

Introducció i fonaments teòrics per a l'ús dels tests de diagnòstic ràpid (TDR)

Josep Marès Bermúdez¹, Josep de la Flor i Brú²

¹ Institut Pediàtric Marès-Riera. Blanes (Girona). ² CAP El Serral. Sant Vicenç dels Horts. Barcelona. Institut Català de la Salut

Introducció

«Treballar amb tests de diagnòstic ràpid canvia la vida professional del pediatre d'atenció primària.»

Josep Marès i Josep de la Flor, pediatres d'atenció primària

«Hem de fer pediatria d'atenció primària, no d'atenció primitiva.»

Inés Osiniri, membre del grup de treball de Tecnologies diagnòstiques en atenció primària de la SEPEAP

«A l'hospital ens ensenyen a conduir un Ferrari i, després, en l'atenció primària ens donen un cotxe vell i avariats.»

Josep Bras, pediatre d'atenció primària

«Quan era jove somniava en tenir a la consulta proves ràpides i còmodes que em facilitessin el diagnòstic.»

Diego Van Esso, pediatre d'atenció primària

Amb aquestes frases es defineix l'esperit que motiva la nova secció de PEDIATRIA CATALANA: les consultes de pediatria d'atenció primària (AP) del nostre entorn solen estar molt poc dotades d'instrumental i de mitjans diagnòstics complementaris, tant en el sector públic com en el privat. La majoria només tenen un fonendoscopi, depressors linguals, tires reactives per orina, un pulsòximetre i un otoscopi. En l'actualitat, a Catalunya cal considerar universal el test de diagnòstic ràpid per a estreptococ, si bé no sempre se'n fa un ús adequat, com veurem més endavant en aquesta mateixa secció. Recentment, el *Plan estratégico y Nacional para el Control de las Resistencias Antibióticas* (PRAN), de l'Agència Espanyola de Medicaments i Productes Sanitaris va aconseguir el compromís de totes les comunitats autònomes per implantar aquest test a tot l'estat al final del 2018, tot i que en algun cas encara no s'ha acomplert.

El professional tracta de compensar aquest dèficit de mitjans amb empirisme, sentit comú, experiència, visió clínica... i es veu en la necessitat de fer diagnòstics majoritàriament sindròmics, subjectius, empírics, no

basats en proves i sense la possibilitat de posar etiquetes etiològiques precises. Això genera un component variable d'inseguretat, de reconsultes pautades o espontànies, de dependència d'altres nivells assistencials, amb derivació a serveis d'urgència, petició d'exploracions complementàries, interconsultes amb especialistes, i ús de terapèutiques no basades en un diagnòstic precís¹, i això afavoreix l'aparició d'un grau variable de rutina, frustració professional i desmotivació.

Els coordinadors d'aquesta secció estem convençuts que, en el futur, caldrà fonamentar progressivament la pràctica de la pediatria (i de l'AP en general), i molt especialment la relacionada amb el maneig de les malalties infeccioses, en el diagnòstic etiològic objectiu, basat en proves que es puguin fer fàcilment a la consulta mateix o al servei d'urgències, el que es coneix com anàlisi prop del pacient (*point-of-care testing*)²⁻³. Aquesta capacitat de resolució immediata i còmoda és, també, una demanda creixent de l'usuari dels serveis sanitaris, que vol que els seus problemes comuns de salut es resolguin immediatament, de manera precisa i eficient, sense la necessitat de generar més visites que les imprescindibles⁴.

En la consulta diària voldríem disposar sovint de mètodes senzills de diagnòstic etiològic ràpid que poguessin modificar, en l'acte mèdic mateix, conductes diagnòstiques i terapèutiques. És en aquest espai on tenen un paper determinats tests de diagnòstic ràpid (TDR), que els darrers anys han anat adquirint més presència en els serveis d'urgència hospitalaris –tot i que encara és molt irregular–, però que a les consultes d'AP, tant en el sector privat, com especialment en el públic, es continuen fent servir de manera molt marginal o pràcticament nul·la, exceptuant, però, el test d'estreptococ del grup A.

