

MESA: Microbiología

Moderadores: **Teresa Tórtola.** *Unitat Salut Internacional-TB Drassanes. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.*
Eduardo Padilla. *Laboratori de Referència de Catalunya. El Prat de Llobregat.*

Evolución de la tuberculosis en la ciudad de Sevilla: características epidemiológicas e impacto de un programa interdisciplinar e interniveles (2010-2017)

Eduardo Briones¹, Verónica González², Rafael Luque², Juan F. Medina³

¹Unidad de Salud Pública Sevilla, Distrito Sevilla, SAS. ²UGC de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva. HHUU Virgen del Rocío. ³UGC Neumología y Cirugía Torácica HHUU Virgen del Rocío. Sevilla.

Correspondencia:
Eduardo Briones
E-mail: eduardobrionespb@gmail.com

Introducción

La incidencia de tuberculosis en la ciudad de Sevilla presentó una tendencia ascendente en el periodo 2010-2013, con tasas en el año 2013 casi el doble que el conjunto de Andalucía. Se realizó un análisis epidemiológico que mostraba una situación similar a la de otras ciudades europeas en cuanto a la acumulación de factores de riesgo y fragmentación en la asistencia sanitaria, con elevada variabilidad asistencial y dificultades en la coordinación con otras instituciones sociales, penitenciarias o de drogodependencias^{1,2}. Esto motivó la puesta en marcha de un proyecto de control de la enfermedad con el objetivo de canalizar todas las intervenciones en este campo, mejorar la calidad de la asistencia y los resultados del programa en la ciudad. Se constituyó una comisión de coordinación multidisciplinar e interniveles (CCTB-Se) en la que participan todos los servicios implicados de los Hospitales Virgen del Rocío, Virgen Macarena y de los Distritos de Atención Primaria correspondientes (Unidades de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva, Neumología y Cirugía Torácica, Atención Primaria de las zonas más afectadas y Unidad de Gestión de Salud Pública).

Objetivo

Analizar la evolución de la tuberculosis en la ciudad de Sevilla en el periodo 2010-2017 y el posible impacto de las medidas adoptadas.

Metodología

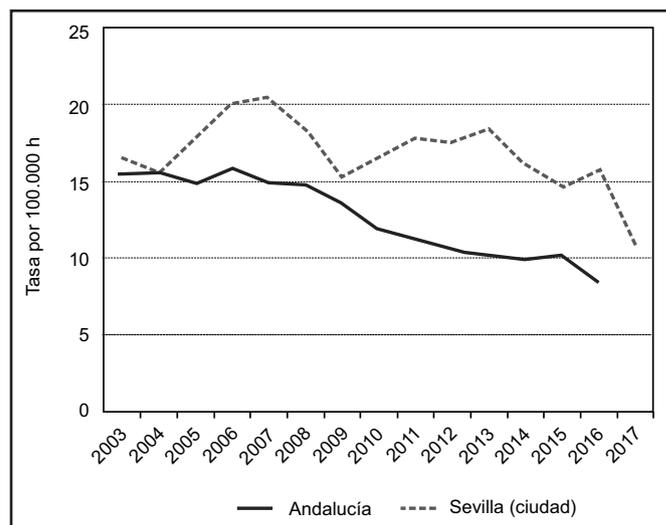
Para el análisis de los datos se ha utilizado la base de datos del proyecto que incluye la información recogida en el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía (SVEA), completada con los datos microbiológicos y de la historia clínica digital. Se elaboraron indicadores de seguimiento y de cumplimentación de datos para el control de calidad, basados en los definidos por el Ministerio de Sanidad. Se han realizado comparaciones entre los indicadores obtenidos para el periodo 2010-13 y 2014-17.

Tras la puesta en marcha de la comisión de coordinación se pusieron en marcha las siguientes líneas de trabajo:

- Elaboración de protocolos consensuados de coordinación asistencial y comunicación de incidencias (declaración de casos, derivación de pacientes a unidades clínicas, análisis de retrasos diagnósticos, pautas de tratamiento y seguimiento, etc.). Revisión conjunta de casos de especial complejidad y consenso sobre criterios asistenciales y preventivos.
- Refuerzo del sistema de vigilancia: búsqueda activa de casos, sistematización de la recogida de datos, realización de informes periódicos y retroalimentación a los profesionales.
- Acuerdos de colaboración con las instituciones del entorno como Ayuntamiento, servicios sociales, ONGs, centros de acogida de personas sin hogar y de drogodependencias, centros penitenciarios, etc.

