



## Experiencia de un laboratorio de tercer nivel de atención en el diagnóstico de infecciones por micobacterias

### Palabras clave:

Tuberculosis, diagnóstico de laboratorio de micobacteriosis, hibridación ácidos nucleicos, síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

### Key words:

Tuberculosis, laboratory diagnosis of mycobacterial infections, nucleic acid hybridation, acquired immunodeficiency syndrome.

\* Laboratorio Clínico «Dr. Pablo Mendoza Hernández», Hospital de Infectología. Centro Médico Nacional «La Raza».

Correspondencia:  
Dr. Gustavo Barriga Angulo.  
Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional «La Raza».  
Laboratorio Clínico, Circuito Interior s/n y Seris. Colonia La Raza, 02990, Delegación Atzacapotalco, México, D.F. Teléfono: 5724 5900, ext. 23925  
E-mail: gustavo.barriga@imss.gob.mx.

Recibido:  
19/07/2014.  
Aceptado:  
28/07/2014.

Gustavo Barriga Angulo,\* Laura López Álvarez,\* Faustina Ramírez Cruz,\*  
María Elsa Monzalvo Hernández,\* José Alberto Villagrán Gama,\*  
Enrique Rodríguez Arreguín,\* Eva Aurora Hernández Sánchez\*

### RESUMEN

**Introducción:** La tuberculosis es la segunda causa de mortalidad mundial por agentes infecciosos; en 2011 se registraron en nuestro país 19,445 nuevos casos y una frecuencia de 17.8 por cien mil habitantes. En este trabajo se analizan la sensibilidad, especificidad, ventajas y desventajas de diversas técnicas de laboratorio para su diagnóstico y tratamiento en 6,470 muestras de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis. **Material y métodos:** Se analizaron los resultados obtenidos utilizando una técnica de tinción (Ziehl Neelsen), dos diferentes medios de cultivo (Caldo Base, Middlebrook modificado 7H9, BBL, MGIT y Lowenstein Jensen, bioMérieux), dos pruebas de tipificación (Accuprobe, Gen Probe y Genotype HAIN CM/N, MTBC, MTBRD plus, MTBRDs. Hain Life Science), y dos métodos de susceptibilidad antimicrobiana (MGIT system Becton Dickinson y Genotype HAIN, Hain Life Science GmbH) en 6,470 muestras tanto pulmonares como extrapulmonares del mismo número de pacientes provenientes de los cuatro hospitales del Centro Médico Nacional «La Raza» del Instituto Mexicano del Seguro Social, con sospecha clínica de tuberculosis. **Resultados:** 623 muestras fueron positivas a cultivo; el medio de cultivo líquido con monitoreo continuo fue el método más sensible (94.8%), obteniéndose resultados en una media de 12 días. La mayor parte de aislamientos correspondió al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (76.5%) y a *Mycobacterium avium* (17.1%). Cuatro cepas fueron resistentes simultáneamente a rifampicina e isoniazida y cinco a rifampicina. Se observó un predominio del sexo masculino (62.7%); el síndrome de inmunodeficiencia adquirida fue el factor predisponente de mayor frecuencia. **Conclusiones:** De acuerdo con los datos obtenidos en este estudio recomendamos el empleo simultáneo de medios de cultivo líquidos y sólidos. Los medios de cultivo líquidos con monitoreo continuo reducen hasta en 20 días el tiempo de aislamiento, cuando se comparan con el medio sólido. Aunque la sensibilidad y especificidad de las técnicas de tipificación y drogasensibilidad fueron similares, las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa y tipificación en tira ofrecen un menú más amplio de especies y número de antimicrobianos