L'objectiu d'aquesta secció és difondre el coneixement sobre les grans possibilitats actuals del diagnòstic etiològic amb TDR a les consultes d'AP, com incorporar-los a la praxi diària i com avaluar-ne el benefici en relació amb l'impacte assistencial que comporten.

Correspondència: Josep Marès
Institut Pediàtric Marès-Riera.
c/ Costa Brava, 18-20. 17300 Blanes (Girona)
jmares@ipmaresriera.cat

Treball rebut: 26.03.2019
Treball acceptat: 10.04.2019

Marès-Bermúdez J, de la Flor-Brú J.
Introducció i fonaments teòrics per a l'ús dels tests de diagnòstic ràpid (TDR).
Pediatria Catalana. 2019;79(2):67-72.

Esperem que amb el desenvolupament d'aquesta secció el pediatre se senti motivat a continuar aprofundint en aquest camp i a treballar per incorporar el màxim nombre possible d'aquestes tècniques a llur activitat assistencial. I desitgem molt especialment que l'administració sanitària valori el fet que una bona dotació de les consultes pediàtriques d'AP en tècniques diagnòstiques complementàries, tant en TDR com en altres utilitats que anirem presentant en els propers números, és cost-beneficiosa⁵⁻⁷. Els TDR, atès que permeten fer diagnòstics basats en proves, augmenten la confiança de l'usuari, disminueixen les reconsultes innecessàries, redueixen les derivacions a especialistes i a urgències hospitalàries, redueixen la petició d'exàmens complementaris externs –de manera que millora la comoditat del pacient en els processos assistencials més freqüents–, i racionalitzen l'ús de terapèutiques, molt especialment d'antibiòtics⁸⁻⁹. En resum, augmenten l'eficiència de la pràctica pediàtrica d'atenció primària. I finalment, però no de menys importància, augmenten de manera extraordinària la satisfacció del professional sanitari.

Fonaments teòrics per a l'ús d'un test de diagnòstic ràpid en la consulta pediàtrica d'atenció primària

Els TDR es defineixen com a proves diagnòstiques dissenyades per ser dutes a terme en la consulta, en l'acte mèdic mateix, pel facultatiu o per personal d'infermeria, i sense l'ajuda del laboratori. Les tècniques de recollida i processament de les mostres han de ser senzilles, poc invasives i el menys molestes possible per al pacient. Permeten obtenir el resultat en l'acte assistencial mateix, en general al cap de pocs minuts, habitualment menys de 15. Generalment el resultat està disponible abans que el pacient surti de la consulta (test d'estreptococ, proteïna C reactiva...), o després d'un breu període a la sala d'espera (grip, antígens en femta, procalcitonina...), sense que el pacient hagi d'anar a casa i tornar a buscar el resultat. Per implementar-los a les consultes d'AP han de tenir una sensibilitat i una especificitat adequades i un cost raonable.

El funcionament dels TDR microbiològics és molt senzill¹⁰⁻¹²: s'obté una mostra biològica, que pot ser secreció respiratòria obtinguda per frotis faringi, frotis nasal (exclusivament en les tècniques de diagnòstic molecular, o quan en immunocromatografia o immunofluorescència no sigui possible el frotis nasofaringi), frotis nasofaringi o rentat-aspirat nasofaringi; sang obtinguda per punció capilar, o una mostra d'orina o femta. Si en la mostra hi ha l'antigen (Ag) del microorganisme que volem detectar amb el TDR, quan s'enfronti la mostra amb anticossos marcats (Ac*) específics per a un antigen concret, es produirà una reacció de fixació Ag-Ac* i apareixerà un efecte o senyal detectable en el dispositiu del test, que variarà segons el tipus de prova.



Fig. 1. Test d'immunocromatografia en tires reactives (virus influença A+B).



Fig. 2. Test d'immunocromatografia en xassís (estreptococ).

