

Biomédica 2004;24(Supl.):202-11

REVISION DE TEMA

Nuevas herramientas para la detección de la tuberculosis latente

Blanca I. Restrepo

Escuela de Salud Pública, University of Texas Health Science Center Houston,
Brownsville Regional Campus, Brownsville, Texas.

La tuberculosis es un problema serio de salud pública en el mundo, especialmente en países en vía de desarrollo, inclusive Colombia. En nuestro país estamos enfocados en el manejo clínico de los pacientes con tuberculosis activa, pero no hay campañas efectivas que identifiquen y provean terapia a los individuos con las formas latentes de la infección y con alto riesgo de progresar hacia la enfermedad. En esta revisión se plantea la importancia de realizar dichas campañas para evitar la diseminación de la infección en la comunidad. Esto incluye la búsqueda activa y el tratamiento profiláctico de los contactos de casos recientes, así como la de individuos con tuberculosis latente con alto riesgo de desarrollar la enfermedad. En ausencia de una prueba de oro para detectar la tuberculosis latente, la prueba cutánea de la tuberculina se ha utilizado por más de 100 años para dicho fin, a pesar de sus limitaciones de sensibilidad y especificidad. En esta revisión se evalúan las ventajas y desventajas de una nueva generación de inmunoensayos que incluye la prueba comercial Quantiferon y el desarrollo experimental del ELISPOT. Ambas se basan en la detección de IFN γ secretado por linfocitos de sangre periférica cuando se incuban con antígenos específicos del bacilo tuberculoso. Finalmente, se plantea la importancia de desarrollar pruebas moleculares enfocadas en detectar el ADN de la micobacteria como posible complemento a los inmunoensayos descritos.

Palabras clave: tuberculosis, latente, tuberculina, Quantiferon, ELISPOT, BCG

New tools for detection of latent tuberculosis

Tuberculosis is a serious public health problem worldwide, particularly in developing countries. In Colombia, the focus is on the clinical management of patients with active disease, but not on preventive programs that identify and treat individuals with a latent tuberculosis infection. This review emphasized the importance of preventative programs and their critical role in the curtailment of infection dissemination in the community. An effective program includes chemoprophylactic treatment of household contacts and detection of individuals with latent tuberculosis infection and with high risk of reactivation of disease. The tuberculin skin test has been used effectively for more than 100 years, despite inherent sensitivity and specificity limitations. Herein the advances provided by a new generation of immunoassays are reviewed, including the commercially-available Quantiferon and the experimental development of ELISPOT. Both are based on the detection of IFN γ secretion by peripheral T cells upon incubation with *Mycobacterium tuberculosis* antigens. Finally, the importance of molecular techniques aimed at detecting DNA from the mycobacterium is discussed as a possible complement to the described immunoassays.

Key words: tuberculosis, latent, tuberculin skin test, Quantiferon, ELISPOT, BCG

Correspondencia:

University of Texas at Brownsville, 80 Fort Brown, SPH Rm
1.202D, Brownsville, Texas 78520, U.S.A.
Teléfono: (956) 554-5172; fax: (956) 554-5152
blancos@rgv.rr.com

Recibido: 03/03/03; aceptado: 28/11/03

La tuberculosis es una causa importante de muerte en el mundo, principalmente en países en vía de desarrollo. Se estima que cada año hay 9 millones de casos nuevos y 1,5-3 millones de muertes (1,2). Esta infección es causada por *Mycobacterium tuberculosis*, una bacteria ácido-

alcohol resistente que se transmite principalmente por vía aérea. La infección inicial ocurre en el pulmón, de donde puede diseminarse a diferentes órganos (3). Una de las amenazas más grandes para el control de la tuberculosis es el incremento en la prevalencia de cepas de *M. tuberculosis* resistentes, por lo menos, a dos de las drogas de elección, isoniazida y rifampicina. De éstos, el 40% al 60% muere y su manejo va más allá que simplemente proveer tratamiento preventivo o tratarlos aislándolos de los individuos susceptibles. En Estados Unidos se ha calculado que el costo aproximado de tratar un paciente resistente a los fármacos es de US \$180 mil (4,5).