### ABSTRACT

**Introduction:** Tuberculosis is the second ranked cause of global mortality for infectious agents. In 2011, throughout Mexico, there were 19,445 new incidents reported, with a frequency of 17.4 cases per 100,000 inhabitants. In this work, we analyzed the sensitivity, specificity, advantages, and disadvantages of diverse laboratory techniques in the diagnosis, of 6,470 samples from the same number of patients displaying the clinical symptoms of tuberculosis. **Material and methods:** We analyzed the results of one sputum smear microscopy technique (Ziehl Neelsen), two different culture media (Lowenstein Jensen bioMérieux and Middlebrook broth base 7H9 Becton Dickinson), two tipification test (Accuprobe, Gen Probe, Genotype HAIN CM/N, MTBc, MTBRD, MTBRs, Hain Life Science GmbH) and two antimicrobial sensitivity methods (MGIT System, Becton Dickinson, Genotype MTBDR, Hain Life Science, GmbH) in 6,470 pulmonary and extrapulmonary samples from the same number of patients. The specimens were collected at the four hospitals of «La Raza» Medical Center Mexican Institute of Social Security, with clinical characteristics of mycobacterial infection. **Results:** 623 samples were positive by culture. The liquid culture media with continuous monitoring was the most sensitive method (94.8%), with positive results in a media of 12 days. Most isolates correspond to a *Mycobacterium tuberculosis* complex (75.5%) and *Mycobacterium avium* (17.1%). Four strains were simultaneously resistant to rifampicin and isoniazid, and five only to rifampicin. Most of the positive patients were males (62.7%). AIDS was the most frequent predisponent factor. **Conclusions:** With the data obtained in this study, we recommend a simultaneous culture in solid and liquid media. The liquid media with continuous monitoring system reduces the time of isolation to 20 days, in comparison with the solid media. Despite that the typification and antibiotic susceptibility techniques have similar sensitivity, the polymerase reaction and typification strip techniques have a more wide menu of species and antibiotics, are easy to do, and do not require instrumentation. All patients with predisponent factors for tuberculosis must be monitored combined with preventive and surveillance measures.

para evaluar y son más fáciles de realizar e interpretar. En todos los pacientes con factores predisponentes al desarrollo de tuberculosis deberán establecerse medidas de vigilancia y prevención.

## INTRODUCCIÓN

A pesar de los continuos esfuerzos realizados en la vigilancia, prevención y tratamiento de la tuberculosis en todo el mundo, de acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud, ésta continúa representando la segunda causa de muerte por agentes infecciosos. En el año 2011, a nivel mundial 8.7 millones de personas enfermaron y 1.4 millones murieron por esta causa, la mayoría de ellas (95.0%) en países de ingresos bajos o medianos.<sup>1</sup>

Nuestro país en el año 2010, de acuerdo con datos del CENAPRECE,<sup>2</sup> ocupaba el quinto lugar en número de casos nuevos de tuberculosis en el Continente Americano, después de Argentina, Brasil, Perú y Haití. En el año 2011 se registraron en México 19,445 nuevos casos en todas sus formas clínicas, principalmente la pulmonar (81.5%), seguida de las formas ganglionar, miliar y meníngea, con una frecuencia de 17.8 por 100 mil habitantes, con predominio del sexo masculino, 9.3% de ellos en edades pediátricas, una mortalidad de 2.2% (2,414 defunciones) y con asociación a diabetes mellitus en 20.8%, a desnutrición en 12.5% y 7.8% al síndrome de inmunodeficiencia adquirida.<sup>2</sup>

En los países de América Latina es necesario definir las políticas que encaucen la adecuada aplicación de recursos en el diagnóstico por laboratorio de la tuberculosis y la necesidad de introducir innovaciones y disponer de las diferentes opciones de un gran número de pruebas que han demostrado ser precisas y útiles para acelerar su diagnóstico.<sup>3</sup>

El propósito de este trabajo es dar a conocer la experiencia obtenida en el análisis de 6,470 muestras clínicas provenientes del mismo número de pacientes atendidos en los cuatro hospitales del Centro Médico Nacional «La Raza» del Instituto Mexicano del Seguro Social, en quienes se sospechaba clínicamente la posibilidad de infección por micobacterias, los géneros, especies y sensibilidad antimicrobiana de los microorganismos aislados, la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas y los factores de riesgo asociados con este tipo de infecciones.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se hizo un análisis retrospectivo de los resultados obtenidos en 6,470 muestras clínicas enviadas para estudio

al Laboratorio Clínico del Hospital de Infectología en el lapso del 1 de septiembre de 2012 al 30 de junio del 2013, provenientes del mismo número de pacientes con diversos cuadros clínicos, de los cuatro hospitales del Centro Médico Nacional «La Raza» y en quienes se sospechaba la posibilidad de infección por micobacterias (*cuadro I*).

