação à baciloscopia é a maior sensibilidade para o diagnóstico de TB em menores de 15 anos. O Xpert é muito útil para o diagnóstico de TB em caso de ser positivo, embora não permita descartar a doença em casos negativos.

Palavras chave: Tuberculose
Xpert MTB / RIF
Diagnóstico
Criança

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó, para el año 2017, 282.000 casos nuevos y recaídas de tuberculosis (TB) para la región de las Américas, un 3% de la carga mundial de TB (10 millones de casos) y una tasa de incidencia de 28 por 100.000 habitantes. Para esta región se estimaron 33.200 casos de TB (12% del total) en niños menores de 15 años^(1,2). En Uruguay, según datos de la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes (CHLA-EP) en el año 2018 se notificaron 1.002 casos de TB (casos nuevos y recaídas), lo que determina una incidencia de 28,6 casos por 100.000 habitantes. De éstos, se notificaron 47 casos de menores de 15 años (4,7% del total), siendo la incidencia de 6,67 por 100.000⁽³⁾.

La CHLA-EP, a través del Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PNC-TB) de Uruguay, es responsable de todos los aspectos relacionados a la TB, desde la normativa relativa a la prevención, diagnóstico y tratamiento, la vigilancia y análisis epidemiológicos, y hasta la asistencia socioeconómica a los pacientes y su núcleo familiar. El Laboratorio de Referencia Nacional (LRN) de TB de la CHLA-EP, que integra el PNC-TB,

es un laboratorio centralizado con un área de bacteriología y otra de biología molecular, que procesa más del 95% de las muestras que se obtienen en todo el territorio nacional⁽⁴⁾, y es el referente para la red de laboratorios nacionales que realizan estudios directos y técnicas moleculares para el diagnóstico de TB⁽⁴⁾.

La confirmación microbiológica de la TB en niños sigue siendo un desafío. Las pruebas estándar para el diagnóstico de TB en adultos, como la baciloscopia y el cultivo, no son tan útiles en niños debido a la naturaleza paucibacilar de la TB pediátrica y la dificultad en la recolección de muestras de esputo. Por lo tanto, las investigaciones recientes en TB se han centrado en el desarrollo de nuevas tecnologías de diagnóstico y muestras distintas del esputo⁽⁵⁾.

Las técnicas de biología molecular, como el Xpert MTB/RIF, son recomendadas por la OMS para el diagnóstico de TB y la detección de resistencia a rifampicina. Inicialmente recomendado para el diagnóstico de TB en adultos, desde el año 2013 la OMS recomienda su uso en niños y para diagnosticar formas específicas de TB extrapulmonar⁽⁶⁾. En Uruguay, el Xpert MTB/RIF se utiliza desde el año 2014, sin haberse realizado aún una evaluación de su rendimiento.

Si bien muchos países comenzaron a utilizar el ensayo Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB pediátrica, aún está muy lejano el uso generalizado de forma rutinaria. La Organización Panamericana de la Salud (OPS)/OMS promueve la transición hacia nuevos métodos rápidos para el diagnóstico precoz de la TB⁽²⁾. Hasta la fecha, hay pocos estudios sobre la aplicación de Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB pediátrica en la región y en comparación con los estudios de adultos.

Una revisión Cochrane, publicada en el año 2019, promueve que investigaciones futuras evalúen la precisión diagnóstica del Xpert en grupos difíciles de diagnosticar, como los niños, las personas que viven con el VIH y personas con tuberculosis extrapulmonar⁽⁷⁾.

Objetivos

- Describir los casos de TB en menores de 15 años en Uruguay en los años 2018 y 2019, y la contribución de las diferentes pruebas diagnósticas en la confirmación bacteriológica de la enfermedad.
- Evaluar el rendimiento del Xpert MTB/RIF para el diagnóstico de TB en muestras respiratorias y no respiratorias de pacientes menores de 15 años, utilizando el cultivo como patrón de referencia.
- Comparar el rendimiento del Xpert con la baciloscopia para el diagnóstico de TB en niños y adolescentes en Uruguay.

Tabla 1. Definiciones de caso de tuberculosis. CHLA-EP.

Caso de TB bacteriológicamente confirmado	Caso de TB clínicamente diagnosticado
Es quien tenga una muestra biológica positiva por baciloscopia, cultivo o prueba rápida (por ejemplo, GeneXpert MTB/RIF). Todos estos casos deben ser notificados, independientemente de si inició tratamiento o no.	Es aquel que no cumple con los criterios para la confirmación bacteriológica, pero ha sido diagnosticado con TB activa por un médico, quien ha decidido indicar tratamiento antituberculoso. Esta definición incluye casos diagnosticados sobre la base de anomalías en radiología o histología sugestiva y casos extrapulmonares sin confirmación de laboratorio.