En Colombia, la tuberculosis es un problema grave de salud pública a pesar de la existencia de medidas preventivas. Cada año se diagnostica un promedio de 10.000 casos nuevos (aproximadamente, 22,5 casos por 100.000 habitantes) (6). Sin embargo, se estima que ocurre un subregistro del 25% ya que el aparente descenso de los casos de tuberculosis entre 1970 y 1998 concuerda con una disminución en el número de baciloscopias que se realiza al año, a pesar del incremento en la población. El 80% de los casos diagnosticados presenta baciloscopia positiva, lo cual es consistente con la sensibilidad reportada para esta prueba (7). Sin embargo, este resultado se debe interpretar con cautela ya que el examen directo tiene una baja sensibilidad puesto que requiere al menos 10^4 bacterias por ml de muestra. De hecho, se ha demostrado que cuando el examen directo es positivo, ya se han infectado varios de los contactos cercanos al paciente (8,9). Es decir, en Colombia estamos enfocados en el manejo de pacientes con tuberculosis activa y nos basamos, principalmente, en el examen directo para el diagnóstico. Sin embargo, no estamos implementando rutinariamente los estudios de contactos para identificar y considerar la iniciación de terapia en los individuos con sospecha clínica o epidemiológica de tuberculosis, o con infección latente y alto riesgo de progresión a enfermedad (como las personas con VIH o menores de 5 años), de acuerdo con la *Guía de atención de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar* publicada por el Ministerio de Salud de Colombia (actualmente, Ministerio de Protección Social) (10).

El 30% de las personas expuestas a *M. tuberculosis* se infecta al inhalar la bacteria. Ésta es ingerida por los macrófagos alveolares donde se multiplica en forma logarítmica, infecta el pulmón y se disemina al resto del organismo. El desenlace de esta infección puede tener dos vías. En 10% a 30% de las personas infectadas, la replicación de *M. tuberculosis* no es controlada eficientemente por el sistema inmune, lo cual lleva a una enfermedad primaria. Los más propensos son los individuos con una inmunodeficiencia y la población infantil. El 60% al 90% restante desarrolla una respuesta inmune eficiente que controla la infección unas 2-3 semanas más tarde (3). En modelos animales se ha demostrado que en este estadio el bacilo deja de replicarse y los cambios más notorios asociados con una respuesta inmune celular efectiva, son la formación de granulomas alrededor de la micobacteria (11,12), la activación de linfocitos T CD4 y CD8 específicos para antígenos de *M. tuberculosis* y la liberación de las citocinas como interferón gamma (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (13). La bacteria permanece en estado de latencia por años esperando la oportunidad para volver a replicarse activamente. Estos individuos con tuberculosis latente están sanos y no son contagiosos. Con base en la prueba de la tuberculina, se estima que la tercera parte de la población mundial está infectada (1). Esta cifra es alarmante y una de las líneas de investigación básica más activas en el campo de la tuberculosis está en descifrar cuáles son los genes que se activan o desactivan cuando la micobacteria pasa de un estado latente a uno de activación. Estos descubrimientos serían el principio para diseñar vacunas o quimioterapias para prevenir la enfermedad. Utilizando modelos *in vitro* e infecciones en ratones, hay una lista creciente de moléculas de la micobacteria que parecen conferir ventajas para el crecimiento o persistencia, las cuales incluyen la enzima isocitrato de liasa que le permite a la bacteria usar acetato y ácidos grasos como única fuente de carbono (14), o los factores sigma SigA, SigE y SigH que regulan la expresión de genes (15-17). Sin embargo, el esclarecimiento de las bases moleculares de la persistencia es un proceso complejo que no sólo depende de factores en la

micobacteria, sino también de la respuesta inmune del hospedero (13).

Factores que incrementan el riesgo de reactivación de la tuberculosis

Algunos grupos de personas tienen mayor riesgo de desarrollar tuberculosis debido a una infección reciente o a una circunstancia que facilite la reactivación de *M. tuberculosis* latente (18). Es importante identificar estas personas ya que la detección de la tuberculosis latente en individuos de alto riesgo y la administración de un tratamiento quimioproláctico preventivo ha sido la base de los programas de prevención de la tuberculosis en países donde las medidas de salud pública han sido relativamente exitosas, como en EE.UU. (18). Además, el tratamiento quimioproláctico con isoniacida es costo-efectivo, cuando se compara con esquemas más complejos con múltiples drogas y por períodos más extensos (19).

Los grupos de alto riesgo en los que se deben hacer campañas preventivas son:

Contactos de personas con tuberculosis pulmonar: las personas infectadas recientemente con *M. tuberculosis* tienen mayor riesgo de adquirir la enfermedad (10% en los primeros dos años y, luego, disminuye a 10% por el resto de la vida) (20). Esto incluye los contactos de pacientes a quienes se les diagnostica tuberculosis pulmonar y los que muestran conversión de la tuberculina de negativa a positiva. Los niños menores de 5 años y los ancianos están entre los más susceptibles. Es por esto que cada vez que se identifica un nuevo paciente, se debe hacer un estudio de contactos para evaluar la infección reciente y determinar la quimioprolaxis. Ciertas ocupaciones y circunstancias contribuyen a incrementar la transmisión de la infección y, por ende, a facilitar el contagio. Tal es el caso de los empleados y los habitantes de los ancianatos, de los asilos de las personas sin casa, de las cárceles y de los hospitales (13,18). En Colombia, es factible que exista una alta incidencia de tuberculosis en los grupos desplazados hacia las ciudades como consecuencia de la violencia en el campo.

