

**"MYCOBACTERIAS ATIPICAS EN PACIENTES CON
DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR"**

**(Estudio Prospectivo de 50 Pacientes Adultos, de
Ambos Sexos, en el Sanatorio Antituberculoso San
Vicente; mayo - agosto de 1985)**

MARCO VINICIO LOPEZ MEDINA

CONTENIDO

1. INTRODUCCION
2. OBJETIVOS
3. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA
4. REVISION BIBLIOGRAFICA
5. MATERIAL Y METODOS
6. RESULTADOS
7. ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS
8. CONCLUSIONES
9. RECOMENDACIONES
10. RESUMEN
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
12. APENDICE

INTRODUCCION

La Tuberculosis es una enfermedad transmisible aguda o crónica causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que suele atacar los pulmones, pero puede afectar cualquier órgano o tejido de la economía (4-23).

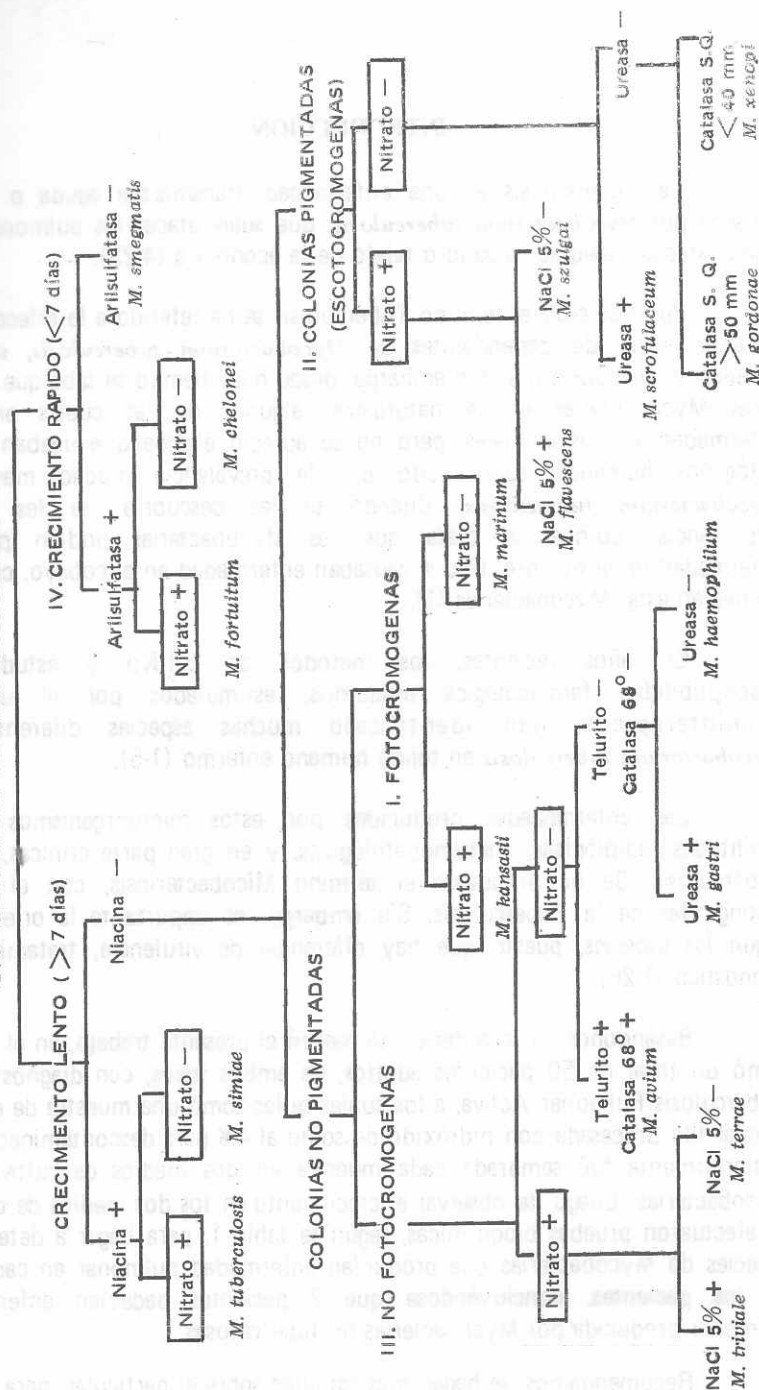
Por tradición el término Tuberculosis se ha referido a la infección y a la enfermedad de dependientes de *Mycobacterium tuberculosis*, variedad *hominis* y variedad *bovis*. Sin embargo, desde hace tiempo se sabe que existen otras Mycobacterias en la naturaleza, algunas de las cuales producen enfermedad en los animales, pero no se apreció el papel que jugaban como patógenos humanos, sobre todo por la prevalencia mucho mayor de *Mycobacterium tuberculosis*. Cuando se les descubría, se les restaba importancia, porque se creía que las Mycobacterias podían producir enfermedad en el hombre, solo si causaban enfermedad en el cobayo, cosa que no hacían estas Mycobacterias (1).