- Incorporación de la función de enfermería de salud pública en el programa con actuaciones específicas como: elaboración de planes de adherencia al tratamiento, coordinación con enfermeras gestoras de casos y de familia en los centros de salud, estandarización de prueba tuberculina y controles de calidad, coordinación de recursos socio-sanitarios (seguimiento activo y estudio de contactos).
- Se inició el análisis genotípico³ sistemático de todos los aislados de *M. tuberculosis*, estudiando de forma retrospectiva los aislamientos de los años 2005, 2016 y prospectivamente 2017 y 2018 para identificar las cepas circulantes, su linaje⁴ y permitir el diseño de un panel de VNRT-MIRUS abreviado de aplicación rápida y preliminar de la identificación clonal.

Figura 1. Tasa de incidencia de tuberculosis en Sevilla (2003-2017).



Conclusiones

El programa de tuberculosis de la ciudad de Sevilla está consiguiendo resultados positivos mediante el modelo de coordinación interniveles (CCTBSe), tanto en los indicadores asistenciales como preventivos. Las medidas adoptadas han conseguido optimizar los recursos, principalmente adaptando de los ya existentes. Es necesario profundizar en las líneas de trabajo, manteniendo las actuaciones en las zonas más afectadas, mediante la intervención precoz y la coordinación en el seguimiento de los casos y estudios de contactos.

Bibliografía

1. Caylà JA, Orcau A. Control of tuberculosis in large cities in developed countries: an organizational problem. *BMC Med.* 2011;9:127. doi: 10.1186/1741-7015-9-127.
2. de Vries G, Aldridge RW, Caylà JA, Haas WH, Sandgren A, van Hest NA, Abubakar I. The Tuberculosis in European Union Big Cities Working Group. Epidemiology of tuberculosis in big cities of the European Union and European Economic Area countries. *Euro Surveill.* 2014;19(9) :pii=20726.
3. Supply P, Allix C, Lesjean S, Cardoso-Oelemann M, Rüsch-Gerdes S, et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.* 2006;44:4498-4510. doi:10.1128/JCM.01392-06.
4. Stucki D, Malla B, Hostettler S, Huna T, Feldmann J, et al. Two New Rapid SNP-Typing Methods for Classifying *Mycobacterium tuberculosis* Complex into the Main Phylogenetic Lineages. *PLoS ONE* 2012;7(7): e41253. doi:10.1371/journal.pone.0041253.

Resultados

Entre los años 2010 y 2013 se produjo un aumento de la incidencia de tuberculosis en Sevilla, pasando de 15,2 a 19,2 casos por 100.000 habitantes, a diferencia de la tendencia general descendente en Andalucía y España. A partir del año 2014 se ha producido un descenso paulatino de la incidencia en Sevilla hasta unas tasas de 10,9 en 2017, más próximas a las de nuestro entorno (Figura 1). La incidencia media se redujo en un 20,7% entre ambos periodos, siendo mayor la reducción en los casos bacilíferos (33%) y en los casos infantiles (26,7%). El descenso se ha producido en todas las zonas de la ciudad, aunque se mantiene una incidencia elevada en las zonas con mayor vulnerabilidad social con tasas por encima de 50 casos por 100.000 habitantes. La proporción de casos en personas nacidas fuera de España se ha mantenido constante en torno al 20%.

Se consiguió aumentar los casos con estudio de contactos realizado de forma sistematizada del 75% hasta más el 95% de los casos pulmonares y al 99% en los bacilíferos. De igual forma se ha conseguido aumentar el porcentaje de pacientes que finalizan el tratamiento de forma correcta hasta el 96% en los casos diagnosticados en 2016.

Se han estudiado más de 300 cepas de *M. tuberculosis* aisladas desde el año 2015. Con el empleo de las técnicas moleculares para el genotipado y linaje se han caracterizado las cepas obteniéndose un registro de las cepas circulantes. Del mismo modo se ha diseñado un panel de 6 VNRT-MIRUS abreviado de aplicación rápida y preliminar que permite la identificación precoz de brotes y agrupaciones de casos que podrían pasar inadvertidos en la primera fase del estudio epidemiológico.