Para la obtención, envío y procesamiento de las muestras se utilizaron los criterios y medidas de seguridad recomendadas por la Organización Mundial de la Salud, la Organización Panamericana de la Salud, del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia de la Secretaría de Salud, el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México y del Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta, Georgia, Estados Unidos de Norteamérica.<sup>4-10</sup>

A todas las muestras se les realizaron: Tinción de Ziehl-Neelsen (a excepción de las de orina, sangre y médula ósea), cultivo en medio de Caldo Base Middlebrook Modificado 7H9 (BBL, MGIT, Becton Dickinson M.D. 21152, Benex L.T. Shannon. Irlanda), y cultivo en medio de Lowenstein Jensen (bioMérieux. Marcy l'Etoile 69280, Francia). Las muestras consideradas como potencialmente contaminadas fueron concentradas y descontaminadas previamente antes de inocularlas en los medios de cultivo utilizando el método de Petroff modificado.<sup>11</sup> Los tubos con medio líquido fueron incubados en equipo MGIT 960 diseñado para la detección rápida de micobacterias en muestras clínicas diferentes a sangre.

Las muestras de sangre y médula ósea (*cuadro I*) fueron inoculadas directa y simultáneamente (3-5 mililitros) previa asepsia del sitio de punción, en los medios de cultivo Bactec Myco/F lytic (Becton Dickinson Co, Sparks MD, USA) y BacT/Alert (Bio Mérieux Inc. Durham N.J. 27704USA9), incubadas y monitoreadas automáticamente en los instrumentos BD Bactec FX M.R y BacT/Alert 3D (Bio Mérieux M.R.) hasta obtener un resultado negativo (42 días) o positivo; en este último caso se tomaron 1-3 mililitros del frasco que se centrifugaron a 4,100 rpm durante 30 minutos y del sedimento obtenido se realizó tinción de Ziehl Neelsen, que en caso de ser positiva se sometió a un proceso de inactivación con hidróxido de sodio al 4% y se inoculó nuevamente en los medios de

Lowestein Jensen y Caldo Middlebrook 7H9. Después de la incubación y el desarrollo se procedió a su tipificación.

Las micobacterias aisladas en cultivo fueron caracterizadas a nivel de género y especie utilizando el método de hibridación Accuprobe (Gen Probe San Diego, Calif. USA) *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium intracellulare* y la prueba de reacción en cadena de la polimerasa, hibridación y genotipificación en tira: Genotype (HAIN), *Mycobacterium* CM/N, MTBC, MTBDR plus y MTBDRs.: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microtii*, *Mycobacterium bovis* ssp., *Mycobacterium bovis*, B.C.G. *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium caprae* y *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium interjectum*, *Mycobacterium malmoense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium xenopi*. (HAIN Life Science GmbH, Nehren Alemania.)

La sensibilidad antimicrobiana se determinó utilizando los sistemas MGIT. Primera línea estreptomycina, isoniazida, rifampicina, etambutol. Segunda línea pirazinamida (Becton Dickinson, Loveton Circle MD. USA) y Genotype MTBRD plus primera línea. Isoniazida y rifampicina y segunda línea fluoroquinolonas, aminoglicósidos, péptidos cíclicos y etambutol (Hain Life science GmbH Nehren Alemania) en 53 de las cepas aisladas.

Se tabularon los datos clínicos correspondientes a sexo, antecedentes epidemiológicos, diagnóstico clínico y factores asociados de los casos con aislamiento positivo; el análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo utilizando la técnica de t de Student.

## RESULTADOS

De los 6,470 pacientes estudiados 3,390 (52.3%) correspondieron al sexo masculino y 3,080 al femenino (47.7%).

La mayor parte de muestras estudiadas correspondió a las de origen respiratorio: 2,688 (41.6%), seguida de las de sangre-médula ósea y orina (cuadro I).

La tinción de Ziehl Neelsen fue positiva en 407 de las 3,615 muestras en las que se realizó; el 31.6% de los frotis positivos fueron clasificados como de una cruz y el 28.5% como de tres. La mayor parte de las muestras con frotis positivo correspondió a muestras de origen respiratorio, 327 (86.3%) (cuadros II y III y figura 1).