Entidades clínicas que facilitan la reactivación de tuberculosis: la infección con el virus de inmunodeficiencia humana adquirida (VIH), causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), es el factor que más contribuye a la progresión de tuberculosis latente a enfermedad. Estos individuos tienen un riesgo de adquirir tuberculosis de 10% por año (21). Las personas con fibrosis pulmonar, 10% menos del peso recomendado, silicosis, diabetes mellitus, falla renal crónica/hemodiálisis, tratamiento prolongado con drogas inmunosupresoras, uso de alcohol y drogas, entre otras (18), tienen también mayor riesgo de reactivación.

La identificación de tuberculosis latente se usa como tamizaje en individuos con alto riesgo para contraer la enfermedad. A aquéllos con pruebas positivas se les realiza un examen físico y radiológico y, con base en los resultados, se considera el comienzo del tratamiento profiláctico. Este es uno de los esquemas que se usan para el control y la eliminación de la tuberculosis en EE.UU., un país que ha logrado la incidencia más baja en su historia (22,23).

Herramientas para la detección de tuberculosis latente

Tuberculina

Infelizmente, no existe una prueba de oro para detectar los individuos sanos infectados con *M. tuberculosis*. En su ausencia, la prueba de la tuberculina se ha utilizado por más de 100 años como tamizaje para tuberculosis latente (cuadro). Esta prueba consiste en la inyección intradérmica de un complejo de antígenos (derivado proteico purificado o PPD) de *M. tuberculosis* en el antebrazo. Aquéllos con infección previa con *M. tuberculosis* desarrollan una reacción de hipersensibilidad retardada a los componentes antigénicos, la cual resulta en induración alrededor del sitio de inoculación. Por el método de Mantoux, se inyectan 5 unidades de tuberculina y 48-72 horas más tarde se lee el diámetro de la induración en mm (18). El punto de corte de induración depende del estado inmunológico del paciente y de la vacunación previa con bacilo Calmette-Guerin (BCG). Una prueba positiva (induración=10-

Cuadro. Comparación de la tuberculina con la nueva generación de pruebas para evaluar la tuberculosis latente.

Prueba	Antígenos y función	Ventajas	Desventajas
Tuberculina	<ul style="list-style-type: none"> • PPD de MTB: experimental 	<ul style="list-style-type: none"> • técnica sencilla • bajo costo • disponible en Colombia 	<ul style="list-style-type: none"> • requiere dos visitas al paciente • lectura de induración es subjetiva • baja especificidad: reacción cruzada con micobacterias ambientales y vacunación con BCG • baja sensibilidad en pacientes suprimidos
Quantiferon	<ul style="list-style-type: none"> • PPD MTB: experimental • PPD <i>M. avium</i>: especificidad • Mitógeno: viabilidad de linfocitos 	<ul style="list-style-type: none"> • técnica sencilla • especificidad > tuberculina • sensibilidad > tuberculina • 1 visita al paciente 	<ul style="list-style-type: none"> • requiere linfocitos viables • pobre concordancia con la tuberculina • reacción cruzada: vacunación reciente BCG • No está disponible en Colombia
ELISPOT	<ul style="list-style-type: none"> • Péptidos ESAT-6: experimental • Péptidos CFP-10: experimental • Mitógeno: viabilidad de linfocitos • PPD MTB: referencia versus antígenos recombinantes 	<ul style="list-style-type: none"> • sensibilidad > tuberculina • especificidad > tuberculina • especificidad > Quantiferon 	<ul style="list-style-type: none"> • requiere linfocitos viables • técnica compleja • costoso • conteo manual de manchas • requiere evaluación en hispanos

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; PPD: derivado proteico purificado

15 mm, según el estado inmunológico del paciente o vacunación previa), sugiere infección con *M. tuberculosis* y riesgo de desarrollar la enfermedad. Las ventajas de la tuberculina son que la prueba es técnicamente sencilla de realizar, tiene una sensibilidad del 80% en individuos sin inmunosupresión aparente (24) y, en Colombia, se aplica sin costo cuando se hace a través de un programa de control de tuberculosis o tiene un costo para particulares de Col \$25.000, aproximadamente. La alta complejidad antigénica de la tuberculina compromete su especificidad, lo cual resulta en la posibilidad de presentar falsos-positivos en pacientes vacunados con BCG o en aquellos expuestos a micobacterias ambientales, (18,25). Esto la hace impráctica en la mayoría de los países donde la tuberculosis es endémica, como en Colombia. Otras limitaciones incluyen los errores en la inoculación y en la lectura de la induración, la necesidad de dos visitas del paciente y en su pobre desempeño en pacientes con inmunodeficiencias, particularmente en los infectados con VIH (26).