En años recientes, los métodos de cultivo y estudios de susceptibilidad farmacológica modernos, estimulados por el uso de quimioterápicos, han identificado muchas especies diferentes de *Mycobacterium tuberculosis* en tejido humano enfermo (1-5).

Las enfermedades producidas por estos microorganismos tienen similitudes radiológicas, anatomopatológicas, y en gran parte clínicas, con la Tuberculosis. Se ha propuesto el término Micobacteriosis, con el fin de distinguirlas de la Tuberculosis. Sin embargo, es importante la orientación según las especies, puesto que hay diferencia de virulencia, tratamiento y pronóstico (1-26).

Basándonos en lo anterior, se realizó el presente trabajo, en el cual se tomó un total de 50 pacientes adultos, de ambos sexos, con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa, a los cuales se les tomó una muestra de esputo, la cual fué procesada con hidróxido de sodio al 4% para descontaminación, y, posteriormente fué sembrada cada muestra en dos medios de cultivo para Mycobacterias. Luego de observar el crecimiento en los dos medios de cultivo, se efectuaron pruebas bioquímicas, según la tabla 1, para llegar a determinar especies de Mycobacterias que producían enfermedad pulmonar en cada uno de los pacientes, concluyéndose que 2 pacientes padecían enfermedad pulmonar producida por Mycobacterias no tuberculosas.

TABLA No. 1
"ESPECIFICACION DE MYCOBACTERIAS"



Tomado de: Boyd, R. et al. *Medical Microbiology*. 5th. ed. Boston, Little Brown, 1980. 753 p.

OBJETIVOS

1. Determinar Especies de Mycobacterias que producen enfermedad pulmonar en la presente muestra de pacientes, con Diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar.
2. Determinar porcentaje (%) de pacientes de la muestra estudiada, que tienen enfermedad pulmonar producida por Mycobacterias no tuberculosas ("atípicas").
3. Determinar la Edad y el Sexo, de los pacientes estudiados, que tienen enfermedad pulmonar por Mycobacterias no tuberculosas ("atípicas").

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

En el presente trabajo se determinó la Especie de *Mycobacteria* causante de enfermedad pulmonar, en cada uno de 50 pacientes adultos, de ambos sexos, con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa, hospitalizados en el Sanatorio Antituberculoso "San Vicente".

Las *Mycobacterias* comprenden un amplio grupo de bacilos acidófilos, alcoholófilos, aerobios microaerófilos, no esporulados, y no móviles, de tamaño $0.2-0.6 \times 1.0-10.0$ micras.

Algunas células pueden mostrar ramificación o crecimiento filamentosos, pero basta una ligera manipulación de los cultivos para que se fragmenten en elementos bacilares o cocoides.

Las *Mycobacterias* crecen con relativa lentitud; las cepas de crecimiento más rápido requieren sólo 2-3 días en medios simples, y casi todos los patógenos aparecen sólo después de 2-6 semanas o más, en medios complejos, incubados a temperaturas restringidas.

El Género incluye especies de potencial patógeno muy diverso, desde saprófitos francos, hasta parásitos obligados, junto con formas intermedias que son comúnmente saprófitas pero poseen patogenicidad potencial en la situación apropiada (oportunistas).

La infección humana producida por *Mycobacterias* es muy frecuente en todas las partes del mundo, habiendo cierta prevalencia por la infección producida por *Mycobacterium tuberculosis*.

Por tradición, el término Tuberculosis se ha referido a la infección y a la enfermedad producida por *Mycobacterium tuberculosis*, variedad *hominis* y *variedad bovis*. Sin embargo, desde hace tiempo se sabe que existen otras *Mycobacterias* en la naturaleza, algunas de las cuales producen enfermedad en los animales, pero no se apreció el papel que jugaban como patógenos humanos, sobre todo por la prevalencia mucho mayor de *Mycobacterium tuberculosis*. Cuando se les descubría, se les restaba importancia, porque se creía que, las *Mycobacterias* podían producir trastornos en el hombre, sólo si causaban enfermedad en el cobayo, cosa que no hacían estas *Mycobacterias*.

En años recientes, los métodos de cultivo y estudios de susceptibilidad farmacológica modernos, estimulados por el uso de quimioterápicos, han

identificado muchas especies diferentes de *Mycobacterium tuberculosis*, en tejidos humanos enfermos.

El término *Mycobacterias atípicas* es utilizado comúnmente para nombrar a éstas; aunque, ya que tienen características particulares de otras especies, en realidad no son atípicas, por lo que es preferible nombrarlas como *Mycobacterias no tuberculosas*.

En estudios realizados en otras latitudes, en donde la incidencia de Tuberculosis es baja, se han obtenido resultados que indican que, así como la incidencia de Tuberculosis disminuye, la frecuencia de infección por otras *Mycobacterias* aumenta, en particular por organismos del grupo *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*.

Por ejemplo, en los Estados Unidos de Norteamérica y en Europa, del 1 al 5 por ciento de los ingresos por Tuberculosis Pulmonar en los hospitales, dependen de infección por *Mycobacterias no tuberculosas*.