En l'actualitat hi ha disponibles diferents mètodes de TDR; a continuació es descriuen els més utilitzats en la consulta d'AP.

Immunocromatografia (immunoassaig òptic, immunoflux lateral)

Són les proves més utilitzades en l'actualitat, per la comoditat i la senzillesa que presenten. Es fan en una petita tira de nitrocel·lulosa estratificada (Fig. 1) o en una placa horitzontal d'immunodifusió òptica o xassís

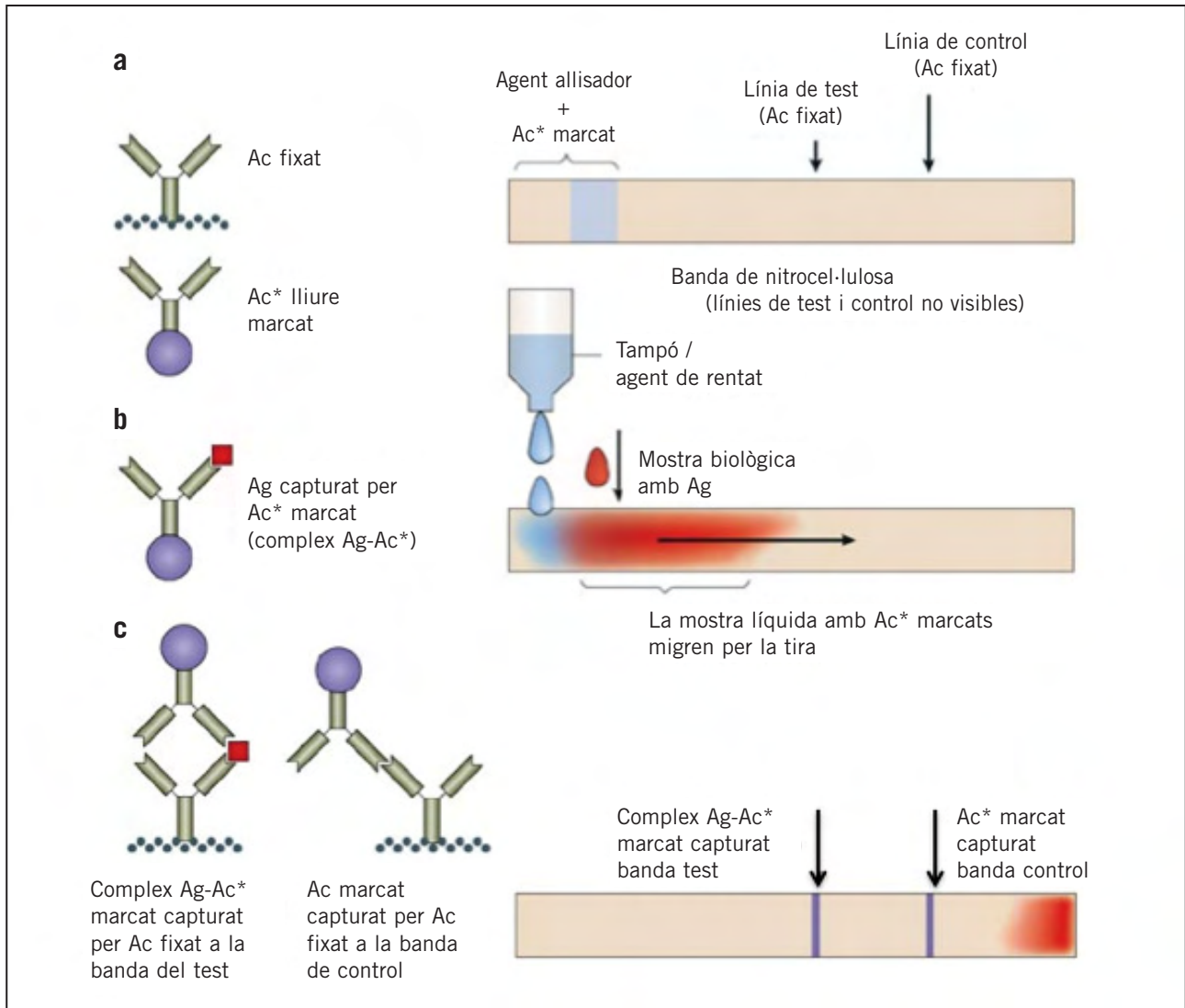


Fig. 3. Procediment dels tests immunocromatogràfics microbiològics.