Quantiferon

El descubrimiento del papel de los linfocitos T y de su secreción de IFN- γ en la infección con *M. tuberculosis* ha llevado al desarrollo de inmunoensayos *in vitro* para detectar la respuesta celular inmune dirigida contra antígenos de *M. tuberculosis*. El Quantiferon-tuberculosis™ es un ensayo desarrollado en Australia (Cellestis Limited, St Kilda) para la detección de tuberculosis latente. Esta prueba se basa en la cuantificación de IFN- γ que es liberado por linfocitos sensibilizados de sangre periférica. La prueba se realiza incubando 1 ml de sangre periférica anticoagulada con heparina en presencia de diferentes antígenos: suero salino como control negativo, derivado proteico purificado de *M. tuberculosis* (PPD humana) como antígeno de *M. tuberculosis*, derivado proteico purificado de *M. avium* (PPD aves) como control de especificidad ya que esta micobacteria comparte antígenos presentes en micobacterias ambientales y el mitógeno fitohemaglutinina (PHA) para evaluar la

viabilidad y la capacidad de linfoproliferación de los linfocitos de cada paciente *in vitro*. Luego de 12-24 horas a 37°C, la producción de IFN- γ se mide en los sobrenadantes del cultivo. En los cálculos se tiene en cuenta la reactividad inducida por el PPD de *M. tuberculosis* en relación con la viabilidad de los linfocitos (PHA) y la reactividad inducida por los antígenos de micobacterias ambientales a través del PPD de *M. avium* como control de especificidad. Es decir, la reactividad inducida por PPD de *M. avium* se resta del valor obtenido del PPD humano (14,26-29). Un resultado positivo se define por los siguientes criterios:

1) (PPD humano - control negativo)/(PHA - control negativo) = 0,15

2) (PPD humano - control negativo)-(PPD aves - control negativo)/ PPD humano - control negativo) = -0,10

Esta prueba ofrece varias ventajas. Requiere una sola visita del paciente; es más específica que la tuberculina ya que discrimina en parte la reactividad inducida por otras micobacterias en comparación con *M. tuberculosis*, y tiene menor reactividad cruzada con individuos vacunados con BCG por tener un control de especificidad con antígenos de *M. avium*. En EE.UU. el quantiferon fue aprobado en el 2001 y, actualmente, el CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) está evaluando su utilidad en el contexto clínico. Uno de los retos para su implementación en ese país ha sido la confusión sobre su interpretación debido a que la mayoría de los estudios que comparan la tuberculina con el Quantiferon muestran una concordancia pobre, con valores kappa en un rango de 0,16 a 0,73, según la población estudiada (26,28,29). En un estudio reciente, la concordancia fue más baja en el grupo de pacientes con inmunosupresión, los cuales tienen el mayor riesgo de contraer la enfermedad. Esta discordancia puede deberse en parte a las limitaciones inherentes a la tuberculina, la cual no es una prueba de oro, incluso la subjetividad en la lectura de la induración, los falsos positivos debido a previa vacuna con BCG, o los falsos negativos debido a una infección pasada que no alcanza a ser evidente. Con base en los estudios realizados hasta el momento, el CDC ha aprobado el uso del quantiferon para identificar individuos

con tuberculosis latente (como inmigrantes de países endémicos, drogadictos intravenosos, personal de la salud, personal militar, individuos sin casa y empleados de prisiones o asilos) (30). Sin embargo, aún no se han realizado estudios adecuados que permitan recomendar la prueba en personas con alto riesgo de progresar a una tuberculosis activa una vez se han infectado, inclusive individuos infectados con el virus del sida, diabéticos, menores de 17 años y mujeres embarazadas, entre otros. Actualmente, tampoco se recomienda en individuos con una sospecha de tuberculosis activa ya que los datos preliminares indican una menor sensibilidad del quantiferon comparado con la tuberculina. Esto último puede deberse a la disminución en la producción del IFN- γ en individuos con tuberculosis activa (30). El quantiferon no es práctico para estudios de campo por requerir linfocitos viables. Esto implica que la sangre no se puede conservar en hielo y que se debe incubar con los antígenos en menos de 8 horas. Esta prueba aún no se ha evaluado en Colombia.