Tabla 2. Definición del informe de los resultados de baciloscopia y cultivos de acuerdo a carga bacilar.

	Baciloscopia	Cultivo
Positivo	1 a 9 BAAR/100 campos	Resultado de cultivo líquido o menos de 20 colonias en cultivo sólido
Positivo +	10 a 99 BAAR/100 campos	20 a 100 colonias
Positivo ++	1 a 10 BAAR/campo	Más de 100 colonias (colonias separadas)
Positivo +++	10 BAAR/campo	Colonias incontables (colonias confluentes)

BAAR: bacilo ácido-alcohol resistente.

Material y método

Estudio analítico, retrospectivo, de los menores de 15 años estudiados por TB en Uruguay entre enero de 2018 y junio de 2019, a partir de datos del sistema informático del PNC-TB. Se describieron las características clínico-epidemiológicas de los casos de TB.

Se analizaron todas las muestras respiratorias y no respiratorias de menores de 15 años recibidas por el LRN en TB de la CHLA-EP del 1/1/2018 al 30/6/2019, ingresadas en el sistema informático (TB soft), correspondientes a: pacientes con sospecha clínica de TB, estudiados como contactos, o en el tamizaje de TB en grupos de riesgo (con inmunodeficiencias o en riesgo de inmunosupresión, principalmente).

A las muestras respiratorias y no respiratorias se les realizó baciloscopia (Ziehl-Neelsen o Auramina) y/o Xpert MTB/RIF (según protocolo de la CHLA-EP) y cultivo (sólido o líquido - BACTEC MGIT 960). La detección de resistencia a la rifampicina en el Xpert se comparó con pruebas de sensibilidad a drogas (PSD) de primera línea mediante métodos moleculares (Genotype® MTB DR plus - HAIN test) realizadas a partir de los cultivos.

Las definiciones de caso de TB son tomadas de la CHLA-EP⁽⁸⁾ de acuerdo a las recomendaciones de la OMS⁽⁹⁾ (tabla 1).

Análisis estadístico: se resumieron las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes utilizando estadísticas descriptivas. Se describió el aporte de cada una de las pruebas diagnósticas a la confirmación bacteriológica de los casos.

Las medidas de exactitud diagnóstica (S, E, VPP y VPN) para Xpert MTB/RIF y baciloscopia se determinaron utilizando como estándar de referencia el cultivo, para todas las muestras y para las muestras respiratorias y no respiratorias por separado. Se incluyeron para el cálculo las muestras en que se había realizado baciloscopia o Xpert y cultivo, construyendo tablas de contingencia de 2x2, con los resultados de positivo y negativo de cada técnica. Se excluyeron las muestras escasas para alguna de las técnicas, Xpert indeterminado y cultivos contaminados. Todas las medidas de exactitud se calcularon con un intervalo de confianza de 95% (IC95%). Se calculó la razón de probabilidad (Likelihood ratio - LR) positivo y negativo para Xpert MTB / RIF, considerando que un LR de más de 1 indica que el resultado de la prueba es muy probablemente verdadero positivo y menos de 1 significa que el resultado de la prueba es probablemente verdadero negativo. Se utilizó el paquete estadístico Open Epi v3.

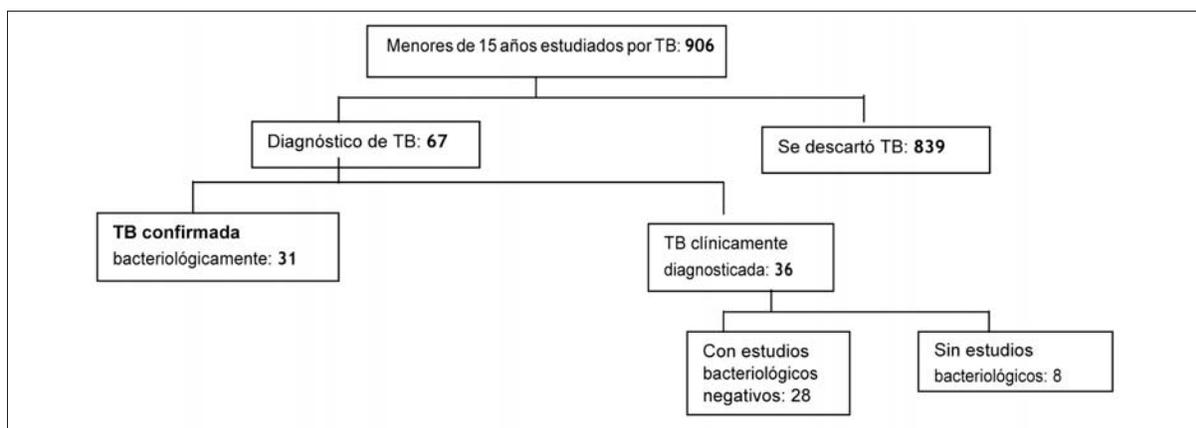


Figura 1. Estudio y diagnóstico de tuberculosis en menores de 15 años entre el 1/1/2018 y el 30/6/2019 en Uruguay.