El cultivo en medio líquido fue el método más sensible en la detección de micobacterias (94.8%), comparado con el cultivo en el medio de Lowestein Jensen (84.7%) y con la tinción de Ziehl Neelsen (65.3%) (figura 1). El tiempo de incubación en días para obtener un resultado positivo por cultivo varió de 8 a 32 días (media 12) para el medio líquido a 22 a 62 días (media 32) para el de Lowestein Jensen; por lo tanto, tomó 20 días menos establecer el diagnóstico utilizando el sistema MGIT ( $p < 0.0005$ ). En el cuadro IV se muestran los porcentajes de aislamiento positivo por cultivo de acuerdo con el número de muestras estudiadas y de muestras con resultado positivo.

La mayor parte de las micobacterias aisladas en cultivo correspondió a *Mycobacterium tuberculosis* 476 (76.5%) y el resto 147 (23.5%) a otras especies principalmente *Mycobacterium avium*: 107 (17.1%) (cuadro V).

En 53 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en las que se realizó sensibilidad antimicrobiana se encontró un total de cinco con resistencia a rifampicina (9.4%), cuatro a isoniazida y rifampicina simultáneamente (6.5%); el origen de estas cepas fue respiratorio, a excepción de una que correspondió a una biopsia ganglionar.

**Cuadro I.** Muestras estudiadas.

| Muestras            | No.   | %    |
|---------------------|-------|------|
| Respiratorias       | 2,688 | 41.6 |
| Sangre-médula ósea  | 1,646 | 25.5 |
| Orina               | 1,209 | 18.6 |
| Líquidos corporales | 477   | 7.5  |
| Biopsia de tejido   | 393   | 6.0  |
| Diversas            | 57    | 0.8  |
| Totales             | 6,470 | 100  |

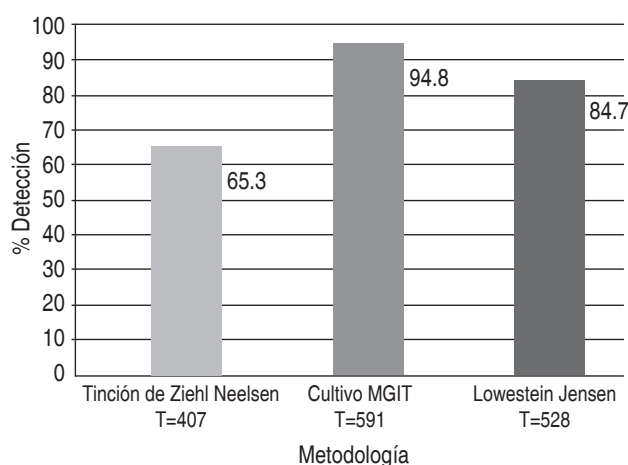
**Cuadro II.** Muestras con resultado positivo por tinción de Ziehl Neelsen.

| Muestras            | No.   | Muestras<br>Ziehl Neelsen<br>(+) | %<br>Ziehl Neelsen<br>(+) |
|---------------------|-------|----------------------------------|---------------------------|
| Respiratorias       | 2,688 | 327                              | 12.1                      |
| Biopsia de tejido   | 393   | 54                               | 13.7                      |
| Diversas            | 57    | 6                                | 10.5                      |
| Líquidos corporales | 477   | 20                               | 2.9                       |
| Totales             | 3,615 | 407                              | 11.2                      |

**Cuadro III.** Clasificación de resultados de tinción de Ziehl Neelsen.

| Clasificación               | No. | %    |
|-----------------------------|-----|------|
| De 1 a 9 BAAR en 100 campos | 88  | 21.6 |
| Positivo (+)                | 129 | 31.6 |
| Positivo (++)               | 74  | 18.3 |
| Positivo (+++)              | 116 | 28.5 |
| Total                       | 407 | 100  |

Positivo (+) 10-99 BAAR en 100 campos.  
 Positivo (++) 1-10 BAAR por campo en 50 campos.  
 Positivo (+++) > 10 BAAR por campo en 20 campos.