Un avance científico importante es el descubrimiento de la región RD-1 (*region of difference-1*) en el cromosoma de *M. tuberculosis* y *Mycobacterium bovis*. Consiste de un segmento de 9,5 kb que codifica para antígenos expresados por micobacterias del complejo tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis* y *Mycobacterium africanum*), pero que está ausente en la cepa BCG y la mayoría de las micobacterias ambientales (excepto *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai* y *Mycobacterium marinum*) (31-33). En esta región se codifica para los antígenos ESAT-6 [*early secreted antigenic target* de 6 kd] y CFP-10 (*culture filtrate protein* de 10 kd). Más recientemente, se está evaluando el Quantiferon con estos antígenos recombinantes para incrementar la especificidad (34). Los datos preliminares sugieren alta especificidad con disminución en sensibilidad. Esta prueba está en experimentación y no se encuentra disponible al público.

ELISPOT para IFN- γ

El ELISPOT (*enzyme-linked immuno-spot*) está basado en el mismo principio que el Quantiferon:

la identificación de linfocitos T en sangre periférica (CD4 o CD8) que liberan IFN- γ al reconocer antígenos específicos de *M. tuberculosis* (35-38). El diseño es similar al del antígeno de captura por ELISA y detecta la secreción de IFN- γ adyacente a cada linfocito secretor de esta citocina. Al revelar la reacción, cada 'mancha' corresponde al IFN- γ liberado por un linfocito específico para el antígeno de la *M. tuberculosis* presente en el pozo. Los resultados se contabilizan como *spot forming cells* (SFC), o células formadoras de manchas. Los péptidos de los antígenos ESAT-6 y CFP-10 (al igual que el Quantiferon) han dado excelentes resultados, por ser: 1) específicos para *M. tuberculosis* y no para las cepas de *M. bovis* usadas para la vacuna BCG, o para la mayoría de las micobacterias ambientales (excepto *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum*) (31), y 2) ambos antígenos contienen péptidos inductores de respuesta celular de linfocitos T en personas con previa exposición a *M. tuberculosis* (35-38).

Para realizar la prueba, las células mononucleares de sangre periférica de pacientes o controles se aíslan. Luego, se incuban en un microplato de 96 pozos que está previamente cubierto con anti-IFN- γ en presencia de: 1) péptidos de los antígenos ESAT-6 o CFP-10 para determinar la presencia de linfocitos sensibilizados contra *M. tuberculosis*; 2) mitógenos para evaluar la viabilidad de los linfocitos, y 3) antígenos complejos de *M. tuberculosis* como el derivado proteico purificado para comparar con la reacción detectada con los péptidos de ESAT-6 y CFP-10. Luego de incubar las células mononucleares y los péptidos por 14 horas a 37°C, se lavan los pozos y se agregan en secuencia, con lavados entre cada incubación, anti-IFN- γ biotinilado, estreptoavidina-fosfatasa alcalina y un sustrato cromogénico para detectar esta enzima. Luego, se contabilizan las SFC en cada pozo y se considera positivo cuando hay más de 15 por pozo.

Los resultados con esta nueva técnica aún son preliminares, pero sugieren mayor especificidad y sensibilidad comparado con la tuberculina. El ELISPOT ha sido positivo en 96% de 47 pacientes con tuberculosis activa y confirmada por cultivo

y 85% de 26 personas con una probable tuberculosis latente, basada en estudio de contactos con tuberculina positiva (36). En otro estudio prospectivo de 50 contactos recientes de pacientes con tuberculosis que no presentaban síntomas de enfermedad, se midió el nivel de exposición a *M. tuberculosis* y se comparó la eficiencia del ESAT-6-ELISPOT con la tuberculina. El ELISPOT mostró una correlación positiva que incrementaba en intensidad en proporción al nivel de exposición (IC95% 2,6-31,6; $p=0,001$), mientras que la tuberculina mostró una relación más baja (IC95% 1,0-3,5; $p=0,05$). El ELISPOT no se correlacionó con una previa vacunación con BCG ($p=0,7$), mientras que la tuberculina sí tuvo una tendencia a hacerlo ($p=0,03$) (35). En un tercer estudio realizado en India, se utilizó el ELISPOT con péptidos de los antígenos ESAT-6 y CFP-10, para estimar la prevalencia de infección con *M. tuberculosis* en 100 individuos sanos de India y 40 de Inglaterra. Los resultados se compararon con la tuberculina usada de rutina para este efecto. El ELISPOT fue positivo en 80% de los casos en Bombay, India, y 0% en el Reino Unido, incluso en 33 que habían sido previamente vacunados con BCG. La tuberculina detectó 98% y 85% de infección latente en estas dos poblaciones, respectivamente (39). La sobreestimación del PPD puede deberse a los falsos positivos que presenta esta prueba en personas vacunadas con BCG, o expuestas a micobacterias ambientales.