Resultados

Estudio y diagnóstico de tuberculosis en menores de 15 años en Uruguay

Entre el 1/1/2018 y el 30/6/2019 se estudiaron por TB a 906 pacientes menores de 15 años, pertenecientes a prestadores de salud públicos y privados de todo el país.

Se descartó la enfermedad clínica y bacteriológicamente en 839 pacientes.

Se realizó diagnóstico de TB en 67 pacientes, confirmando bacteriológicamente por algún método (directo, Xpert MTB/RIF y/o cultivo) en 31 niños (46%). En 36 casos (54%) la TB fue clínicamente diagnosticada. En el 12% de los casos de TB no se envió ninguna muestra para estudio bacteriológico (figura 1). Todos los casos son nuevos, ninguno tenía antecedente de tratamiento previo antituberculoso.

En 9/31 casos el diagnóstico se confirmó por el cultivo, siendo positivas más de una prueba en 14/31 casos; tres niños fueron diagnosticados exclusivamente por el Xpert MTB/RIF. El aporte de cada una de las técnicas diagnósticas a los casos confirmados de TB se muestra en el diagrama de Venn de la figura 2.

Características de los casos de tuberculosis en menores de 15 años

El promedio de edad de los casos de TB fue de 7 años, con un rango entre 3 días y 14 años, y una mediana de 14 años. Distribución por sexo: masculino 29 (43%) y femenino 37 casos (57%).

Localización de la enfermedad: la TB fue pulmonar en 46 niños (69%), confirmado en 14 (30%), extrapulmonar en 17 (25%), confirmado en el 65% (11/17) y pulmonar + extrapulmonar en 4 (6%), confirmadas el 75%.

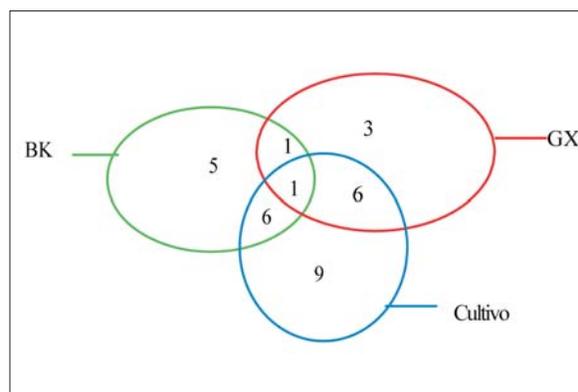


Figura 2. Diagrama de Venn con el aporte de cada una de las técnicas diagnósticas a la confirmación de la tuberculosis en menores de 15 años. (Uruguay, 1/1/2018-30/6/2019).

Departamento de residencia: Montevideo, 35 (52%); interior, 32 casos (48%). Canelones, 12; Maldonado, 5; Paysandú, 4; Cerro Largo, 3; Rivera, 2; San José, 2; Salto, 1; Florida, 1; Lavalleja, 1; Soriano, 1.

Servicio de salud: público 53 casos (79%); privado 14 casos.

Factores de riesgo: en 44 casos (66%) existía el antecedente de contacto con TB (conviviente 35/44; no conviviente 8; contacto institucional 1); un caso infectado con VIH; cuatro casos con desnutrición crónica; un caso con inmunosupresión farmacológica; sin factores de riesgo constatados en 12 pacientes.

No hubo ningún fracaso de tratamiento; un paciente con TB extrapulmonar falleció.

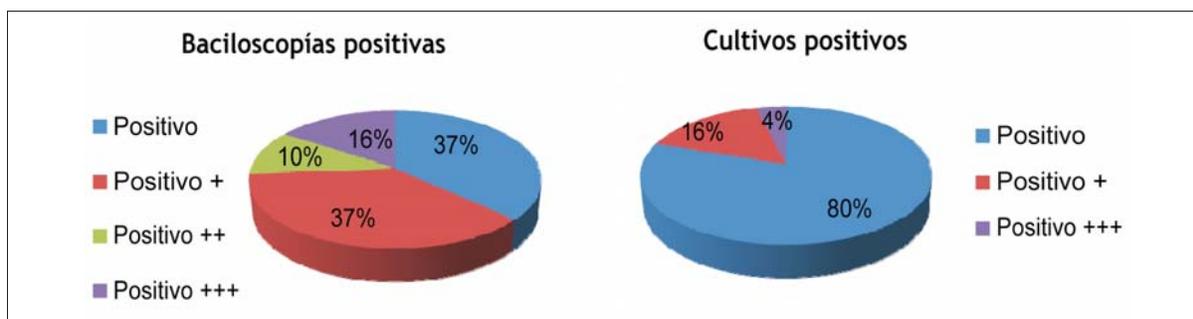


Figura 3. Carga bacilar en directo y cultivos positivos de muestras respiratorias y no respiratorias de menores de 15 años. (Uruguay, 1/1/2018 al 30/6/2019).