(Fig. 2). A la figura 3 s'esquematzitza el fonament de les proves immunocromatogràfiques:

- A la part inferior de la tira o a la base de la placa hi ha anticossos marcats amb or col·loidal (Ac*) específics davant l'Ag problema.
- A la part mitjana de la tira o placa hi ha fixats altres Ac no marcats, dirigits exclusivament al complex Ag-Ac*.
- A la part superior de la tira o extrem de la placa hi ha Ac fixats dirigits davant l'anticòs marcat (Ac*), unit o no a l'Ag.

Després de barrejar la mostra que es vol analitzar amb una solució amortidora o agent de rentat (*buffer*), s'afegeix la solució resultant a la part inferior de la tira o a la finestra específica, en el cas de les plaques. Per capil·laritat, el líquid migra gairebé immediatament cap a dalt de la tira o es difon en la placa (Fig. 3). Si la mostra conté l'Ag per al qual va dirigit el TDR, els complexos Ag-Ac* són captats per la zona mitjana que

conté els Ac específics exclusivament per al complex Ag-Ac*, i s'observa una banda de color provocada pels Ac* marcats un cop són fixats. Els Ac* marcats sobrants (sols o en complex Ag-Ac*) segueixen migrant cap a dalt de la tira o a l'extrem de la placa, i positiuen una segona línia de color en ser fixats de nou els Ac* marcats, però en aquest cas independentment que estiguin o no units a l'Ag. Aquesta segona línia (línia de control) sempre ha de ser visible al final de la prova i serà un control que el test s'ha fet amb la tècnica correcta, quant al processament de la mostra, i que aquesta ha difós adequadament (Fig. 4). La primera línia correspon al test: indica que el resultat és positiu (línia visible) o negatiu (línia no visible), segons si l'Ag és present o no a la mostra amb la formació del complex Ag-Ac*. La presència de la línia de control al final de la prova no pressuposa que la mostra biològica hagi estat recollida del pacient de la manera adequada, i només valida la tècnica del processament del test. Si no s'obté la línia de control en un TDR, queda invalidat,

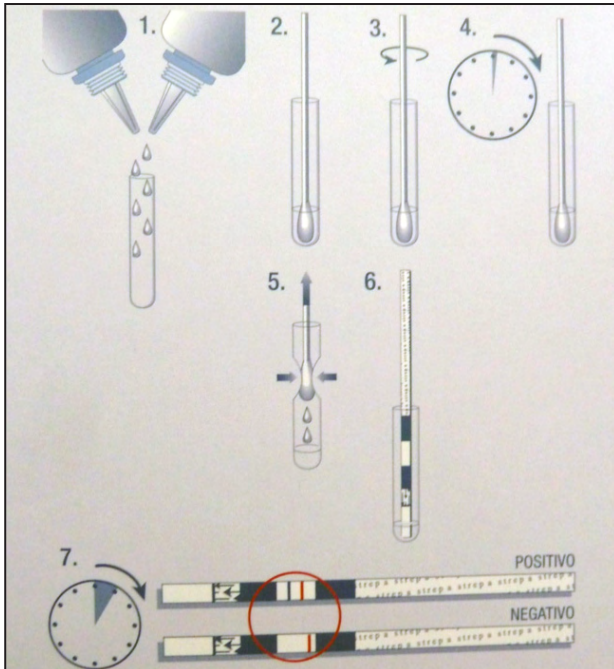


Fig. 4. Test immunocromatogràfic positiu (estreptococ).

i obliga a processar una nova mostra, encara que s'hagi obtingut un resultat positiu amb la identificació de la primera línia.