Aunque los resultados del ELISPOT son buenos, aún queda pendiente validar la técnica en diferentes grupos étnicos ya que el reconocimiento de antígenos depende de los antígenos de histocompatibilidad HLA, los cuales son altamente heterogéneos en diferentes poblaciones (40). Hasta el momento, la técnica no se ha evaluado en hispanos. El ELISPOT aún no es práctico para uso general por ser una técnica costosa y técnicamente compleja. También, se debe automatizar el conteo de manchas o SFC. Aunque se superen estos detalles técnicos, al igual que el Quantiferon, el ELISPOT depende de linfocitos viables para medir la respuesta inmune específica. Esto implica la necesidad de procesar las muestras de sangre lo más rápidamente posible y bajo condiciones controladas.

¿Cuál es el método de elección?

Los avances en la inmunología y la biología molecular de la tuberculosis han permitido el diseño de una nueva generación de pruebas para la detección de la tuberculosis latente. Sin embargo, aún no existe una prueba que cumpla con las condiciones ideales de bajo costo, simplicidad, sensibilidad y especificidad. Aunque el Quantiferon ya está comercialmente disponible y parece ser superior a la tuberculina en cuanto a sensibilidad y especificidad, es prematuro especular que estas pruebas se deban implementar en Colombia. Antes de considerar un cambio, se debe: 1) tener en cuenta los resultados que van surgiendo de las investigaciones que se están llevando a cabo en otros países para determinar las ventajas y limitaciones de la prueba; 2) realizar estudios de costos para determinar las implicaciones económicas para el sistema de salud de nuestro país, y 3) realizar estudios piloto en nuestra población, la cual es genéticamente diversa y endémica para tuberculosis para determinar las pautas en la interpretación de los resultados y las ventajas frente a la tuberculina. Entretanto, debemos estar pendientes de los avances con la segunda generación del Quantiferon, la cual puede incrementar la especificidad, y la simplificación del ELISPOT, la cual parece ser la prueba de elección en cuanto a sensibilidad y especificidad.

Mientras no exista una prueba ideal para detectar individuos con tuberculosis latente y con alto riesgo de progresar hacia la forma clínica, los investigadores continuaremos en la tarea de diseñar pruebas mejoradas o que complementen las ya existentes. La estrategia ideal sería identificar las personas con tuberculosis latente que están comenzando a desarrollar tuberculosis clínicamente activa, pero en un estadio temprano en que aún no se detectan micobacterias con los métodos microbiológicos de rutina (cultivo y examen directo). Nuestro grupo de investigación está evaluando la utilidad del PCR cuantitativo con el fin de identificar ADN de *M. tuberculosis* en sangre periférica. Este tipo de pruebas están basadas en la presencia del microorganismo en sangre (bacteriemia) o, quizá más importante, la presencia de fragmentos de ADN de la

micobacteria que está parcialmente digerida por macrófagos que la han fagocitado en el sitio de la infección y, luego, han entrado a la circulación (41-43). Este evento parece ser común en pacientes con sida e infectados con *M. tuberculosis* o *M. avium*, pero también se ha reportado en pacientes sin un inmunocompromiso importante (41-48). La detección de ADN de la micobacteria en sangre periférica, podría complementar aquellas estrategias que dependen de la respuesta inmune del paciente. Ello traería gran beneficio en pacientes con inmunosupresión, los cuales son más susceptibles a desarrollar tuberculosis clínica. Entretanto, los estudios de ciencia básica sobre la relación hospederobacteria durante el período de latencia nos proporcionarían información esencial sobre los eventos que ocurren en esa etapa. Estos hallazgos también podrían ser utilizados para desarrollar herramientas que superen las ya existentes en cuanto a sensibilidad y especificidad.

Utilización de las herramientas disponibles en Colombia

En nuestro país existe un vacío entre las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud (adaptadas de las normal internacionales) para el control de la tuberculosis, y su implementación rutinaria. No estamos realizando de manera sistemática los estudios clínico-epidemiológicos en los contactos de cada caso nuevo. En países donde los recursos son escasos, esta estrategia es especialmente costo-efectiva en pacientes con examen directo positivo (49). Esta estrategia permite la identificación de contactos que no han consultado al médico pero que presentan sintomatología compatible con tuberculosis, o que tienen un alto riesgo de estar infectados y desarrollar la enfermedad. Ésta es la base para definir quién debe comenzar tratamiento inmediatamente y así prevenir el desarrollo de la enfermedad y su consecuente riesgo de diseminación de la infección en la comunidad. Infortunadamente, este programa no está centralizado o supervisado por una institución, sino que depende de un sinnúmero de entidades prestadoras de servicios médicos, cada una con su propio esquema (o falta de esquema). Además