Tabla 3. Resultados de baciloscopías y Xpert MTB/RIF de menores de 15 años tomando como patrón de referencia el cultivo. Todas las muestras, muestras respiratorias y no respiratorias (Uruguay, 1/1/2018 al 30/6/2019).

	Baciloscopía				Xpert MTB/RIF			
	VP	FP	VN	FN	VP	FP	VN	FN
Todas las muestras	12	5	823	15	4	1	209	1
Muestras respiratorias	8	3	659	3	2	1	161	0
Muestras no respiratorias	4	2	164	12	2	0	48	1

VP: verdaderos positivos; FP: falsos positivos; VN: verdaderos negativos; FN: falsos negativos.

Análisis bacteriológico

Se analizaron un total de 1.670 muestras de menores de 15 años en el período de estudio, ingresadas al sistema informático del LRN de la CHLA-EP (TBSof). De estas muestras, 1.368 (82 %) fueron respiratorias y 292 (17%) no respiratorias.

Las muestras respiratorias correspondieron a: expectoración, 1.035; lavado bronquiolo-alveolar (LBA), 187; lavado gástrico, 129; aspiración traqueal/bronquial, 15; biopsia de pulmón, 2. Las muestras no respiratorias correspondieron a: líquido/biopsia pleural, 146; ganglio, 18; líquido cefalorraquídeo (LCR), 25; óseo, 15; otras muestras, 88.

Resultados positivos

Se cultivaron 1.077 muestras respiratorias y no respiratorias, siendo positivas para *M. tuberculosis* 32 (3%), 14 respiratorias y 18 no respiratorias. La carga bacilar de las muestras positivas se muestra en la gráfica 1. Se realizó pruebas de sensibilidad a drogas (PSD) de primera línea mediante métodos moleculares (HAIN) al 100% de los cultivos positivos, siendo todos sensibles a isoniacida y rifampicina.

De 485 estudios de Xpert MTB/RIF realizados a muestras respiratorias y no respiratorias, 10 fueron positivos (2%). No se detectó resistencia a rifampicina en 9 y en una muestra con muy baja carga de ácido desoxirribonucleico (ADN) se detectó resistencia a rifampicina.

Se realizaron 1.095 estudios directos (baciloscopías) en muestras respiratorias y no respiratorias, de las cuales 18 (1,6%) fueron positivas. En relación con la carga bacilar la distribución se muestra en la figura 3.

Rendimiento de las diferentes técnicas, medidas de exactitud diagnóstica

Se analizaron 855 muestras con resultados positivos y negativos en la baciloscopía y el cultivo. Se analizaron 215 muestras con resultados dicotómicos del Xpert MTB/RIF y cultivo.

En la tabla 3 se muestran los resultados de las tablas de contingencia, verdaderos positivos y negativos, así como los falsos positivos y negativos de la baciloscopía y el Xpert MTB/RIF, tomando como patrón de referencia el cultivo.

Tomando todas las muestras (respiratorias y no respiratorias), la S del Xpert MTB/RIF fue de 80% y la E de 99,5%. El VPP fue de 80% y el VPN de 99,5%. Para el

Tabla 4. Medidas de exactitud diagnóstica de la baciloscopia y el Xpert MTB/RIF de todas las muestras de menores de 15 años tomando como patrón de referencia el cultivo (Uruguay, 1/1/2018-30/6/2019).

	Todas las muestras	
	Baciloscopia	Xpert MTB/RIF
Sensibilidad (IC95%)	44,4% (27,5-62,6)	80% (37,6-96,4)
Especificidad (IC95%)	99,4% (98,5-99,7)	99,5% (97,4-99,9)
VPP (IC95%)	70,6% (46,9-86,7)	80% (37,6-96,4)
VPN (IC95%)	98,2% (97,1-98,9)	99,5% (97,4-99,9)
Precisión (IC95%)	97,6% (96,4-98,5)	99,1% (96,7-99,7)

Tabla 5. Medidas de exactitud de la baciloscopia y el Xpert MTB/RIF de las muestras respiratorias de menores de 15 años tomando como patrón de referencia el cultivo (Uruguay, 1/1/2018-30/6/2019).

	Muestras respiratorias	
	Baciloscopia	Xpert MTB/RIF
Sensibilidad (IC95%)	72,7% (43,4-90,2)	100% (34,24-100)
Especificidad (IC95%)	99,6% (98,7-99,9)	99,4% (96,6-99,9)
VPP (IC95%)	72,7% (43,4-90,2)	66,7% (20,8-93,9)
VPN (IC95%)	99,6% (98,7-99,9)	100% (97,7-100)
Precisión (IC95%)	99,1% (98,1-99,6)	99,4% (96,6-99,9)

caso de las baciloscopias, la S fue de 44,4%, la E de 99,4%, el VPP de 70,6% y el VPN de 98,2%.