En resum, tots els tests microbiològics immunocromatogràfics que es descriuran en aquesta secció poden presentar els resultats següents:

- Presència només de la línia de control: indica resultat negatiu.
- Presència de dues línies, la línia de test positiva, i la línia de control: indica resultat positiu.
- Presència només de la línia de test positiva sense línia de control: test no vàlid.
- Absència de línies, sense línia visible en zona de test ni en zona de control: test no vàlid.

Inmunofluorescència

Les primeres proves dissenyades amb aquesta tècnica permetien constatar l'existència, mitjançant microscopi de fluorescència, d'Ag de microorganismes als quals s'havien fixat anticossos específics marcats amb fluoresceïna, amb un procediment semblant al descrit amb la immunocromatografia. Era una tècnica que necessitava instrumental de laboratori, de manera que s'escapava dels objectius i les possibilitats de l'AP, tot i que a efectes acadèmics calia considerar-la un TDR. En l'actualitat, però, hi ha noves tècniques d'inmunofluorescència, d'alta sensibilitat i especificitat, dissenyades per ser valorades mitjançant un lector automàtic, sense haver de fer servir microscopi, i en conseqüència accessibles per a les anàlisis prop del pacient en atenció primària. L'aportació principal és

que milloren la sensibilitat de la prova gràcies a la valoració objectiva del resultat, sense dependre de la visualització òptica per l'explorador dels «positius dèbils» sovint obtinguts per immunocromatografia i que es poden interpretar erròniament com a negatius.

Diagnòstic ràpid molecular

Les tècniques de diagnòstic molecular permeten detectar material genètic (ADN o ARN) del microorganisme estudiat. Els assajos moleculars de diagnòstic ràpid, a diferència de la reacció en cadena de la polimerasa (PCR), utilitzen l'amplificació isotèrmica de l'àcid nucleic per identificar el material genètic del microorganisme, i ja estan disponibles per detectar l'estreptococ del grup A, el virus de la grip, el VRS i el *Bordetella pertussis*. Per fer la prova cal disposar d'un autoanaltzador específic de mida petita. El gran benefici d'aquestes noves tècniques moleculars és la simplicitat per ser dutes a terme en AP, la disponibilitat dels resultats en minuts (generalment 15 i els més recents 5) i una sensibilitat i especificitat similar a la PCR.

Recentment s'han incorporat panells de diagnòstic molecular bacterià. No obstant això, la identificació de patògens bacterians que són part normal de la flora respiratòria ha de ser interpretada amb precaució a l'hora d'establir-ne la causalitat en un quadre clínic. Els TDR moleculars tenen un perfil de sensibilitat i especificitat molt superior a altres tècniques de diagnòstic ràpid (immunocromatografia, immunofluorescència...), però el seu alt cost dificulta, ara per ara, incorporar-los de manera extensa a les consultes pediàtriques d'AP.

Interpretació dels TDR

En general, els TDR microbiològics són proves qualitatives, que donen un resultat positiu o negatiu, però que no permeten quantificar la intensitat de l'inòcul bacterià o de la càrrega viral ni, en alguns casos, diferenciar un estat de portador o d'una infecció activa (estreptococ, pneumococ). L'obtenció de bandes de positivitat amb intensitat colorimètrica dèbil pot estar relacionada amb una menor càrrega antigènica, però aquest fet no permet extreure conclusions clíniques ni diferenciar entre estat de portador o infecció activa. Només en alguns casos, com en la detecció d'antígens virals en femta, les proves poden ser catalogades com a semi-quantitatives, atès que la intensitat de la banda de color té relació amb la càrrega viral de la mostra, si bé aquest fet no sol tenir gaire rellevància clínica. També hi ha proves semiquantitatives en tests no microbiològics: tècniques semiquantitatives de detecció de proteïna C reactiva en sang capil·lar (valoració per rangs) i en el diagnòstic ràpid de patologia al·lèrgica (Immucap rapid®), en què hi ha una relació directa entre la intensitat del color i l'especificitat de la prova. També es disposa de tècniques absolutament quantitatives i ràpides per determinar la proteïna C reactiva, però no

es basen en immunocromatografia i necessiten un dispositiu autoanalitzador.