del estudio de contactos, se debe considerar el costo-beneficio de la implementación rutinaria de un programa de tratamiento profiláctico en individuos con tuberculosis latente y alto riesgo de activación (por ejemplo, VIH), tal como lo indican las normas del Ministerio de Protección Social (10). Mientras no tiene lógica ni es costo-efectivo tratar a la tercera parte de la población mundial que está asintomática pero infectada con el bacilo tuberculoso (1,2), sí puede tener impacto el tratar los infectados con alto riesgo de reactivación. En Colombia, el Ministerio de Protección Social recomienda esta estrategia en pacientes infectados con el VIH y contactos de pacientes que son menores de 5 años (10). En este contexto, las pruebas para la detección de tuberculosis latente tienen una función fundamental en el control de la tuberculosis.

Agradecimientos

Agradezco a Jaime Robledo sus sugerencias sobre el texto y al Comité Editorial de *Biomédica* por la invitación para escribir esta revisión.

Referencias

1. **Raviglione MC, Snider DE Jr, Kochi A.** Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995;273:220-6.
2. **World Health Organization.** WHO report 2002: global tuberculosis control; 2002. <http://www.who.int/gtb/publications/globrep02/downloadpage.html>
3. **Bloom BR.** Tuberculosis: pathogenesis, protection and control. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1994.
4. **Fischi MA, Daikos GL, Uttamchandani RB, Poblete RB, Moreno JN, Reyes RR, Boota AM, Thompson LM, Cleary TJ, Oldham SA.** Clinical presentation and outcome of patients with HIV infection and tuberculosis caused by multiple-drug-resistant bacilli. *Ann Intern Med* 1992;117:184-90.
5. **Mahmoudi A.** Pitfalls in the care of patients with tuberculosis. Common errors and their association with the acquisition of drug resistance. *JAMA* 1993; 270:65-8.
6. **Victoria-Restrepo J.** Situación epidemiológica de la tuberculosis en Colombia. *Revista de la Facultad Ciencias de la Salud-Universidad del Cauca* 1999; 1:27-31.
7. **American Thoracic Society.** Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-95.
8. **Grzybowski S, Barnett GD, Styblo K.** Contacts of cases of active pulmonary tuberculosis. *Bull Int Union Tuberc* 1975;50:90-106.
9. **Murray CJ, Styblo K, Rouillon A.** Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost. *Bull Int Union Tuberc Lung Dis* 1990;65:6-24.
10. **Galvis V, Bustamante-García M A, Sarmiento-Limas CA.** Guía de atención de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. República de Colombia, Ministerio de Salud, Dirección General de Promoción y Prevención; 2000. <http://www.saludcolombia.com/actual/tmlnormas/nttbc.htm>
11. **McMurray DN.** Guinea pig model of tuberculosis. En: Bloom BR, editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection and control.* Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1994. p.135-47.
12. **McMurray DN.** Hematogenous reseeding of the lung in low-dose, aerosol-infected guinea pigs: unique features of the host-pathogen interface in secondary tubercles. *Tubercle* 2003;83:131-4.
13. **Flynn JL, Chan J.** Tuberculosis: latency and reactivation. *Infect Immun* 2001;69:4195-201.
14. **McKinney JD, Honer zu BK, Munoz-Elias EJ, Miczak A, Chen B, Chan WT, Swenson D, Sacchettini JC, Jacobs WR Jr, Russell DG.** Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase. *Nature* 2000;406:735-8.
15. **Collins DM, Kawakami RP, de Lisle GW, Pascopella L, Bloom BR, Jacobs WR Jr.** Mutation of the principal sigma factor causes loss of virulence in a strain of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:8036-40.
16. **Gomez M, Doukhan L, Nair G, Smith I.** sigA is an essential gene in *Mycobacterium smegmatis*. *Mol Microbiol* 1998;29:617-28.
17. **Graham JE, Clark-Curtiss JE.** Identification of *Mycobacterium tuberculosis* RNAs synthesized in response to phagocytosis by human macrophages by selective capture of transcribed sequences (SCOTS). *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:11554-9.
18. **CDC.** ATS targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Morb Mortal Wkly Rep* 2000;49:1-51.
19. **Cohn DL.** Treatment of latent tuberculosis infection: renewed opportunity for tuberculosis control. *Clin Infect Dis* 2000;31:120-4.
20. **Ferebee SH.** Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. A general review. *Bibl Tuberc* 1970;26:28-106.
21. **Cohn DL, El-Sadr WM.** Treatment of latent tuberculosis infection. En: Reichman LB, Hershfield ES, editors.

