

Identificación y Estudio de Susceptibilidad Antimicrobiana en Cepas de *Mycobacterium spp.* Aisladas en un Hospital de Alta Complejidad

Identification and Study of Antimicrobial Susceptibility of Isolated *Mycobacterium spp.* Strains in a Hospital of High Complexity

Angelo Baeza¹ & Cristian Sandoval^{2,3}

BAEZA, A. & SANDOVAL, C. Identificación y estudio de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Mycobacterium spp.* aisladas en un hospital de alta complejidad. *J. health med. sci.*, 5(1):29-33, 2019.

RESUMEN: El género *Mycobacterium* se encuentra asociado a una cantidad importante de patologías, donde la tuberculosis destaca dentro de los principales problemas de salud pública a nivel mundial y nacional. Esta se agudiza con el incremento en la resistencia antimicrobiana y, por ello, la pesquisa de micobacterias contempla un pilar fundamental en el diagnóstico de patologías infecciosas de importancia clínica. Por lo tanto, el objetivo fue describir las principales especies de micobacterias aisladas y su patrón de susceptibilidad a partir de muestras clínicas procesadas en el Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena durante el año 2012. Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo, en donde se utilizaron los resultados de 7023 baciloscopías procesadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco el año 2012. Todas las baciloscopías fueron analizadas y solicitadas según criterios establecidos por el Instituto de Salud Pública de Chile, comprendiendo muestras de expectoración y no expectoración. De las 7023 baciloscopías realizadas, 100 resultaron ser positivas para *Mycobacterium*. De 21 cepas enviadas al Instituto de Salud Pública de Chile para identificación, 19 cepas corresponden al complejo *Mycobacterium tuberculosis* y dos a *Mycobacterium avium* intracelular. En el estudio de sensibilidad, se encontró resistencia a estreptomina e isoniazida en 13,3 % de las expectoraciones. De acuerdo a lo establecido por la literatura, más del 90 % pertenecen a *Mycobacterium tuberculosis*, mientras que, de las micobacterias no tuberculosas sólo se aislaron *Mycobacterium avium* intracelular. Los antimicrobianos con mayores niveles de resistencia son estreptomina e isoniazida.

PALABRAS CLAVE: tuberculosis, micobacterias, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, antibióticos.

INTRODUCCIÓN

Desde que Koch en el año 1882 descubrió al agente productor de la tuberculosis (TBC), se desató un interés constante por identificar y caracterizar a esta y otras micobacterias, traducándose hoy en día en la individualización de las especies (Parte, 2014). El género *Mycobacterium* se encuentra asociado a una cantidad importante de patologías de frecuencia variable en la población. Utilizando el criterio epidemiológico y su relación con la tuberculosis, las especies de *Mycobacterium* son divididas en aquellas que pertenecen o no al complejo TBC (Forbes *et al.*, 2009).

La TBC está dentro de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, ya que a pesar de los esfuerzos económicos y sanitarios destinados a reducir el número de individuos afectados con esta patología, las cifras siguen siendo muy elevadas, pues durante el 2016 se presentaron 10,4 millones de casos nuevos (OMS, 2018). En Chile, aunque la incidencia corresponde a una de las más bajas de Sudamérica con 13 casos por 100.000 habitantes, aún existen zonas del país más afectadas con 20-38 casos por 100.000 habitantes (ISPCh, 2012), donde el problema se agudiza producto del incremento en la

¹ Carrera de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

² Departamento de Cirugía y Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Universidad de La Frontera, Chile.

³ Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

resistencia antimicrobiana, siendo necesario que la OMS incorpore los conceptos de cepas multidrogo-resistentes (MDR) y resistencia extendida.

Según lo estipulado por el informe del 2012 realizado por la OMS, el año 2011 se habían presentado unos 60.000 casos de MDR (OMS). Al año siguiente, el Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades, publicó una alerta de doce casos identificados como totalmente resistentes a los fármacos de uso común. En Chile, la resistencia a drogas antituberculosas equivale a un 23 % y la multidrogo-resistencia alcanzó entre los años 2007 y 2008 un 4,3 a 5,7 %, según registros del Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCh, 2012).