**Figura 1.** Resultados de detección de micobacterias de acuerdo con el método.

Desde el punto de vista clínico, la mayoría de pacientes con aislamiento positivo por cultivo fueron del sexo masculino: 397 (62.7%) y 232 (37.3%) del femenino. Se observó también un predominio de casos con afectación pulmonar y urinaria. En 432 casos se pudo constatar la presencia de diversos factores predisponentes para el desarrollo de infección tuberculosa, predominando el síndrome de inmunodeficiencia adquirida en 270 de los pacientes, seguido de la insuficiencia renal crónica en diálisis o trasplante (*cuadro VI*). Asimismo se observó una elevada frecuencia de formas miliare, ganglionares y meníngeas en ellos; las formas pulmonares mostraron una frecuencia similar independientemente de la presencia o no de factores predisponentes (*cuadro VII*). En el *cuadro VIII* se muestran los géneros y especies de micobacterias aisladas en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida; *Mycobacterium avium* ocupó el segundo lugar en frecuencia.

## COMENTARIOS

La detección y tratamiento oportuno de pacientes con tuberculosis son la clave en el control epidemiológico de la enfermedad; sin embargo, su diagnóstico etiológico por el laboratorio continúa representando un serio problema, debido a que los recursos necesarios para lograr este objetivo como son: personal con experiencia, equipo, instalaciones adecuadas y medidas de bioseguridad no siempre están disponibles; al igual que por las características particulares de crecimiento y desarrollo de los microorganismos causales, éstos requieren de días o semanas para su aislamiento y caracterización con las técnicas tradicionales de laboratorio.<sup>11</sup>

**Cuadro IV.** Porcentajes de aislamiento positivo por cultivo de acuerdo con el número de muestras estudiadas y de muestras con resultado positivo.

| Tipo de muestra     | NE    | C (+) | % CM (+) | % CT (+) |
|---------------------|-------|-------|----------|----------|
| Respiratorias       | 2,688 | 427   | 15.8     | 6.6      |
| Sangre-médula ósea  | 1,646 | 45    | 2.7      | 0.69     |
| Orina               | 1,209 | 59    | 2.7      | 0.91     |
| Líquidos corporales | 477   | 30    | 6.2      | 0.46     |
| Biopsia de tejido   | 393   | 56    | 14.2     | 0.87     |
| Diversas            | 57    | 6     | 10.5     | 0.09     |
| Totales             | 6,470 | 623   | 52.1     | 9.62     |

NE: Número de muestras estudiadas. C (+): Muestras con cultivos positivos. % CM (+): Porcentaje de cultivos positivos por tipo de muestra.  
 % CT (+): Porcentaje de cultivos positivos del total de muestras.



El método más utilizado a nivel mundial para el diagnóstico de tuberculosis son las tinciones, ya que no requieren de instalaciones especiales y sus resultados están disponibles en 24 horas; sin embargo, las diferentes técnicas disponibles no permiten distinguir entre las diferentes especies causales, y aunque su especificidad es elevada, su sensibilidad es baja, ya que se requieren de cinco a diez mil bacilos por mililitro de muestra para obtener un resultado positivo y en algunas muestras como las de orina no es posible realizarlas por la presencia de micobacterias saprófitas contaminantes.<sup>12</sup> En este estudio, la tinción de Ziehl Neelsen sólo fue positiva en el 65.3% de los casos confirmados por cultivo, y la mayor parte de sus resultados se clasificó como de una cruz (31.6%) (cuadros II y III y figura 1).

El cultivo continúa siendo el método más sensible para la detección de micobacterias en muestras clínicas; el aislamiento por cultivo proporciona el material para todas las pruebas subsecuentes incluyendo la identificación y la susceptibilidad antimicrobiana y es capaz de detectar cantidades tan ínfimas como 10 a 100 microorganismos por mililitro de muestra, sobrepasando la sensibilidad del frotis. De los medios de cultivo utilizados el más empleado a nivel mundial es el de Lowenstein Jensen, el cual tiene como ventajas apoyar el desarrollo de la mayoría de especies causales, contar con una vida media de varios meses, y una buena capacidad amortiguadora e inhibidora de la mayoría de contaminantes. Como desventajas puede mostrar variaciones de lote a lote, no inhibe a todos los contaminantes y es el que requiere de mayor tiempo para obtener un resultado positivo en comparación con otros, como los de tipo líquido en donde la recuperación de microorganismos es significativamente más rápida, aunado al empleo de sistemas automatizados de monitoreo continuo de desarrollo.<sup>13,14</sup> En este estu-