- Tuberculosis: a comprehensive international approach. New York: Marcel Dekker; 2000. p.31-7.
22. **CDC.** Reported tuberculosis in the United States, 2001. <http://www.cdc.gov/nchstp/tb/surv/surv2001/default.htm> 2001.
 23. **Small PM, Fujiwara PI.** Management of tuberculosis in the United States. *N Engl J Med* 2001;345:189-200.
 24. **Khan K, Muennig P, Behta M, Zivin JG.** Global drug-resistance patterns and the management of latent tuberculosis infection in immigrants to the United States. *N Engl J Med* 2002;347:1850-9.
 25. **Menzies D.** Interpretation of repeated tuberculin tests. Boosting, conversion, and reversion. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:15-21.
 26. **Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, Bernardo J, Lardizabal AA, Bishai WR, Iademarco MF, Rothel JS.** Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *JAMA* 2001; 286:1740-7.
 27. **Streeton JA, Desem N, Jones SL.** Sensitivity and specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:443-50.
 28. **Pottumarthy S, Morris AJ, Harrison AC, Wells VC.** Evaluation of the tuberculin gamma interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. *J Clin Microbiol* 1999;37:3229-32.
 29. **Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, Belisle JT, Brennan PJ, Spencer JS, Engler RJ.** Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:339-45.
 30. **Mazurek GH, Villarino M.** Guidelines for using quantiFERON-TB test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52/RR-2:15-8.
 31. **Sorensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen AB.** Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1995; 63:1710-7.
 32. **Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK.** Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol* 1996;178:1274-82.
 33. **Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, Small PM.** Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 1999;284:1520-3.
 34. **Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P.** Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:462-7.
 35. **Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ, Reece WH, Latif M, Pasvol G, Hill AV.** Enhanced contact tracing and spatial tracking of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet* 2001;357:2017-21.
 36. **Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, Pasvol G, Hill AV.** Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:824-8.
 37. **Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, McShane H, Davidson RN, Pasvol G, Hill AV, Lalvani A.** Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN-gamma-secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol* 2001;167:5217-25.
 38. **Lalvani A.** CD8 cytotoxic T cells and the development of new tuberculosis vaccines. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:789-90.
 39. **Lalvani A, Nagvenkar P, Udwadia Z, Pathan AA, Wilkinson KA, Shastri JS, Ewer K, Hill AV, Mehta A, Rodrigues C.** Enumeration of T cells specific for RD1-encoded antigens suggests a high prevalence of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthy urban Indians. *J Infect Dis* 2001;183:469-77.
 40. **Barnes PF.** Diagnosing latent tuberculosis infection: the 100-year upgrade. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 63:807-8.
 41. **Schluger NW, Condos R, Lewis S, Rom WN.** Amplification of DNA of *Mycobacterium tuberculosis* from peripheral blood of patients with pulmonary tuberculosis. *Lancet* 1994;344:232-3.
 42. **Kulski JK, Khinsoe C, Pryce T, Christiansen K.** Use of a multiplex PCR to detect and identify *Mycobacterium avium* and *M. intracellulare* in blood culture fluids of AIDS patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:668-74.
 43. **De Francesco MA, Colombrita D, Pinsi G, Gargiulo F, Caligaris S, Bertelli D, Martinelli F, Gao J, Turano A.** Detection and identification of *Mycobacterium avium* in the blood of AIDS patients by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:551-5.
 44. **Rolfs A, Beige J, Finckh U, Kohler B, Schaberg T, Lokies J, Lode H.** Amplification of *Mycobacterium tuberculosis* from peripheral blood. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3312-4.
 45. **Aguado JM, Rebollo MJ, Palenque E, Folgueria L.** Blood-based PCR assay to detect pulmonary tuberculosis. *Lancet* 1996;347:1836-7.

46. **Condos R, McClune A, Rom WN, Schluger NW.** Peripheral-blood-based PCR assay to identify patients with active pulmonary tuberculosis. *Lancet* 1996; 347:1082-5.
47. **Del Prete R, Mosca A, D'Alagni M, Sabato R, Picca V, Miragliotta G.** Detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in blood of patients with acute pulmonary tuberculosis by polymerase chain reaction and non-isotopic hybridization assay. *J Med Microbiol* 1997;46:495-500.
48. **Ahmed N, Mohanty AK, Mukhopadhyay U, Batish VK, Grover S.** PCR-based rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in blood from immunocompetent patients with pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1998;36:3094-5.
49. **Wares DF, Akhtar M, Singh S, Luitel H.** Is TB contact screening relevant in a developing country setting? Experiences from eastern Nepal, 1996-1998. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:920-4.