Els TDR són proves complementàries per ajudar el professional a fer un diagnòstic clínic més específic, subsidiàries al judici clínic i interpretables únicament en aquest context. Per si soles no estableixen un diagnòstic i en cap cas han de substituir el criteri del professional. És fonamental que el professional que s'inicia en l'ús dels TDR tingui clar que el resultat ens informa, en TDR microbiològics, de la presència o l'absència d'un determinat antigen d'un microorganisme concret en una mostra biològica (o anticossos, en el cas del test per mononucleosi infecciosa), i que aquest resultat ha de ser interpretat pel professional en el context clínic concret. En alguns casos pot ser diagnòstic de l'existència d'una infecció (grip, VRS, *Campylobacter*...), però en altres no diferencia si la seva presència és deguda a malaltia aguda o a estat de portador asimptomàtic (estreptococ, pneumococ, *Salmonella*...). En aquests casos correspon al professional interpretar l'etiologia segons el seu judici clínic. Un exemple clàssic és una faringitis vírica o una mononucleosi infecciosa, amb test per a estreptococ del grup A positiu a causa d'un estat de portador concomitant, diagnosticades i tractades erròniament com a faringitis estreptocòccica.

La disponibilitat dels TDR en la consulta obliga a racionalitzar-ne l'ús, que cal limitar a les situacions en què del resultat del test se'n derivi un possible canvi en la conducta que s'adoptarà amb el pacient. Aquest canvi pot ser en el maneig epidemiològic o conducta d'aïllament, en la necessitat de més proves diagnòstiques o en la decisió terapèutica. Si la conducta pretest i posttest no serà modificada, sigui quin sigui el resultat obtingut, no té cap sentit la pràctica d'un TDR. Per tant, abans de fer un TDR, el professional s'ha de respondre la pregunta següent: «Segons el resultat obtingut, canviaré el maneig, el diagnòstic, el tractament o el seguiment en relació amb la conducta que adoptaria sense practicar el test?»

Limitacions dels TDR

Els TDR són un magnífic instrument complementari en la consulta pediàtrica d'AP, però tenen limitacions que cal conèixer:

Falsos positius i falsos negatius

La sensibilitat i l'especificitat dels TDR són un punt crucial en la valoració de la seva fiabilitat i consistència. Es publiquen resultats molt dispars en aquests paràmetres, que depenen del tipus de test (immunocromatografia, immunofluorescència o molecular), de la marca comercial i, sobretot, del procediment utilitzat en la recollida de la mostra i del processament d'aquesta en l'execució del test. En aquesta secció es donaran,

en els números següents, força dades que permetran un coneixement adequat sobre les tècniques de recollida i processament de les mostres, i sobre la sensibilitat i l'especificitat dels diferents tests. És molt important que el professional conegui bé el producte, es familiaritzi amb el seu ús i sigui molt rigorós en la metodologia de recollida i processament. En general, els actuals tests immunocromatogràfics presenten uns perfils de sensibilitat i especificitat (S/E) molt elevats, que els converteixen en molt fiables en la pràctica habitual. En la major part de TDR els valors són superiors al 90% de S/E en relació amb l'estàndard d'or, que en els tests microbiològics sol ser el cultiu o la reacció en cadena de la polimerasa. Generalment, l'especificitat dels TDR és excel·lent, tot i que en alguns casos, com passa en els immunocromatogràfics per grip, la sensibilitat és inferior a la desitjable. Les noves tècniques comercialitzades, especialment les d'immunofluorescència i moleculars, mostren valors de sensibilitat que van incrementant progressivament¹³⁻¹⁴.