Eficacia del Xpert® MTB/RIF ultra en el diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar

Fernando Alcaide

Servei de Microbiologia. Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL. Departament de Patologia i Terapèutica Experimental. Universitat de Barcelona. Fundació Unitat d'Investigació de Tuberculosis de Barcelona (FUITB). Grupo de Estudio de las Infecciones por Micobacterias (GEIM) de la SEIMC

Correspondencia:

Fernando Alcaide

E-mail: falcaide@bellvitgehospital.cat

La tuberculosis (TB) continúa siendo uno de los mayores problemas de salud pública. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2017 hubo en el mundo 10 millones de casos nuevos de TB activa y 1,6 millones fallecieron por esta enfermedad¹. Además se estimó que, en ese año, 558.000 personas tuvieron una TB resistente a la rifampicina y que el 82% de ellas desarrollaron una tuberculosis multirresistente (TB-MDR). El retraso diagnóstico, tanto el de enfermedad como el de la TB-MDR, es uno de los mayores obstáculos para su control a nivel mundial¹. La TB extrapulmonar representó el 15% de los casos notificados, siendo su frecuencia notablemente mayor en las personas con inmunodeficiencia¹.

El diagnóstico microbiológico de la TB se ha basado en la microscopía directa de la muestra (tinciones de Ziehl-Neelsen y/o Auramina-Rodamina) y en el cultivo. Aunque la método más rápido, sencillo y económico disponible es la baciloscopia, esta tiene poca sensibilidad y fundamentalmente en las muestras no respiratorias². Por otro lado, el cultivo de micobacterias, continúa siendo el método de referencia por su buena sensibilidad y permitir diversos estudios posteriores de sensibilidad y epidemiología, pero no deja de ser un método excesivamente lento que conlleva un importante retraso diagnóstico^{3,4}. Por ello se han desarrollado nuevos métodos moleculares para el diagnóstico de la TB a partir de las muestras clínicas y muy especialmente la PCR en tiempo real, donde la amplificación y detección del producto se realiza de forma simultánea, utilizando sondas marcadas con moléculas fluorescentes⁵. Uno de estos métodos es el sistema integrado Xpert® MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, California, EE UU) que ha supuesto un enorme avance en este terreno. Este sistema permite detectar DNA de *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTUBC) y las mutaciones en el gen *rpoB* más frecuentemente relacionadas con la resistencia a la rifampicina, en las muestras clínicas, de forma muy rápida (2 horas) y con una gran sensibilidad y especificidad. El Xpert® MTB/RIF realiza la extracción del

DNA, amplificación e hibridación de forma automática en un solo cartucho de forma automática y sin apenas manipulación, evitando las posibles contaminaciones cruzadas. Este sistema molecular, aprobado por la OMS en 2010⁶, ha demostrado ser una herramienta útil para la detección de la tuberculosis pulmonar^{7,8}. Sin embargo, su sensibilidad para las muestras extrapulmonares sigue siendo un desafío debido a su baja carga bacilar⁹.

El nuevo Xpert® MTB / RIF Ultra de última generación recientemente desarrollado (GX-Ultra; Cepheid) pretende superar las limitaciones de su predecesor al aumentar la sensibilidad para la detección del DNA de MTUBC cuando hay pocos bacilos en la muestra clínica¹⁰. Este nuevo sistema de PCR en tiempo real difiere de su predecesor en varios aspectos: la cámara de reacción de PCR es más grande con una capacidad total de 50 µl en lugar de los 25 µl en el cartucho anterior, la incorporación de dos dianas multicopias más de DNA (secuencias de inserción IS1081 e IS6110) y la optimización de los parámetros de la PCR y ciclos térmicos. Los resultados se proporcionan automáticamente en 77 minutos si el material genético es amplificado o en 66 minutos si no lo hace. Los resultados semicuantitativos de sistema, clasifica la detección de DNA de MTUBC en *Alto, Medio, Bajo, Muy bajo*, y una nueva categoría denominada *Trazas* ("Trace"), y clasifica la resistencia a la rifampicina en *Detectada, No detectada* o *Indeterminada*.

El objetivo del presente estudio fue analizar la efectividad de Xpert MTB / RIF Ultra (GX-Ultra) para la detección del DNA de MTUBC en 108 muestras extrapulmonares con baciloscopia negativa que fueron positivas para el cultivo de MTUBC. Además, se analizaron 40 muestras de cultivo extrapulmonar negativo y 20 muestras con micobacterias no tuberculosas para evaluar la especificidad de este nuevo sistema. Todas las muestras se recolectaron entre mayo de 1999 y mayo de 2017. El GX-Ultra detectó el DNA de MTUBC en 82 muestras extrapulmonares que fueron positivas para el cultivo de MTUBC (sensibilidad del 75,9%;