Por otro lado, no sólo las especies asociadas a TBC han tenido su auge en los últimos años, sino también, las denominadas mycobacterias atípicas o no tuberculosas. Las especies pertenecientes a este grupo, se encuentran ampliamente distribuidas en el ambiente, agua, suelos y animales (Valdés & Cid, 2004). El incremento epidemiológico se debe al aumento de los pacientes inmunodeprimidos, quienes son los principales afectados. Un estudio realizado el 2008 en Chile, demostró que las principales especies aisladas de muestras clínicas corresponden a *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium avium-intracellulare* (Scappaticcio *et al.*, 2011).

La pesquisa de micobacterias contempla un pilar fundamental en el diagnóstico de patologías infecciosas de gran importancia clínica. Si bien, la baciloscopía y el cultivo de Koch dan un gran paso en la pesquisa, sobretudo de *Mycobacterium tuberculosis*, es necesario recurrir a técnicas más avanzadas para identificar correctamente la especie implicada y/o estudiar la susceptibilidad antimicrobiana cuando exista riesgo de resistencia. Por lo tanto, el objetivo es describir las principales especies de micobacterias aisladas y su patrón de susceptibilidad a partir de muestras clínicas procesadas en el Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco, Chile.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo, en donde se utilizaron los resultados de 7023 baciloscopías procesadas en el Laboratorio Clínico

del Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco, Chile, durante el año 2012. Se analizaron todas las baciloscopías, comprendiendo muestras de expectoración y no expectoración, procedentes de diversos centros asistenciales de la Región de La Araucanía durante el período señalado.

Las baciloscopías de expectoración fueron solicitadas a pacientes sintomáticos respiratorios virgen al tratamiento (V.T.) o antes tratado (A.T.), pacientes con imágenes pulmonares patológicas, contactos sintomáticos, investigación de TBC en personas VIH (+) o con SIDA y, pacientes A.T. con recaídas o abandonos. Las baciloscopías de no expectoración fueron solicitadas a pacientes con imágenes pulmonares patológicas y sin expectoración espontánea, sospecha de TBC extrapulmonar o en pacientes A.T. con recaídas o abandonos (ISPCh, 2013a).

Para el procesamiento, lectura e interpretación de las muestras de expectoración, se utilizó el artículo "Diagnóstico de Tuberculosis" proporcionado por el ISPCh (ISPCh, 2013b). Para la tinción de las baciloscopías se utilizó la técnica de Ziehl – Nielsen. La observación microscópica se realizó con lente de inmersión a 100 X. Para una correcta interpretación y evaluación, se observó un mínimo de cinco zonas del extendido y al menos 100 campos útiles.

Los resultados de las baciloscopías se informaron de la siguiente manera:

Ausencia de BAAR: No se observan BAAR en 100 campos microscópicos.

BAAR (+): Menos de 1 BAAR promedio por campo en 100 campos observados. Si el total de bacilos observados es menos de diez, dejar registro interno del número encontrado.

BAAR (++) : Uno a diez BAAR promedio por campo en 50 campos observados.

BAAR (+++) : Más de diez BAAR promedio por campo en 20 campos observados.

Cuando sólo se encuentra de 1 a 3 BAAR en el total de campos observados, es necesario extender la lectura a un mayor número de campos hasta agotar las posibilidades de encontrar el cuarto bacilo. Si no es posible confirmar la positividad, se debe: hacer otro extendido de la misma muestra y observar acuciosamente. Si no se encuentran más bacilos, se informa negativa y si es posible se hace cultivo.

El cultivo se realizó fundamentalmente a aquellas muestras en las que se sospechó de una escasa población bacilar, como aquellas que provienen de estudios de contactos, imágenes radiológicas patológicas pulmonares, pediátricas y en muestras de procedencia extrapulmonar. Para el procesamiento de los cultivos se utilizó la técnica de Petroff modificada. La observación de los cultivos se realizó entre las 48 – 72 horas, luego a los 30 y 60 días de incubación.

El estudio de tipificación de las micobacterias se realizó por hibridación reversa (HAIN) y se efectuó en las siguientes situaciones: cuando se sospecha de una micobacteria no tuberculosa en el cultivo por cromogenicidad, cultivo positivo de orina, cultivo positivo de ganglios o tejido óseo en menores de 15 años, tuberculosis asociada a VIH (+) o SIDA y, en casos de multiresistencia (MR) a las drogas antituberculosas.