En la tabla 4 se muestran las medidas de exactitud diagnóstica de la baciloscopia y el Xpert MTB/RIF para todas las muestras biológicas (respiratorias y no respiratorias) de los menores de 15 años.

En las tablas 5 y 6 se muestran las medidas de exactitud de la baciloscopia y el Xpert MTB/RIF para las muestras respiratorias y no respiratorias, respectivamente.

Los likelihood ratio positivo (LR+) y negativo (LR-) para el Xpert MTB/RIF para todas las muestras fueron 168 y 0,2, respectivamente (tabla 7).

Discusión

Este es el primer estudio en Uruguay acerca del uso del ensayo Xpert MTB/RIF en TB pediátrica y también el primer estudio que informa sobre la utilidad de este ensayo en muestras respiratorias y no respiratorias en menores de 15 años en un país con una incidencia media de TB.

Aunque se carece de un estándar de oro práctico para el diagnóstico de TB infantil, dada la menor sensibilidad del cultivo en comparación con los adultos, se recomienda buscar su confirmación bacteriológica, siempre que sea posible, antes de tomar una decisión terapéutica⁽¹⁰⁾.

En el diagnóstico de TB pulmonar en niños, la confirmación microbiológica rara vez se intenta debido a la percepción incorrecta de que las muestras respiratorias son difíciles o imposibles de obtener en los niños⁽¹¹⁾. En nuestro trabajo se intentó la confirmación bacteriológica en el 88% de los casos y solo en ocho no se envió al laboratorio ninguna muestra para estudio.

Confirmación bacteriológica

Las pruebas bacteriológicas convencionales de TB son menos eficientes en los niños en comparación con los adultos, porque las muestras de esputo suficientes son más difíciles de obtener de los lactantes y niños pequeños, y su enfermedad a menudo es paucibacilar, lo que resulta en muchas oportunidades en una enfermedad con baciloscopia negativa⁽¹⁰⁾.

Tabla 6. Medidas de exactitud de la baciloscopia y el Xpert MTB/RIF de las muestras no respiratorias de menores de 15 años tomando como patrón de referencia el cultivo (Uruguay, 1/1/2018-30/6/2019).

	Muestras no respiratorias	
	Baciloscopia	Xpert MTB/RIF
Sensibilidad (IC95%)	25% (10,2-49,5)	66,7% (20,8-93,9)
Especificidad (IC95%)	98,8% (95,7-99,7)	100% (92,6-100)
VPP (IC95%)	66,7% (30-90,3)	100% (34,2-100)
VPN (IC95%)	93,2% (88,5-96,1)	97,96% (89,3-99,6)
Precisión (IC96%)	92,3% (87,5-95,4)	98,04% (89,7-99,7)

Tabla 7. Likelihood ratio positivo y negativo del Xpert MTB/RIF para todas las muestras, muestras respiratorias y no respiratorias.

	LR + (IC95%)	LR - (IC95%)
Todas las muestras	168 (20,94-1.348)	0,201 (0,03 -1,43)
Muestras respiratorias	162 (22,82-1.150)	0
Muestras no respiratorias	No definido	0,33 (0,05-2,37)

La confirmación de la TB por cultivo en nuestro estudio fue de 46%, mayor a la mostrada en un metaanálisis de población pediátrica que fue de 12%⁽¹²⁾, que incluyó únicamente muestras de expectoración, esputo inducido y lavado gástrico, con un variabilidad de cultivos positivos entre los estudios que incluye de 1% (LaCourse et al, 2014)⁽¹³⁾ a 53% (Nguyen et al, 2013)⁽¹⁴⁾. Las muestras respiratorias analizadas en nuestro estudio incluyen expectoración (esputo directo e inducido), lavado gástrico, LBA y biopsia de pulmón.

Medidas de exactitud diagnóstica

El rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF se ha evaluado en forma previa, principalmente en muestras respiratorias recolectadas de pacientes adultos con TB. La revisión de Horne et al, publicada en Cochrane en el año 2019, mostró una S de 85% (IC95%, 82% - 85%) y una E de 98% (IC95%, 97% - 98%) del Xpert MTB/RIF para la detección de TB pulmonar en adultos⁽⁷⁾. En el caso de las muestras no respiratorias, la revisión más grande, publicada en Cochrane en 2018 en población adulta⁽¹⁵⁾, realizó el análisis por tipo de muestra extrarrespiratoria, y dado el pequeño número en nuestro medio, es imposible aplicar la misma metodología. Asimismo, esta revisión sistemática mostró una S agrupada del Xpert que varió entre los diferentes tipos de mues-

tras (31% en tejido pleural a 97% en líquido óseo o articular). La E del Xpert agrupada (definida por el cultivo) varió menos que la S (82% en tejido óseo o articular a 99% en líquido pleural y orina). La E de Xpert fue \geq 98% en LCR, líquido pleural, orina y líquido peritoneal.