En algunas localidades, la frecuencia es muy elevada, hasta de 7 a 15 por ciento de los ingresos por Tuberculosis Pulmonar en los hospitales.

Las enfermedades producidas por estos microorganismos tienen similitud radiológica, anatomopatológica, y en gran parte clínica, con la Tuberculosis. Se ha propuesto el término Micobacteriosis, con el fin de distinguirlas de la Tuberculosis. Sin embargo, es importante la orientación según las especies, puesto que hay diferencia de virulencia, tratamiento y pronóstico.

Desde un punto de vista clínico, conviene agrupar estas infecciones según el órgano afectado.

La enfermedad pulmonar, sobre todo en varones blancos con bronquitis crónica y enfisema, es la manifestación clínica de Micobacteriosis más frecuente.

Se incluye al final del estudio el porcentaje (%) del total de pacientes estudiados, que padecen enfermedad pulmonar producida por *Mycobacterias no tuberculosas*; asimismo, el sexo y la edad de éstos, para hacer un análisis "casual" con lo revisado en la literatura.

REVISION BIBLIOGRAFICA

La Tuberculosis es una enfermedad transmisible aguda o crónica causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que suele atacar los pulmones, pero puede afectar cualquier órgano o tejido de la economía (4-23).

En países económicamente desarrollados, las mejores condiciones habitacionales, las mejores normas de vida, las medidas de Salud Pública y el tratamiento más eficaz han producido disminución notable de la frecuencia y el índice de mortalidad de esta enfermedad (1-23).

La morbilidad en Guatemala, en 1981, se pudo expresar de 0.5 a 1 por 1000 habitantes en la población en general; de 1.7 por 1000 consultantes en encuestas torácicas y de 77 por 1000 en sintomáticos respiratorios. Estas cifras se refieren a casos con baciloscopia positiva para el *Mycobacterium tuberculosis* (11).

La morbilidad por Tuberculosis Pulmonar en Guatemala, en 1981, correspondió en más del 50% de los casos, a la población comprendida entre los 20 y 39 años de edad, por lo que se considera que ésta es un padecimiento de personas en edad productiva siendo significativa sin embargo, la alta cifra de casos en personas de 40 a 59 años de edad, y en los mayores de 60 años de edad.

La mortalidad en Guatemala, en 1980, fué de 11 muertes por 100,000 habitantes (11).

Por tradición el término Tuberculosis se ha referido a la infección y a la enfermedad de dependientes de *Mycobacterium tuberculosis*, variedad *hominis* y variedad *bovis*. Sin embargo, desde hace tiempo se sabe que existen otras *Mycobacterias* en la naturaleza, algunas de las cuales producen enfermedad en los animales, pero no se apreció el papel que jugaban como patógenos humanos, sobre todo por la prevalencia mucho mayor de *Mycobacterium tuberculosis*. Cuando se les descubría, se les restaba importancia, porque se creía que las *Mycobacterias* podían producir trastornos en el hombre, sólo si causaban enfermedad en el cobayo, cosa que no hacían estas *Mycobacterias* (1).

En años recientes, los métodos de cultivo y estudios de susceptibilidad farmacológica modernos, estimulados por el uso de quimioterápicos, han identificado muchas especies diferentes de

Mycobacterium tuberculosis en tejido humano enfermo (1-5).

Gran parte de las investigaciones bacteriológicas más importantes sobre estas *Mycobacterias* "no tuberculosas", mal llamadas "atípicas" (21), se deben a Runyon, quien las clasificó en 4 grupos, en base a la existencia y tipos de producción de pigmento y velocidad de crecimiento.

Grupo de Runyon I: se caracteriza por la formación de colonias amarillas después de una breve exposición a la luz (fotocromógenas), el crecimiento es lento (más de 5-7 días), las colonias son rugosas o lisas, hay resistencia moderada a la isoniácida, la producción de catalasa es intensa, y no producen niacina.

Grupo de Runyon II: se caracteriza por producción de colonias de color amarillo anaranjado sin estimulación de la luz (escotocromógenas), el crecimiento es lento (más de 5-7 días), las colonias son lisas, son muy resistentes a la isoniácida, producen catalasa y no producen niacina.

Grupo de Runyon III: se caracteriza por colonias no pigmentadas (no fotocromógenas), el crecimiento es lento (más de 5-7 días), la exposición prolongada a la luz no intensifica el pigmento.

Grupo de Runyon IV: producen colonias en 7 días (crecimiento rápido), son catalasa-positivas y niacina-negativas, y muy resistentes a la isoniácida (1-3-5-16-21-29).

Las *Mycobacterias* corresponden a la 17a. parte, *Actinomicetos* y microorganismos afines; Orden I, *Actinomycetales*; Familia II, *Mycobacteriaceas*; Genero I, *Mycobacterium* de la división de 19 partes de las bacterias, publicada en la 8a. edición de Bergey's Manual of Determinate Bacteriology (3-5).