El estudio de sensibilidad se hizo mediante sondas genéticas por medio de PCR-RFLP y se consumó en las siguientes circunstancias: casos con antecedentes de uno o más tratamientos por recaídas y/o abandonos recuperados, casos de tuberculosis asociada a VIH (+) o SIDA, contactos de pacientes con MR demostrada, enfermos procedentes de países con alta prevalencia de

TBC y personal de salud con TBC confirmada bacteriológicamente. Es importante destacar que el envío de las cepas para los estudios de sensibilidad debe hacerse en un tiempo no superior a los 15 días siguientes de su lectura en el laboratorio, esto debido a la pérdida de viabilidad de las cepas a medida que avanzan los días.

RESULTADOS

Baciloscopia

Los resultados de las baciloscopías, de expectoración y no expectoración, se muestran en la Tabla I, mientras que, la Tabla II muestra los resultados de las baciloscopías de no expectoración según el tipo de muestra utilizada.

Tipificación de Micobacterias

Los estudios de identificación de las micobacterias por hibridación reversa (HAIN) concluyeron que: de un total de 21 cepas enviadas a ISPCh, 19 resultaron ser del tipo *Mycobacterium tuberculosis* y sólo 2 del tipo *Mycobacterium avium* intracelular.

Tabla I. Resultados de las baciloscopías, de expectoración y no expectoración, realizadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco durante el año 2012.

Baciloscopías	Negativas	Positiva (+)	Positiva (++)	Positiva (+++)	Total Positivas
Expectoración	6513	34	25	25	84
No expectoración	510	6	5	5	16
Total	7023	40	30	30	100

Tabla II. Resultados de las baciloscopías de no expectoración, según tipo de muestra, realizadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco durante el año 2012.

Baciloscopías de no expectoración	Positiva (+)	Positiva (++)	Positiva (+++)	Total
Orina	4	4	1	9
Líquido Pleural	1	--	--	1
Líquido Broncoalveolar	1	--	--	1
Pus	--	1	--	1
Sangre	--	--	2	2
Otros	--	--	2	2
Total	6	5	5	16

Tabla III. Estudio de sensibilidad de micobacterias mediante sondas genéticas por medio de PCR-RFLP, realizadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco durante el año 2012.

Sensibilidad de micobacterias	SM	HIN	RMP	EMB
Expectoración	86,7%	86,7%	100%	100%
Orina	--	100%	100%	--
Sangre	--	100%	100%	--
Líquido pleural	--	--	100%	--

SM: estreptomycin, HIN: isoniazida, RMP: rifampicina, EMB: etambutol.

Sensibilidad de Micobacterias

Los estudios de sensibilidad de las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* se presentan en la Tabla III. Este estudio se realizó en el Instituto de Salud Pública de Chile mediante sondas genéticas por medio de PCR-RFLP. Se encontró resistencia a estreptomycin (SM) e isoniazida (HIN) en 13,3 % de las expectoraciones.

DISCUSIÓN

Si bien el diagnóstico microbiológico de la especie *Mycobacterium tuberculosis* es el pilar fundamental contra la lucha de la tuberculosis, la pesquisa de otros patógenos emergentes del género *Mycobacterium*, como las micobacterias ambientales, nos permite establecer la posible asociación existente entre ellas y los cuadros infecciosos que afectan mayoritariamente a pacientes inmunodeprimidos.

En los resultados obtenidos de nuestra investigación, podemos observar que la mayoría de las baciloscopías positivas corresponden a muestras de expectoración, tal como describe la literatura, concordando con la presentación más común de la tuberculosis.

De las cepas aisladas, más del 90 % pertenecen a la especie *Mycobacterium tuberculosis*. Del grupo de Micobacterias No Tuberculosas (MNT), sólo se aislaron *Mycobacterium avium intracelular* (MAI). Ambos antecedentes se relacionan con lo observado en otros estudios realizados en Chile, siendo estas dos especies de micobacterias las más aisladas a partir de muestras clínicas (Scappaticcio *et al.*).

Al analizar el perfil de susceptibilidad, se establece que los antimicrobianos para los cuales existen mayores niveles de resistencia, son SM

e HIN. Similares resultados se obtuvieron en un estudio ampliado realizado en nuestro país durante el año 2006 (Riquelme *et al.*, 2008).