Un metaanálisis de TB pediátrica de 15 estudios⁽¹²⁾, que incluyó 4.768 muestras respiratorias de 3.640 niños, tomando como patrón de referencia el cultivo, mostró una S y E agrupadas del Xpert para la detección de TB de 62% (IC95% 51-73) y de 98% (IC 95% 97-99), respectivamente. Aunque esto representó una S 36%-44% mayor en comparación con la baciloscopia, la S sigue siendo pobre en comparación con la población adulta.

Nuestro estudio muestra una S del Xpert de 100% y una E de 99,4% en muestras respiratorias, similar a lo reportado por algunos trabajos incluidos en el metaanálisis con población comparable a la nuestra (LaCourse et al, 2014⁽¹³⁾; Causse et al, 2011⁽¹⁶⁾), y similar a lo reportado en estudios en adultos⁽⁷⁾. En trabajos que analizan exclusivamente muestras de lavado bronquiolo-alveolar, la S de Xpert entre los casos de TB probables y confirmados por cultivo fue de 58,5% y de 81,8% respectivamente^(17,18).

Hay datos muy limitados sobre el diagnóstico bacteriológico de TB en niños en la región para comparar con nuestro estudio; asimismo, existen muy pocos datos so-

bre la S y E del Xpert MTB/RIF para diagnóstico de TB extrapulmonar en niños a nivel mundial⁽¹⁶⁾.

Los likelihood ratio (LR) son los parámetros más útiles para evaluar una prueba diagnóstica, ya que no dependen de la prevalencia y son aplicables en la toma de decisión clínica del paciente^(19,20). En nuestro estudio, el LR + del Xpert MTB/RIF para todas las muestras fue altamente relevante por ser mayor a 10, aunque con un amplio intervalo de confianza. Cuanto más se aleje de 1 el valor de la razón de verosimilitud, con mayor fuerza la prueba nos sacará de la zona de incertidumbre diagnóstica, por lo que en este caso, un paciente con TB es 168 veces más probable que tenga un Xpert positivo que un paciente sin TB. No pudo calcularse el LR + para las muestras no respiratorias, ya que en éstas la E fue de 100%. En el caso del LR –, fue entre 0 y 0,33, lo que conlleva escasa utilidad clínica y con un IC que pasa por el 1, lo que reafirma que un resultado negativo del Xpert MTB/RIF no descarta la TB.

Resistencia a rifampicina

En este trabajo se detectó un caso con resistencia a rifampicina en el Xpert, en una muestra con “muy baja” carga de ADN, no confirmado en una prueba de sensibilidad a drogas basada en cultivo. Es importante confirmar estos resultados sobre todo en nuestro país, con tan baja incidencia de resistencia a rifampicina, lo que disminuye mucho el VPP de la prueba. Al no confirmarse en las PSD, se consideró un falso positivo del Xpert; como puede verse en muestras positivas con “muy baja” carga de ADN⁽²¹⁾. El ensayo Xpert MTB/RIF proporciona detección de *M. tuberculosis* (MTB) semicuantitativa basada en el umbral del ciclo de las sondas (Ct): número de ciclos de PCR necesarios para amplificar el ADN de MTB a un nivel detectable. El cartucho contiene reactivos para extracción de ADN, amplificación por PCR, controles internos y cinco sondas fluorescentes parcialmente superpuestas A, B, C, D y E, dirigidas a la región de determinación de resistencia a la rifampicina (RRDR) del gen MTB rpoB. El resultado de la detección de MTB se informa como alto (Ct < 16), medio (Ct 16-22), bajo (Ct 22-28) o muy bajo (Ct > 28). Los diagnósticos de resistencia a rifampicina en pruebas con grado de detección de MTB muy bajo deben confirmarse con una PSD basada en cultivo como estándar de oro⁽²¹⁾.

Comparación entre baciloscopia y Xpert MTB/RIF

En comparación con la microscopía, Xpert MTB/RIF ofrece una mejor S para el diagnóstico de TB pulmonar y extrapulmonar en niños, con una E similar, al igual

que en estudios internacionales^(22,23). En nuestro trabajo, la S del Xpert fue 35% mayor que la de la baciloscopia para todas las muestras, 27% mayor en las muestras respiratorias y 42% mayor para las muestras no respiratorias.

Limitaciones del estudio

El ensayo Xpert MTB/RIF fue diseñado para la detección de TB y resistencia simultánea a rifampicina, con diferencias importantes en relación con la prevalencia de la resistencia a rifampicina de los distintos países⁽²⁴⁾. Dada la muy baja prevalencia de resistencia a rifampicina en Uruguay, en este estudio no se pudieron establecer conclusiones sobre el rendimiento del ensayo para la detección de resistencia a rifampicina en niños.