Las *Mycobacterias* comprenden un amplio grupo de bacilos acidófilos, alcoholófilos, aerobios microaerófilos no esporulados, y no móviles de tamaño 0.2-0.6 x 1.0-10.0 micras. Algunas células pueden mostrar ramificación o crecimiento filamentosos, pero basta una ligera manipulación de los cultivos para que se fragmenten en elementos bacilosos o cocoides (3-5-16-21).

El contenido de lípidos de las células es elevado, siendo sus componentes más característicos alfa OH, específico del género, ácidos grasos de cadenas ramificadas de 80 o más átomos de carbono (ácidos micólicos). Las *Mycobacterias* crecen con relativa lentitud; las cepas de crecimiento más rápido requieren sólo 2-3 días en medios simples y casi todas las patógenas

aparecen sólo después de 2-6 semanas o más en medios complejos incubados a temperaturas restringidas (3-5-16-19-20-21).

El género incluye especies de potencial patógenos muy diversas, desde saprófitas francos hasta parásitos obligados, junto con formas intermedias que son comúnmente saprófitas, pero de patogenicidad potencial en la situación apropiada (oportunistas) (19).

La infección humana producida por *Mycobacterias* no tuberculosas, es muy frecuente en todas partes del mundo. Muchos de estos microorganismos se encuentran distribuidos por toda la naturaleza, sobre todo en suelo y agua. En ninguno de estos microorganismos hay datos de transmisión de un hombre a otro y en ningún caso de enfermedad humana se ha podido descubrir contacto con otro, como causa de trastorno (1).

Las enfermedades producidas por estos microorganismos tienen similitudes radiológicas, anatomopatológicas, y en gran parte clínicas, con la Tuberculosis, pero hay diferencias de virulencia, tratamiento y pronóstico. Se ha propuesto el término MICOBACTERIOSIS, con el fin de distinguirlas de la Tuberculosis. Sin embargo, es preferible la orientación según las especies, porque hay diferencias de susceptibilidad orgánica, tratamiento y pronóstico. Desde un punto de vista clínico, conviene agrupar estas infecciones según el órgano afectado.

La enfermedad pulmonar, sobre todo en varones blancos con bronquitis crónica y enfisema, es la manifestación clínica más frecuente (1-26).

En estudios epidemiológicos realizados en los Estados Unidos de Norteamérica, se han obtenido resultados que indican que la incidencia de Tuberculosis disminuye y la frecuencia de infección por otras *Mycobacterias*, aumenta, en particular, de organismos del grupo *Mycobacterium avium-M. intracellulare-M. scrofulaceum* (8).

En sujetos susceptibles, *Mycobacterium kansasii*, *M. intracellulare*, *M. avium*, *M. xenopi*, *M. aquae*, *M. chelonae*, *M. szulgai* y *M. simiae*, pueden producir una enfermedad pulmonar parecida a la Tuberculosis (1).

Hay variaciones geográficas, sobre todo en los Estados Unidos de Norteamérica. La frecuencia de infección por *M. intracellulare* es relativamente elevada en Georgia y Florida, y la infección por *M. kansasii* es más frecuente en el Centro. En algunas localidades la frecuencia es muy elevada, siendo hasta

de 7 a 15% de los ingresos por Tuberculosis Pulmonar en los hospitales (1).

La enfermedad pulmonar causada por *Mycobacterias* no tuberculosas, afecta sobre todo a varones blancos mayores de 45 años; con menos frecuencia, mujeres y negros; rara vez o nunca afecta a niños (1).

La bronquitis crónica, enfisema, enfermedad bulosa, silicosis y otras neumoconiosis, y, en el caso de la infección por *M. fortuitum*, la neumonía lipoidea y acalasia, con frecuencia existen aisladas o combinadas, y la enfermedad pulmonar crónica preexistente con toda probabilidad es el requisito para la colonización por estos microorganismos saprófitos (1).

En este aspecto y en otros, estas infecciones pulmonares se parecen más a las que se deben a *Histoplasma capsulatum*, hongo de baja patogenicidad humana, que se sabe coloniza espacios pulmonares anormales, que la infección mucho más virulenta por *Mycobacterium tuberculosis* a la que suele compararse. No se han descrito las fases más tempranas de estas infecciones. Las tardías se distinguen por cavidades múltiples de paredes delgadas, enfermedad exudativa y caseosa poco conspicua, fibrosis lentamente progresiva y un curso que se caracteriza por períodos de estabilidad y regresión, pero, en general, por progresión lenta (1).

Los síntomas clínicos cuando existen, tienden a ser leves. Se dice que por lo menos 50% de los pacientes son asintomáticos, y la enfermedad a menudo se descubre durante radiografía torácica sistemática. La tos con expectoración en cierta medida ocurre en todos los sujetos y es el síntoma más frecuente (1-30).

El dolor torácico sordo es una molestia ocasional. Los síntomas generales, cuando existen, son leves y no específicos, e incluyen malestar, fatiga, pérdida de peso, y en ocasiones fiebre. Si se observa ésta, es poco intensa; los escalofríos y sudación nocturna son poco frecuentes (1). Ninguna de estas infecciones oportunistas es contagiosa, y no es necesaria el aislamiento (1-3-5-16-29-31).