**Cuadro V.** Géneros y especies de micobacterias aislados en cultivo.

| Género y especie                    | No. | %    |
|-------------------------------------|-----|------|
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>   | 476 | 76.4 |
| <i>Mycobacterium avium</i>          | 107 | 17.1 |
| <i>Mycobacterium gordonae</i>       | 14  | 2.2  |
| <i>Mycobacterium bovis</i>          | 8   | 1.3  |
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> | 8   | 1.3  |
| <i>Mycobacterium kansasii</i>       | 7   | 1.2  |
| <i>Mycobacterium malmoense</i>      | 3   | 0.5  |
| Total                               | 623 | 100  |

**Cuadro VI.** Formas clínicas con aislamiento positivo por cultivo.

| Forma clínica | Sin asociación con VIH |      | Asociado con VIH |      | Totales |
|---------------|------------------------|------|------------------|------|---------|
|               | No.                    | %    | No.              | %    |         |
| Pulmonar      | 250                    | 70.9 | 182              | 67.5 | 432     |
| Urinaria      | 56                     | 15.9 | 3                | 1.1  | 59      |
| Miliar        | 0                      | 0    | 52               | 19.2 | 52      |
| Ganglionar    | 15                     | 4.2  | 21               | 7.8  | 36      |
| Meníngea      | 12                     | 3.4  | 11               | 4    | 23      |
| Cutánea       | 9                      | 2.5  | 0                | 0    | 9       |
| Peritoneal    | 6                      | 1.7  | 0                | 0    | 6       |
| Pericardiaca  | 2                      | 0.6  | 1                | 0.4  | 3       |
| Hepática      | 2                      | 0.6  | 0                | 0    | 2       |
| Genital       | 1                      | 0.2  | 0                | 0    | 1       |
| Totales       | 353                    | 100  | 270              | 100  | 623     |

**Cuadro VII.** Factores predisponentes en casos con aislamiento positivo a micobacterias.

| Factores predisponentes                        | Aislamientos (+) | %    |
|--|------------------|------|
| Síndrome de inmunodeficiencia adquirida        | 270              | 62.5 |
| Insuficiencia renal crónica y trasplante renal | 71               | 16.5 |
| Diabetes mellitus                              | 44               | 10.1 |
| Lupus eritematoso sistémico                    | 28               | 6.5  |
| Diversos                                       | 19               | 4.4  |
| Total  | 432              | 100  |

**Cuadro VIII.** Especies de micobacterias asociadas con el SIDA.

| Especies                            | No. | %    |
|-------------------------------------|-----|------|
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>   | 171 | 61.8 |
| <i>Mycobacterium avium</i>          | 84  | 30.3 |
| <i>Mycobacterium gordonae</i>       | 8   | 2.9  |
| <i>Mycobacterium kansasii</i>       | 7   | 2.5  |
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> | 7   | 2.5  |
| Total                               | 277 | 100  |

dio, la recuperación de microorganismos en el medio de Lowestein Jensen fue sensiblemente menor (84.7%) que la obtenida mediante un medio líquido con monitoreo continuo de desarrollo donde se obtuvo 94.8%. El tiempo requerido para obtener el desarrollo de microorganismos fue en promedio de 32 días para el de Lowestein Jensen y de 12 días para el medio líquido; sin embargo, algunas muestras fueron negativas en el medio líquido y positivas en el de Lowestein Jensen y viceversa. El Centro de Control de Enfermedades de Atlanta Georgia en Estados Unidos considera que el estándar de oro recomendado para la detección de tuberculosis es el cultivo simultáneo en medios líquidos y sólidos.<sup>15</sup>

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los resultados obtenidos con las dos técnicas utilizadas para diferenciar los géneros y especies de micobacterias aisladas en cultivo; sin embargo, la técnica Genotype Mtb C y S permitió la diferenciación de una mayor diversidad de especies que la de Accuprobe; su interpretación fue más sencilla y no requirió de instrumentación. *Mycobacterium tuberculosis* fue la especie más frecuentemente caracterizada: 476 (76.4%) de los aislamientos, seguida de *Mycobacterium avium* 107 (17.1%). Esta especie, hasta antes de la aparición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, se aislaba con muy baja frecuencia y hasta antes de 1981 se habían descrito tan sólo 78 casos a nivel mundial de infecciones diseminadas causadas por este microorganismo.<sup>16,17</sup> Otra especie de micobacteria de importancia epidemiológica en nuestro país, *Mycobacterium bovis*<sup>18,19</sup> fue aislada en ocho pacientes, cinco de los cuales correspondieron a infecciones del tracto gastrointestinal y tres a formas pulmonares (cuadro V).