Debido al pequeño número de muestras en que se realizó en forma simultánea el Xpert y la baciloscopia –de acuerdo al protocolo de la CHLA-EP–, no puede analizarse la contribución del Xpert en el diagnóstico de pacientes con baciloscopia negativa.

Investigaciones futuras

Muchos de los casos de TB en niños fueron clínicamente diagnosticados (54%), debido sobre todo a la naturaleza paucibacilar de la TB pediátrica. Son prometedoras las pruebas de diagnóstico molecular más sensibles, como la versión ultra del Xpert MTB/RIF⁽²⁵⁾, recientemente incorporada al laboratorio de bacteriología del hospital de referencia pediátrico de Uruguay.

Asimismo, continúan los desafíos para la evaluación de diagnósticos novedosos utilizando estándares de referencia combinados, diferentes al cultivo^(26,27), y otras muestras biológicas diferentes a las muestras respiratorias clásicas para el diagnóstico de TB pulmonar en niños^(11,28-31).

Conclusiones

La TB en menores de 15 años continúa siendo difícil de diagnosticar. Se intentó la confirmación bacteriológica en el 88% de los casos, siendo positivos por alguna técnica bacteriológica casi el 50%, el 30% de los casos pulmonares y el 65% de los extrapulmonares.

El Xpert mostró un buen perfil de S y E tanto en muestras respiratorias como no respiratorias, similar al reportado en trabajos internacionales de adultos. El principal aporte en relación con la baciloscopia es la mayor S para el diagnóstico de TB en menores de 15 años.

El Xpert es muy útil para el diagnóstico de TB en caso de ser positivo, aunque no permite descartar la enfermedad en los casos negativos.

Agradecimientos

A la Dra. Cecilia Coitinho y a las Lic. Ivalú Talac y María Elena Cardoso del Laboratorio de Referencia Nacional en Tuberculosis de la CHLA-EP por sus aportes.