La radiografía de tórax es de primordial importancia para establecer el diagnóstico, conocer la extensión y características de la enfermedad y evaluar la respuesta al tratamiento. Si se descubre infiltrado por planos en la zona apical posterior, no se establece el diagnóstico en forma inequívoca, pero sí sugiere la existencia de la enfermedad pulmonar por *Mycobacterias*. Mediante la radiografía de tórax pueden conocerse ciertas características histopatológicas de los infiltrados. Las lesiones exudativas por lo regular tienen

límites borrosos e imprecisos. Puede pensarse en caseificación si se descubren zonas de mayor densidad. Las lesiones productivas tienden a ser pequeñas y nodulares con bordes bien definidos. El tejido cicatrizal produce bordes muy precisos y tiende a contraerse (1).

El diagnóstico depende de la identificación bacteriológica de los organismos específicos (1-3-5-7-26-29).

Aislamiento de *Mycobacterias* de material clínico:

Recolección de muestra de esputo:

El diagnóstico de enfermedad pulmonar por *Mycobacterias*, depende de la identificación bacteriológica de los organismos específicos (1-3-5-7-26-29); para establecer el diagnóstico de la enfermedad es necesario demostrar en forma repetida la existencia de un número importante de microbios y que haya enfermedad pulmonar correspondiente.

Un padecimiento de tipo tuberculoso que no responde a la terapéutica antimicrobiana o la demostración de una resistencia muy intensa a la medicación, deben de hacer sospechar una de las otras especies de *Mycobacterias* (1).

El buen cultivo del patógeno requiere la mejor muestra posible, debidamente recogida, transportada y procesada. Dado que el personal a cargo no siempre puede estar presente para asegurar la recolección correcta del esputo, debe instruirse al paciente para que asegure la muestra más útil. Debe decirse que se enjuague la boca para dejarla libre de alimentos y residuos dentífricos o drogas orales antes de recoger el esputo. La descarga nasofaríngea y la saliva no son esputo, y los pacientes deben recoger únicamente el material exudativo traído de los pulmones, después de una tos profunda productiva (5-12).

La muestra debe recogerse solamente en un recipiente aprobado por el laboratorio, claramente rotulado con el nombre del paciente, su número de hospital, o ambos (5-12).

Demostración de microorganismos por concentración y cultivo:

Muchos métodos de concentración se han descrito, casi todos son capaces de matar una proporción determinada de *Mycobacterias* de la muestra. Por esta razón es necesario seguir con precisión paso a paso los procedimientos en todos los métodos de digestión-descontaminación.

El rendimiento máximo de *Mycobacterias* debe esperarse del uso de los digestantes más suaves, capaces de suprimir los contaminantes.

En tre los procedimientos de digestión más recomendados, están:

Método de Acetil-cisteína hidróxido de sodio, método de Zephiranfosfato trisódico y método de hidróxido de sodio.

Otros procedimientos de digestión, incluyen:

Método de Acido oxálico, método de Cloruro de cetil-piridinio y método de Acido sulfúrico (5-21).

En un estudio realizado en 1981 por Sathianathan, sobre un método simple de cultivo diagnóstico, para su utilización en el Programa de Control de la Tuberculosis, se usó un método simple de digestión, para el tratamiento de descontaminación del esputo. El método consistió en el tratamiento del esputo con una mezcla alcalina (aproximadamente igual volumen de solución estéril conteniendo 20 gramos de bromuro de centrimonio y 40 gramos de hidróxido de sodio por litro de agua destilada); los resultados fueron satisfactorios, puesto que al compararlos con un grupo control, en el cual se había utilizado el método simple de hidróxido de sodio, se observó una menor contaminación en los esputos que habían utilizado la mezcla alcalina (25).

Käppler y Kalich, en 1979, buscando una técnica para la digestión-descontaminación del esputo, incluyendo la sedimentación y no la centrifugación, compararon los detergentes Nekal BX, Ditalan WO h.c. y Chlorhexidinum gluconicum; los resultados del estudio comparativo demostraron diferencias importantes en algunos aspectos, por ejemplo en el tiempo de crecimiento y la abundancia de crecimiento posterior, así como la frecuencia de contaminación (18).

Borda, en el mismo año (1979), referente a experiencias sobre un método sencillo y económico del cultivo del bacilo tuberculoso, e incorporación de enriquecedores que aceleraran su crecimiento, realizó un estudio en el cual utilizó 2 métodos para la descontaminación de la muestra. Un método consistió en la descontaminación de la muestra con hidróxido de sodio, concentrando por precipitación con cloruros de calcio y de bario. El otro método para descontaminación de la muestra fué el clásico, que utiliza centrifuga, neutralización y lavado del espécimen. Se obtuvo datos importantes, puesto que el grupo que evitó la centrifugación, disminuyó los aerosoles infectables para el laboratorista (2).