Ante la problemática sanitaria que significa la tuberculosis en nuestro país y la exigencia de identificar otras especies del mismo género, se hace necesario que los centros hospitalarios cuenten con laboratorios de diagnóstico microbiológico capacitados para cumplir con dichas necesidades, abriendo paso a técnicas de biología molecular, que le permitan al clínico conocer la epidemiología y los niveles de resistencia de las cepas a las cuales se ven enfrentados los pacientes de la región, estableciendo así esquemas terapéuticos mejores y precisos.

BAEZA, A. & SANDOVAL, C. Identification and study of antimicrobial susceptibility of isolated *Mycobacterium* spp. strains in a hospital of high complexity. *J. health med. sci.*, 5(1):29-33, 2019.

SUMMARY: The genus *Mycobacterium* is associated with a significant number of pathologies, where tuberculosis stands out among the main public health problems worldwide and nationally. This is exacerbated by the increase in antimicrobial resistance and, therefore, the research of mycobacteria contemplates a fundamental pillar in the diagnosis of infectious pathologies of clinical importance. Therefore, the aim was to describe the main species of isolated mycobacteria and their susceptibility pattern from clinical samples processed at the Dr. Hernán Henríquez Aravena Hospital during 2012. A retrospective descriptive study was carried out, where the results of 7023 sputum microscopy processed in the Clinical Laboratory of the Dr. Hernán Henríquez Aravena Hospital in Temuco in 2012. All sputum microscopy was analyzed and requested according to criteria established by the Instituto de Salud Pública of Chile, including expectoration and non-sputum samples. Of the 7023-sputum microscopy performed, 100 were positive for *Mycobacterium*. Of 21 strains sent to the Instituto de Salud Pública of Chile for identification, 19 strains correspond to the *Mycobacterium tuberculosis* complex and two to intracellular *Mycobacterium avium*. In the sensitivity study, resistance to streptomycin and

isoniazid was found in 13.3 % of the expectorations. According to what is established by the literature, more than 90 % belong to *Mycobacterium tuberculosis*, while only intracellular *Mycobacterium avium* was isolated from non-tuberculous mycobacteria. Antimicrobials with higher levels of resistance are streptomycin and isoniazid.

KEY WORDS: tuberculosis, mycobacteria, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, antibiotics.

Dirección para correspondencia:
Cristian Sandoval
Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ)
Facultad de Medicina
Universidad de La Frontera
Temuco
CHILE

Tel: (56) (45) 2596549
Email: cristian.sandoval@ufrontera.cl

Recibido : 03-10-2018
Aceptado: 17-12-2018

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forbes, B.; Sahm, D. & Weissfeld, A. *Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana S. A.*, 2009.
- Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCh). Alerta por Tuberculosis "Totalmente Resistente" en India ¿TDR-TB?. Instituto de Salud Pública de Chile, 2012. Disponible en: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/BOLETIN%204.PDF>.
- Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCh). Normas de utilización de las técnicas bacteriológicas. Instituto de Salud Pública de Chile, 2013a. Disponible en: <http://www.ispch.cl/documento/13741/normas-de-utilizacion-de-las-tecnicas-bacteriologicas>
- Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCh). Normas de utilización de las técnicas bacteriológicas. Instituto de Salud Pública, 2013b. Disponible en: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2010/05/Manual%20bacteriolog%C3%ADa%20TBC.pdf>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Tuberculosis. Organización Mundial de la Salud, 2018. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
- Parte, A. C. LPSN—list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Res.*, 42:D613-16, 2014.
- Riquelme, M. C.; Velasco, M. & Rodríguez, L. Actualización de la resistencia a drogas antituberculosas en Chile, 2006. *Rev. Chil. Enf. Respir.*, 24:60-5, 2008.
- Scappaticcio, A.; Velasco, M.; Leiva, T. & Rodríguez, J. C. Frecuencia de micobacterias ambientales en Chile en el año 2008. *Rev. Chil. Enferm. Respir.*, 27:214-22, 2011.
- Valdés, F. & Cid, A. Micobacterias atípicas. *Actas Dermosifiliogr.*, 95(6):331-57, 2004.