IC del 95% de 66,6-83,4%). Sin embargo, el GX-Ultra fue negativo en todas las muestras clínicas que tuvieron cultivo negativo de MTUBC y en las que crecieron micobacterias no tuberculosas (100% de especificidad). Además, dos muestras (1,8%) presentaron mutaciones relacionadas con la resistencia a la rifampicina. La mayor sensibilidad se obtuvo en muestras de ganglios linfáticos (94,1%) y líquidos no estériles (93,7%), seguidos de muestras de tejido (86,6%), material de heces (80%), aspirados de abscesos (64,7%) y líquidos estériles (60,5%). Los líquidos pleurales, una de las muestras de menor rendimiento en la detección de DNA de MTUBC, fueron GX-Ultra positivos en 10 de los 21 casos (47,6%). En resumen, el GX-Ultra mostró una excelente especificidad y alta sensibilidad en las muestras paucibacilares, lo que la convierte en una herramienta útil para el diagnóstico rápido de la tuberculosis extrapulmonar.

Bibliografía

1. World Health Organization. 2018. Global tuberculosis report 2018. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
2. Armand S, Vanhuls P, Delcroix G, Courcol R, Lemaître N. Comparison of the Xpert MTB/RIF test with an IS6110-TaqMan Real-Time PCR assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1772-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.02157-10>.
3. Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, Cohn DL, Daley CL, Desmond E, et al. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children. *Clin Infect Dis*. 2017;64:111-115. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw778>.
4. Pai M, Flores LL, Pai N, Hubbard A, Riley LW, Colford JM, Jr. Diagnostic accuracy of nucleic acid amplification tests for tuberculous meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2003;3:633-43.
5. Alcaide F, Coll P. Advances in rapid diagnosis of tuberculosis disease and anti-tuberculous drug resistance. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:34-40. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(11\)70016-7](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(11)70016-7).
6. World Health Organization. 2011. Automated Real-Time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. 2011. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
7. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med*. 2010;363:1005-15. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907847>.
8. Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol*. 2010;48:229-37. <https://doi.org/10.1128/JCM.01463-09>.
9. Moure R, Martín R, Alcaide F. Effectiveness of an integrated Real-Time PCR method for detection of the Mycobacterium tuberculosis complex in smear-negative extrapulmonary samples in an area of low tuberculosis prevalence. *J Clin Microbiol*. 2011;50: 513-5. <https://doi.org/10.1128/JCM.06467-11>.
10. World Health Organization. 2017. WHO meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Complementariedad entre la epidemiología genómica y la epidemiología convencional: ejemplos de su aplicación práctica en Castellón

Iñaki Comas¹, Irving Cancino-Muñoz^{1,2}, Maria Àngels Romeu-García³, Alberto Arnedo-Pena³, Juan B. Bellido-Blasco^{3,4}

¹Unidad de Genómica de la Tuberculosis, Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC), Calle Jaime Roig 11, 46010, Valencia. ²FISABIO Salud Pública, Generalitat Valenciana, Avenida de Cataluña 21, 46010, Valencia. ³Sección de Epidemiología. Centro de Salud Pública de Castellón. Conselleria de Sanitat Univesal. Generalitat Valenciana. ⁴CIBERESP.

Correspondencia:

Iñaki Comas

E-mail: icomas@ibv.csic.es

La epidemiología molecular de la tuberculosis ha jugado en el pasado un papel importante para poder entender diferentes aspectos de la enfermedad (Kato-Maeda et al. 2011). Al principio de los noventa reveló que la transmisión reciente jugaba un

papel muy importante en la incidencia de la enfermedad (Small et al. 1994). Más tarde el uso del genotipado identificó cepas multidrogorresistentes transmitiéndose en diferentes partes del mundo (Borrell and Gagneux 2009). En general, el uso de

diferentes marcadores moleculares han estimado el alcance de la transmisión reciente e identificado grupos y factores de riesgo asociados a transmisión.

Sin embargo, un aspecto común a los diferentes marcadores utilizados (RFLP y/o MIRU-VNTR) es que identificaban un gran número de casos de transmisión reciente que no tenían ningún vínculo epidemiológico (Comas and Gardy 2018). Esta incongruencia entre la epidemiología de contactos y la molecular es uno de los factores que ha llevado a que en un gran número de países no se considere coste-efectivo hacer una vigilancia poblacional con técnicas moleculares. A este bajo coste efectividad también han contribuido otros factores importantes como el hecho de que la epidemiología molecular no se ha podido usar todavía como una herramienta de intervención en tiempo real o en tiempo suficiente. Debido a que depende de un cultivo positivo, siempre se necesita mínimo entre cuatro y seis semanas para tener un resultado que pueda obtenerse y compararse. Como resultado el impacto de la epidemiología molecular en la investigación epidemiológica en marcha es siempre bajo.