Medios de Cultivo:

Aunque la microscopía es un instrumento valioso, no permite la identificación precisa por especies del agente causal de la Micobacteriosis. Por esta razón el organismo debe recuperarse en medios de cultivo, para que posteriormente, por pruebas bioquímicas, se pueda diagnosticar definitivamente el agente patógeno.

Casi todos los medios sugeridos para el cultivo de *Mycobacterias*, son variaciones de fórmulas de base de huevo y papas o base de agar suero.

Una vez adaptadas al cultivo artificial, las *Mycobacterias* figuran entre los microorganismos patógenos menos exigentes, pero la necesidad de los bacilos para acomodarse a un ambiente in vitro después de su remoción de un medio rico en vivo, les exige a menudo un período de adaptación.

Un medio ideal debe: 1) favorecer el crecimiento temprano y muy abundante de inóculos pequeños, 2) permitir la separación preliminar de *Mycobacterias* basada en producción de pigmento y morfología de las colonias, 3) suprimir el crecimiento de contaminantes, 4) permitir la realización de buenas pruebas de susceptibilidad a drogas y 5) ser económico y fácil de preparar. Entre los medios de base de huevo más populares, los dos más usados son el medio de la Sociedad Torácica Americana y el medio de Lowenstein Jensen. De los medios agar base, los más populares son agar ácido oleico-albúmina de Dubos y agar Middlebrook 7H-10 y agar Middlebrook 7H-11 (5).

Como diferentes cepas de *Mycobacterias* pueden crecer mejor en un medio que en otro, se recomienda usar por lo menos 2 medios con fines diagnósticos de rutina. El crecimiento de casi todas las cepas de *Mycobacterias*, es estimulado por el anhídrido carbónico (5-28).

Debe incluirse un medio no selectivo primario de huevo, como el Lowenstein Jensen, el de la Sociedad Torácica Americana o el de Petragnani y un medio no selectivo de agar (7H-10 ó 7H-11) (21).

Por lo menos debe emplearse un medio selectivo, ya sea con huevo o agar de base (21).

El medio de Petragnani puede causar inhibición parcial de las *Mycobacterias*, secundario en parte al alto contenido de verde de malaquita, pero es bueno para los especímenes contaminados.

En el medio de la Sociedad Torácica Americana puede haber fácilmente crecimiento bacteriano por su bajo contenido en verde de malaquita. Se emplea para especímenes estériles (líquido cefalorraquídeo).

El uso de medios selectivos, conteniendo agentes antibacterianos, pueden ayudar a aislar Mycobacterias de medios contaminados.

Propiedades útiles para la identificación de los patógenos mycobacterianos:

Se identifican por su crecimiento, pigmentación de las colonias, morfología y propiedades bioquímicas. No se debe confiar en un solo método.

Identificación de Especies:

Los rasgos diferenciales de las Mycobacterias recuperadas de enfermedad pulmonar, sospechosa tipo Tuberculosis, en el hombre las describiremos individualmente, para resumir sus rasgos distintivos.

— *M. avium*: la definición exacta del origen y hábitat depende de la amplitud que se dé a la definición de *M. avium*. Hace una década se consideraba a este último como el agente causal de la Tuberculosis en las aves y con menos frecuencia en cerdos, vacas, otros animales inferiores y raramente en el hombre. La mayoría de los autores a un estudio reciente cooperativo internacional aceptaron que *M. intracellulare* debe ser un sinónimo de *M. avium* (5).

Los bacilos son muy pleomórficos, desde elementos cocoides cortos, hasta bacilos largos y formas filamentosas largas observadas en algunas etapas de crecimiento en ciertos medios. Generalmente son muy acidófilos y como la mayor parte de las Mycobacterias se consideran generalmente grampositivas, aunque los bacilos se tiñen con cierta dificultad.

Los bacilos producen generalmente colonias lisas abovedadas en medios basales de huevo, pero el crecimiento en agar ácido oleico-albúmina puede ser liso, transparente y de forma piramidal o hemisférica. Ocasionalmente se ven formas rugosas en ambas clases de medios. Más de un tipo de colonia puede verse en un mismo cultivo. La aparición de colonias maduras requiere comúnmente 10 días o más a 37°C.; la temperatura de crecimiento es de 25°C. a 45°C. Aunque comúnmente no pigmentadas, las colonias pueden mostrar pigmento claro a oscuro al envejecer. Las de tono amarillo pueden confundirse con *M. scrofulaceum*.

Las 2 reacciones de prueba más útiles para el diagnóstico de *M. avium*: una hidrólisis de Tween de 10 días negativa y una prueba de reducción de telurito de 3-4 días positiva. Además los organismos del complejo *M. avium* son niacina negativos (si únicamente se observan colonias lisas en agar ácido oleico-albúmina, no es necesario la prueba de niacina), no reducen nitrato, son ureasa negativos (lo que ayuda cuando se confunden *M. scrofulaceum*), y son pirazinamidas-positivos, lo que es útil para disipar confusiones con *M. bovis* (5-21-29).