Referencias bibliográficas

1. **World Health Organization.** Global tuberculosis report 2018. Geneva: WHO, 2018.
2. **Organización Panamericana de la Salud.** Tuberculosis en las Américas 2018. Washington, DC: OPS, 2018.
3. **Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes.** Informe tuberculosis 2018. Montevideo: CHLA-EP, 2018. Disponible en: <http://www.chlaep.org.uy/pdf/situacion-uruguay-chlaep.pdf>. [Consulta: 2 febrero 2019].
4. **Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades prevalentes (CHLA-EP).** Departamento de laboratorio de la CHLA-EP. [Página web]. Disponible en: <https://chlaep.org.uy/laboratorio-de-referencia-nacional-de-tuberculosis/departamento-de-laboratorio-de-chlaep/>. [Consulta: 2 febrero 2019].
5. **Myo K, Zaw M, Swe T, Kyaw Y, Thwin T, Myo T, et al.** Evaluation of Xpert® MTB/RIF assay as a diagnostic test for pulmonary tuberculosis in children in Myanmar. *Int J Tuberc Lung Dis* 2018; 22(9):1051-5. doi: 10.5588/ijtld.18.0024
6. **World Health Organization.** Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update. Geneva: WHO, 2013.
7. **Horne D, Kohli M, Zifodya J, Schiller I, Dendukuri N, Tollefson D, et al.** Xpert MTB/RIF and Xpert MTB/RIF Ultra for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2019; 6(6):CD009593.
8. **Ministerio de Salud, Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades prevalentes (CHLA-EP), Universidad de la República. Facultad de Medicina: cátedra de Enfermedades Infecciosas. Cátedra de Neumología.** Guía nacional para el manejo de la tuberculosis. Montevideo: MS, 2016.
9. **Organización Mundial de la Salud.** Definiciones y marco de trabajo para la notificación de tuberculosis: revisión 2013. Ginebra: OMS, 2013.
10. **Gutiérrez C.** Benefits and challenges of molecular diagnostics for childhood tuberculosis. *Int J Mycobacteriol* 2016; 5(Suppl 1):S4-5.
11. **Raizada N, Khaparde S, Rao R, Kalra A, Sarin S, Salhotra V, et al.** Upfront Xpert MTB/RIF testing on various specimen types for presumptive infant TB cases for early and appropriate treatment initiation. *PLoS One* 2018; 13(8):e0202085.
12. **Detjen A, DiNardo A, Leyden J, Steingart K, Menzies D, Schiller I, et al.** Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med* 2015; 3(6):451-61.
13. **LaCourse S, Chester F, Preidis G, McCrary L, Arscott T, Maliwichi M, et al.** Use of Xpert for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in severely malnourished hospitalized Malawian children. *Pediatr Infect Dis J* 2014; 33(11):1200-2.
14. **Nhu N, Ha D, Anh N, Thu D, Duong T, Quang N, et al.** Evaluation of Xpert MTB/RIF and MODS assay for the diagnosis of pediatric tuberculosis. *BMC Infect Dis* 2013; 13:31.
15. **Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, Dheda K, Denkinger C, Schumacher S, et al.** Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 8(8):CD012768.
16. **Causse M, Ruiz P, Gutiérrez J, Casal M.** Comparison of two molecular methods for rapid diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2011; 49(8):3065-7.
17. **Saini I, Mukherjee A, Gautam H, Singla M, Jat K, Lodha R, et al.** Diagnostic Yield of Xpert MTB/RIF in Bronchoalveolar Lavage in Children with Probable Pulmonary Tuberculosis. *Indian Pediatr* 2018; 55(12):1062-5.
18. **Lu Y, Zhu Y, Shen N, Tian L, Sun Z.** Evaluating the diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay on bronchoalveolar lavage fluid: A retrospective study. *Int J Infect Dis* 2018; 71:14-19
19. **Bravo S, Cruz JP.** Estudios de exactitud diagnóstica: herramientas para su interpretación. *Rev Chil Radiol* 2015; 21(4):158-64.
20. **Ochoa C, Orejas G.** Epidemiología y metodología científica aplicada a la pediatría (IV): Pruebas diagnósticas. *An Esp Pediatr* 1999; 50(3):301-14.
21. **Ocheretina O, Byrt E, Mabou M, Royal G, Merveille Y, Rouzier V, et al.** False-positive rifampin resistant results with Xpert MTB/RIF version 4 assay in clinical samples with a low bacterial load. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016; 85(1):53-5.
22. **Agrawal M, Bajaj A, Bhatia V, Dutt S.** Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary Tuberculosis. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(5):DC09-12.
23. **Singh S, Singh A, Prajapati S, Kabra S, Lodha R, Mukherjee A, et al.** Xpert MTB/RIF assay can be used on archived gastric aspirate and induced sputum samples for sensitive diagnosis of paediatric tuberculosis. *BMC Microbiol* 2015; 15:191.
24. **Zong K, Luo C, Zhou H, Jiang Y, Li S.** Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of rifampicin resistance in different regions: a meta-analysis. *BMC Microbiol* 2019; 19(1):177.
25. **Atherton R, Cresswell F, Ellis J, Kitaka S, Boulware D.** Xpert MTB/RIF Ultra for Tuberculosis Testing in Children: A Mini-Review and Commentary. *Front Pediatr* 2019; 7:34.
26. **Pan X, Yang S, Deighton M, Qu Y, Hong L, Su F.** A comprehensive evaluation of xpert mtb/rif assay with bronchoalveolar lavage fluid as a single test or combined with conventional assays for diagnosis of pulmonary tuberculosis in China: a two-center prospective study. *Front Microbiol* 2018; 9:444.
27. **Fan L, Li D, Zhang S, Yao L, Hao X, Gu J, et al.** Parallel tests using culture, xpert mtb/rif, and sat-tb in sputum plus bronchial alveolar lavage fluid significantly increase diagnostic performance of smear-negative pulmonary tuberculosis. *Front Microbiol* 2018; 9:1107.
28. **Ioos V, Cordel H, Bonnet M.** Alternative sputum collection methods for diagnosis of childhood intrathoracic tuberculosis

- sis: a systematic literature review. Arch Dis Child 2019; 104(7):629-35.
29. **Walters E, van der M, Palmer M, Bosch C, Demers A, Draper H, et al.** Xpert MTB/RIF on stool is useful for the rapid diagnosis of tuberculosis in young children with severe pulmonary disease. Pediatr Infect Dis J 2017; 36(9):837-43.
30. **Lopez A, Aldaba J, Morales M, Sarol J, Daag J, Ama M, et al.** Urine Xpert MTB/RIF for the diagnosis of childhood tuberculosis. Int J Infect Dis 2019; 79:44-6.
31. **MacLean E, Sulis G, Denking C, Johnston J, Pai M, Ahmad Khan F.** Diagnostic Accuracy of Stool Xpert MTB/RIF for Detection of Pulmonary Tuberculosis in Children: a Systematic Review and Meta-analysis. J Clin Microbiol 2019; 57(6):e02057-18.

Correspondencia: Dra. Gabriela Amaya.
Correo electrónico: gabyamaya22.10@gmail.com

Todos los autores declaran haber colaborado en forma significativa.

Gabriela Amaya ORCID 0000-0003-0434-126X, Mariela Contrera ORCID 0000-0002-5178-0807

Fernando Arrieta ORCID 0000-0003-3030-9001, Alicia Montano ORCID 0000-0002-5845-9637

Catalina Pírez ORCID 0000-0002-6165-0678