La interpretació del resultat en el context clínic

Per algunes infeccions, la fiabilitat del TDR depèn, entre altres factors, de la prevalença de la malaltia que es pretén diagnosticar. L'exemple clàssic s'observa amb els tests immunocromatogràfics per grip, que tot i ser molt específics, tenen una sensibilitat relativament baixa (≈70%):

- Durant la temporada epidèmica de grip, un resultat positiu té un alt valor predictiu positiu (gairebé no hi ha falsos positius), però un resultat negatiu té menys valor predictiu negatiu (per l'existència de falsos negatius).
- Quan el virus de la grip circula escassament (per exemple, a l'estiu), un TDR positiu té un valor predictiu positiu molt baix (sol ser un fals positiu amb gran probabilitat) i, en canvi, un resultat negatiu té un valor predictiu negatiu molt alt (menor taxa de falsos negatius).

L'ús dels TDR no s'ha de plantejar com un mètode de cribatge sistemàtic per a la presa de decisions de derivació a un nivell sanitari especialitzat, sinó com un instrument dirigit pel professional com a complement de la sospita clínic per optimitzar un diagnòstic i prendre decisions terapèutiques, de maneig, de derivació o d'ampliació d'estudi.

En aquesta secció, en els propers números, els autors proposarem als professionals que s'inicien en el maneig dels TDR algoritmes d'actuació per facilitar-ne l'ús adequat. En una revisió recent¹⁵, el lector interessat pot aprofundir en les perspectives de futur immediat en el desenvolupament de nous TDR en pediatria.

Bibliografia

- de la Flor, J. El pediatra extrahospitalario bien equipado. *Pediatr Integral*. 2010;XIV(4):323-45.
- Dekker JP. Infectious disease testing at the point-of-care. *Point of care*. 2012;11(2):85-9.
- Guvala V, Harris LF, Ricco AJ, Tan Mx, Williams DE. Point of care diagnostics: status and future. *Anal Chem*. 2011;84(2):487-515.
- Crocker B, Lewandrowski EL, Lewandrowski N, Gregory K, Lewandrowski K. Patient satisfaction with point-of-care laboratory testing: report of a quality improvement program in an ambulatory practice of an academic medical center. *Clin Chim Acta*. 2013;424:8-11.
- Barefanger J, Drake C, Leon N, Mueller T, Trout T. Clinical and financial benefits of rapid detection of respiratory viruses: an outcomes study. *J Clin Microbiol*. 2000;38(8):2824-8.
- Hortin GL. Does point-of-care testing save money or cost more?. *Lab Medicine*. 2005;36:465-7.
- St John A, Price CP. Economic evidence and point-of-care testing. *Clin Biochem Rev*. 2013;34(2):61-74.
- de la Flor J, Parellada N. Utilització sistemàtica de tests de diagnòstic ràpid en una consulta de pediatria d'atenció primària. *Pediatr Catalana*. 2009;69(2):75-84.
- Keitel K, Lacroix L, Gervais A. Point-of-care testing in Pediatric Infectious diseases. *Pediatr Infect Dis J*. 2018;37(1):108-10.
- Prats G. Pruebas inmunológicas. A: *Microbiología Clínica*. Madrid: Panamericana; 2006. p. 157-85.
- Revell PA, Chandramohan L. Bacterial Laboratory diagnosis. A: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ, ed. *Feigin and Cherry's textbook of pediatric infectious diseases*. Filadèlfia: Elsevier; 2019. p. 2666-70.
- Humphries RM, Miller MJ. Viral Laboratory diagnosis. A: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ, ed. *Feigin and Cherry's textbook of pediatric infectious diseases*. Filadèlfia: Elsevier; 2019. p. 2674-89.
- St John A, Price CP. Existing and emerging technologies for point-of-care testing. *Clin Biochem Rev*. 2014;35(3):155-67.
- Luppa PB, Müller C, Schlichtiger A, Schlebusch H. Point-of-care testing (POCT): current techniques and future perspectives. *TrAC Trends Anal Chem*. 2011;30(6):887-98.
- González MD, McElvania E. New developments in rapid diagnostic testing in children. *Infect Dis Clin North Am*. 2018;32(1):19-34.