— *M. chelonae*: uno de los organismos potencialmente patógenos de crecimiento rápido, incluye organismos antes llamados *M. borstelense*, *M. runyonii* y *M. abscessus*. Se ha aislado de suelos, esputo humano con y sin enfermedad asociada y abscesos en el sitio de inyecciones anteriores. Experimentalmente el organismo suele causar sólo lesiones transitorias en cobayos, conejos, hámsters y ratones, aunque se conocen algunos casos de lesiones macroscópicas en órganos de ratones infectados por vía intravenosa.

Los bacilos son muy pleomórficos y varían de cocoides cortos a formas largas estrechas (de 0.2-0.5 x 1.6 micras). Las células jóvenes en replicación activa son generalmente acidófilas, y los cultivos más viejos (más de 5 días) pueden mostrar formas no acidófilas.

Las colonias maduras, visibles en menos de 7 días, son comúnmente lisas, húmedas, hemisféricas y no pigmentadas, tanto en medios basales de huevo como de agar claro. A veces se observan colonias rugosas, más a menudo después de incubación prolongada de cultivos 3-4 semanas. En agar harina de maíz, *M. chelonae* no muestra la extensa red de filamentos comúnmente asociada a *M. fortuitum*. La temperatura de crecimiento es de 22 a 40°C.

Clínicamente parece haber poca necesidad de diferenciar este organismo de *M. fortuitum*; ambos son potencialmente patógenos y dan comúnmente reacciones positivas en las pruebas de 3 días de arilsulfatasa y agar McConkey. Cuando hay necesidad de distinguir este organismo de *M. fortuitum* las pruebas de tolerancia de NaCl 5%, reducción de nitrato y captación de hierro, pueden facilitar la distinción (5-21-29).

— *M. fortuitum*: uno de los patógenos potenciales de crecimiento rápido, se aisló originalmente de un absceso frío humano, pero también se ha aislado de enfermedad pulmonar y abscesos por inyección en el hombre, ganglios linfáticos del ganado vacuno, enfermedad nodular sistémica de ranas y suelos, siendo estos últimos su hábitat normal. Especies hoy consideradas

sinónimas de *M. fortuitum* incluyen *M. peregrinum*, *M. minetti*, *M. giae*, *M. ranae* y *M. salmoniphilum*. Experimentalmente *M. fortuitum* puede producir lesiones locales en riñones de ratones, cobayos, conejos y monos; las lesiones del oído medio causan una característica "enfermedad giratoria" en los ratones.

Los bacilos tienen 1-3 micras de largo, aunque se conocen variaciones de formas cocoide a largas ramificadas y filamentosas. Los cultivos jóvenes, de menos de 5 días, son generalmente acidófilos, pero los más viejos pueden tener solo 10% de células acidófilas.

Casi todas las cepas crecen a temperaturas de 22 a 40°C. y las colonias maduras son visibles en menos de 5 días. En medios basales de huevo las colonias pueden ser blandas, mantecosas (butirosas) y hemisféricas, multilobuladas o con racimos de rosetas; también son comunes las colonias rugosas de centros amontonados. Generalmente las colonias no son pigmentadas, pero cuando crecen en medios que contienen verde de malaquita, pueden absorber el colorante y tomar color verde. En medio Middlebrook 7H-10, las colonias rugosas son densas con algunos cordones, y las formas lisas muestran colonias hemisféricas de bordes enteros y centros oscuros. Si crecen en agar harina de maíz las colonias lisas muestran gran formación de filamentos, lo que no es tan evidente en las formas de las colonias de tipo rugoso.

Las reacciones positivas en las pruebas de 3 días de arilsulfatasa y agar McConkey, bastan generalmente para identificar *M. fortuitum* *M. chelonae*. Si se necesita una clasificación de especie más precisa, en raras ocasiones, las pruebas de tolerancia al NaCl, reducción de nitrato y captación de hierro, son muy útiles para ello (5-21-29).

— *M. gordonae*: se recupera a menudo como aislamiento casual de esputo y lavado gástrico humano, pero pocas veces o nunca es implicado como patógeno. Puede encontrarse en agua corriente, suelo y otras fuentes ambientales. El término impropio *M. aquae* se ha asociado a este organismo.

Bacilos acidófilos moderadamente largos a largos se ven comúnmente en frotis. A veces estos bacilos pueden mostrar coloración en barras o bandas.

En medios basales de huevo, *M. gordonae* produce generalmente colonias lisas amarillas a anaranjadas que tardan más de 7 días en madurar totalmente. En agar ácido oleico-albúmina las colonias también son

comúnmente lisas, amarillas a anaranjadas y hemisféricas, de borde entero. Ocasionalmente se ve una colonia más aplanada de periferia ondulante. En ambos medios pueden verse colonias rugosas. El crecimiento puede producirse a temperaturas de 22 a 39°C., pero parece ser óptimo a 35°C.