En lo referente a las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana no se encontraron diferencias significativas en los resultados obtenidos con las dos técnicas utilizadas en 53 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en que se realizó, sin embargo, el sistema Bactec MGIT 960, que resultó más laborioso, requirió de mayor tiempo para su realización y obtención de resultados, del empleo de un equipo sofisticado y de un menú de antimicrobianos reducido, a diferencia de la técnica HAIN Lifescience que fue de más fácil realización, interpretación y permitió evaluar un mayor número de antimicrobianos, lo que ha sido ampliamente documentado en diversos estudios.<sup>20-22</sup> Se encontró un total de cuatro cepas resistentes a isoniazida y rifampicina simultáneamente y cinco exclusivamente resistentes a isoniazida; todas las cepas multirresistentes provenían de pacientes con tuberculosis pulmonar y síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

De los 432 pacientes en los que se pudieron determinar factores predisponentes para la infección por micobacterias, la mayor parte correspondió al síndrome de inmunodeficiencia adquirida: 270 (43.3%), predominando en ellos las formas miliar y ganglionar; otros factores predisponentes fueron la insuficiencia renal crónica con trasplante renal, la diabetes mellitus y otros (cuadros VI y VII). Las especies aisladas en los casos asociados al síndrome de inmunodeficiencia adquirida después de *Mycobacterium tuberculosis* fueron *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium gordonae* (cuadro VIII). Se ha documentado que los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida tienen 100 veces más probabilidad de desarrollar formas clínicas de tuberculosis,<sup>23</sup> y frecuentemente, a pesar de una infección activa, muestran resultados negativos en las tinciones; en Sudáfrica, en 825 pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida que iniciaban terapia antirretroviral y que tenían tuberculosis confirmada por cultivo el 20% de ellos tenía tinciones negativas.<sup>24</sup> Ha sido demostrado que los pacientes trasplantados renales y los sometidos a diálisis presentan alteraciones inmunes asociadas a la uremia, principalmente de la inmunidad celular con disminución de la respuesta proliferativa de los linfocitos con deficiencia de interleucina 2, déficit de linfocitos B y aumento de la apoptosis celular que los hace más susceptibles a la infección tuberculosa.<sup>25</sup>

## CONCLUSIONES

1. Ante la sospecha clínica de tuberculosis se recomienda el empleo simultáneo de cultivos en medios líquidos y sólidos.
2. El empleo de medios de cultivo líquido con monitoreo constante permite reducir el tiempo de reporte de aislamiento hasta en 20 días.
3. Tanto para la tipificación como para la determinación de sensibilidad antimicrobiana se recomienda el uso de técnicas de genotipificación en tira.
4. Se recomienda la vigilancia y profilaxis de tuberculosis en todos los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida, trasplantados renales, diabéticos, con lupus eritematoso sistémico y los sometidos a terapias inmunosupresoras.

## AGRADECIMIENTOS

Al Ingeniero Jesús Chamorro González, por su apoyo para la elaboración del manuscrito.

Al Sr. Ronald Lealos, por su apoyo para las traducciones al inglés.