Sin embargo estas limitaciones están cambiando con el uso del genoma completo como marcador epidemiológico (Comas 2017). A diferencia de marcadores anteriores, en este caso se usa casi el 100% de las 4,44 millones de bases del genoma de la bacteria. Esto hace que el nivel de resolución que tiene el genoma como marcador sea mucho mayor del que tenían el RFLP y el MIRU-VNTR. Por ejemplo, con el uso del genoma se ha demostrado que parte de las incongruencias entre la epidemiología de contactos y la molecular se debían a que el MIRU-VNTR sobreestima el porcentaje de transmisión (Comas and Gardy 2018).

En comparación los genomas muestran una mayor congruencia con las investigaciones epidemiológicas. También muy importante, nos permiten estimar mucho mejor el porcentaje de transmisión al igual que delimitar los grupos de transmisión. En la Comunidad Valenciana se está aplicando secuenciación genómica a todos los aislados de los últimos años. Actualmente vamos por el cuarto año de proyecto pero ya tenemos datos sobre algunos de los aspectos relevantes de la transmisión de la enfermedad. Por ejemplo usando un máximo de cinco mutaciones de distancia el porcentaje de transmisión reciente es de alrededor de un 30%, aumentando a un 35% en el caso de doce mutaciones de distancia. De ese 30% alrededor de un 15% había sido identificado como contacto por la Dirección General de Salud Pública. Este dato indica que existe por una parte una contribución importante de la transmisión al número de casos que de tuberculosis que vemos todos los años en la Comunidad Valenciana.

La estrecha colaboración entre la Unidad de Genómica de FISABIO/IBV-CSIC y Salud Pública de Castellón nos permite

mostrar las ventajas y los retos que tiene la integración de la información genómica en diferentes escenarios de investigación epidemiológica. En dos Departamentos de Salud de Castellón (480.000 h) hemos intentado aplicar los resultados de genómica en la Vigilancia Epidemiológica local. Presentamos aquí tres ejemplos: (a) El primer ejemplo es de 'confirmación retrospectiva de un brote conocido'. Ocurrió en una residencia de ancianos donde hubo 4 casos de TB; aquí la concordancia entre epidemiología convencional y genómica fue evidente. (b) El segundo ejemplo es de 'exclusión durante un brote, prospectivo'. Ocurrió en un colegio privado que acogía alumnos de 3 a 17 años (> 1400 alumnos) donde en dos meses se diagnosticaron 4 contagios: 2 casos de TB y 2 conversiones tuberculínicas, en un aula de infantil-3 años con 20 alumnos. A los tres meses fue diagnosticado un nuevo caso de TB, un alumno del grupo de los más mayores (17 años) que –atención– no tenía ninguna vinculación directa con los niños pequeños. La tensión epidémica en el colectivo era notable, y se planteó serio problema de epidemiología de campo. El análisis de genómica desvinculó este último caso del brote en el aula de infantil y lo asoció con otro cluster de 5 casos entre adultos de la ciudad. (c) El tercer ejemplo es de lo que podemos llamar 'ampliación plausible de un brote y alerta'. Ocurrió entre la población de personas sin techo extranjera que malvive en los asentamientos periurbanos y albergues sociales de la ciudad. De inicio había 2 casos con vínculo bien establecido por la epidemiología convencional; a ellos la genómica vino a sumarles 2 más, que presentaban un perfil sociodemográfico muy similar. Estos 4 casos alcanzaron la cifra de 7 ingresos por TB contando episodios iniciales y recaídas. Cabe subrayar la dificultad para trazar la cadena de transmisión más que posible en esta población.

Finalmente, en este contexto, hay que contemplar también los aspectos éticos y de confidencialidad en la investigación de cadenas de transmisión.

Bibliografía recomendada

- Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2009;13:1456–66.
- Comas I. Genomic epidemiology of tuberculosis. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1019:79-93. doi: 10.1007/978-3-319-64371-7_4
- Comas I, Gardy JL. TB Transmission: Closing the Gaps. *EBioMedicine.* 2018;34:4–5.
- Kato-Maeda M, Metcalfe JZ, Flores L. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis*: Application in epidemiologic studies. *Future Microbiol.* 2011;6:203–16.
- Small PM, Hopewell PC, Singh SP, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. *N Engl J Med.* 1994;330:1703–1709. doi: 10.1002/anie.200501327