## REFERENCIAS

- Organización Mundial de la Salud. La tuberculosis en datos y cifras. Nota descriptiva No. 107. World Health Organization. Media Centre. 2013; 1-5.
- Castellanos JM, García KMA. Situación actual de la tuberculosis en el mundo, México y Veracruz. Avances y Desafíos. CENAPRECE. 2012. Disponible en: <http://conave.gob.mx/tuberculosis>.
- Barrera L, Montaro E. Consideraciones sobre la implementación de nuevas herramientas diagnósticas en las redes de laboratorios de tuberculosis de Latinoamérica. Rev Cubana Med Trop. 2007; 59 (2): 82-89.
- Asamoah BA. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3a ed. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2005.
- Sequeira MD, Barron L, Balandrano S, Riquelme MC, Velazco M, Garzón TMC et al. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y Guía Técnica. (I-II) Organización Panamericana de la Salud; 2008.
- Balandrano CS, Anzaldo FG, Contreras RP, Rosete MCB, Gutiérrez CP, Corella GC. Manual de técnicas de laboratorio para el examen bacilosκόpio. Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia. Secretaría de Salud; 2003. ISBN 975-721-0834.
- Camacho CR, Espitia PC, Mancilla JR, Segura SE, Castellanos BC. Manual de procedimientos de bioseguridad. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México; 2012.
- Miller JM et al. Guidelines for safe work. Practices in human and animal medical diagnostic laboratories. Recommendations of CDC-convened Biosafety Blue Ribbon. Mortality and Morbidity Weekly Report. 2012; 61 (1): 1-101.
- National plan for reliable tuberculosis laboratory services using a systemic approach: recommendations from CDC and the Association of Public Health Laboratories Task Force and Laboratory Tuberculosis Services. 2005; 54 (RR-6): 1-12.
- Wilson DE, Chotewood LC. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories center for disease control and prevention. 2009, HHS. Publication CDC. 21-112.
- Parsons LM, Somuskovi A, Gutierrez C, Lee E, Paramisauan CN, Abimiki A et al. Laboratory diagnosis of tuberculosis in resource poor countries: challenges and opportunities. Clin Microb Rev 2011; 24 (2): 314-350.
- Flores AA, Llaca DJM, Ramos PEG. Evaluación de la sensibilidad y especificidad de dos métodos de baciloscopia. Rev Salud Pub y Nutr. 2001; 2 (2).
- Flores AA, Llaca DJM, Ramos PEG. La baciloscopia y el cultivo en el diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar. Rev Sal Pub y Nutr. 2003; 4 (3).
- García EG, Carrillo MMG, Pineda GR, González BCR. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* from respiratory samples with the liquid cultic system MB/BacT and verified by PCR. Revista de Investigación Clínica. 2006; 58 (6): 573-579.
- Centers for Disease Control and Prevention: Treatment of Tuberculosis. American Thoracic Society, CDC and Infectious Disease Society of America, MMWR, 2003; 52 (RR-11): 50-55.
- Góngora BRA, Castro SCJ, González MP, Guerrero FP, Rodríguez SR, Parra RN et al. Infección por *Mycobacterium avium* en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida en la Península de Yucatán. Rev Biomed. 1997; 8: 139-147.
- Cedillos R, González AA, Auvergie C. Coinfección TB/VIH: guía clínica. Versión actualizada. 2010; 1-151. Organización Panamericana de la Salud. Washington DCO.PS. 2010, NML, W.C. 503-505.
- Cicero R, Olivera H, Hernández JS, Ramírez CE, Escobar GS. Frequency of *Mycobacterium bovis* as an etiological agent in extrapulmonary tuberculosis in HIV positive and negative Mexican patients. European Journal Clin Micro-Infectol. 2009; 58 (5): 455-460.
- Pérez GI, Millan SF, Arriaga DL, Romero TC, Escobar ChM. Molecular epidemiology of cattle and human tuberculosis in Mexico. Sal Pub Mex. 2008; 50: 386-391.
- Hilleman D, Russek GS, Richter E. Evaluation of genotype MTBRD plus assay for rifampicin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. J Clin Microb. 2007; 45: 2635-2640.
- Hilleman D, Russek GS, Richter E. Feasibility of the genotype MTBRDs assay for fluoroquinolone, amikacin, capreomycin and etambutol resistance testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. J Clinical Microbiology. 2009; 47: 1767-1772.
- Hilleman D, Weizenegger M, Kuica T, Richter E, Niemann S. Use of the genotype MTBDR assay for rapid detection of rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. J Clin Microbiol. 2004; 3: 3699-3703.
- Getahun H et al. HIV infection associated tuberculosis; the epidemiology and response. Clinical Infectious Diseases. 2010; 52301-5207. doi: 10.1086/65,1492.
- Bassett IV, Wang TSX, Chatty S, Giddy J, Lasina E, Mazibuko M et al. Intensive tuberculosis screening for hiv infected patients starting antiretroviral therapy in durban, South Africa. Clinical Infectious Diseases. 2010; 51 (7): 823-829.
- Arias MA, Palomar R, Arias M. Avances en el diagnóstico de la infección tuberculosa latente en pacientes con tratamiento renal sustitutivo. Nefrología. 2011; 31 (2): 137-141.