M. gordonae muestra gran actividad de catalasa, con más de 45 mn. de burbujas, generalmente hidroliza Tween 80 en menos de 10 días y es negativo en actividad de ureasa; estos dos últimos rasgos lo distinguen del patógeno *M. scrofulaceum* (5-21-29).

— *M. kansasii*: originalmente aislado de una lesión pulmonar tipo Tuberculosis del hombre. Se asocia a enfermedad pulmonar humana; más raramente se recupera de pulmones o ganglios linfáticos de vacas o cerdos. Su origen en la naturaleza es incierto, los estudios de suelo han sido improductivos, aunque algunas cepas se han aislado de agua corriente. Experimentalmente *M. kansasii* puede ser mortal para hámsters y a veces para ratones. En otros animales, en cambio, incluso inóculos muy grandes pueden ser inocuos (pollos) o causar sólo enfermedad autolimitante (conejos, cobayos, ratas y monos); los desenlaces fatales son raros. Antiguos sinónimos de esta especie son *M. luciflavum* y el vernáculo "bácilo amarillo".

Las coloraciones acidófilas revelan bacilos moderadamente largos a largos que pueden mostrar grandes barras cruzadas acidófilas, especialmente si los organismos se cultivan en presencia de ácidos grasos.

En medios basales de huevo, puede producir colonias lisas o rugosas que maduran en más de 7 días. En agar ácido oleico-albúmina las colonias son lisas y planas, de borde entero y centro oscuro, o granulares a rugosas de margen irregular y centro denso. En ambos medios las colonias no son pigmentadas en la oscuridad, pero si cultivos jóvenes de crecimiento activo se exponen brevemente (1 hora) a la luz, toman color amarillo limón en las 6-24 horas siguientes. En raras ocasiones se encuentran mutantes no pigmentados y escotocromógenos de *M. kansasii*. La exposición continuada a la luz puede llevar a la formación de cristales rojo oscuro de B-caroteno visibles en la superficie de las colonias. *M. kansasii* crece a temperaturas de 22-40°C.

Dos fotocromógenos, *M. marinum* y *M. simiae*, deben distinguirse de *M. kansasii*. Este último hidroliza rápidamente Tween 80, es niacina-negativo, reduce nitrato y es negativo en la prueba de pirazinamidasa de 4 días (5-21-29).

— *M. scrofulaceum*: se aisló primeramente de una niña con linfadenitis cervical; se encuentra comúnmente en pacientes (principalmente niños) con este tipo de infección. Ocasionalmente se encuentra en esputo y lavado gástrico sin patología asociada y rara vez se asocia a enfermedad pulmonar. Considerado comúnmente como un microorganismo del suelo, no causa enfermedad extendida en animales experimentales (ratas, hámsters, pollos y cobayos), pero la inyección intradérmica o subcutánea en cobayos puede causar absceso local y linfadenitis regional. El nombre *M. scrofulaceum* se conservó de preferencia al nombre anterior, *M. marianum*, debido a posible confusión con *M. marinum*.

M. scrofulaceum puede verse como bacilos cortos o largos, y a veces hasta filamentosos. Las células se tiñen bien con colorantes acidófilos.

En medio basal de huevo las colonias maduras que aparecen después de 7 días son generalmente lisas, hemisféricas y amarillas a anaranjadas con borde entero o piramidal irregular. Rara vez se ven colonias rugosas en ambos medios. El organismo es capaz de crecer de 22 a 39°C. El pigmento puede intensificarse a rojo ladrillo si los cultivos se exponen continuamente a la luz durante 2 semanas.

Debido a la semejanza de cultivos con especies saprófitas de crecimiento lento, el patógeno potencial *M. scrofulaceum* debe identificarse. Es nitrato-negativo y no hidroliza Tween 80, pero da una prueba de ureasa positiva (5-21-29).

— *M. simiae*: se aisló originalmente de monos, pero trabajos recientes sugieren su identidad con *M. habana*, un organismo que produce estados patológicos pulmonares en el hombre. Aunque se ve raramente en Estados Unidos de Norteamérica, un informe reciente de un caso, sugiere que, como resultado de los viajes internacionales y de la inmigración, más cepas pueden encontrarse en América del Norte.

Los bacilos son capaces de crecer a temperaturas de 22 a 41°C.; las colonias maduras formadas después de 7 días de incubación pueden ser eugónicas o disgónicas. Aunque casi todas las cepas tienden a ser lentamente fotocromógenas (requieren 4-8 horas de exposición a la luz y mayor incubación luego de dicha exposición), algunas son escotocromógenas.

Como son niacina-positivas y fotocromógenas, las cepas de *M. simiae* deben distinguirse de *M. tuberculosis* y *M. kansasii*. *M. simiae* no reduce nitrato, es 68°C. catalasa-positivo y negativo en hidrólisis de Tween. Las cepas

poco fotocromógenas de *M. simiae* pueden confundirse fácilmente con el complejo *M. avium*. Si pruebas cuidadosas de niacina y fotocromogenicidad no facilitan la separación, el cultivo puede necesitar estudios de seroaglutinación (5-21-29).

— *M. szulgai*: todos los aislamientos hasta ahora, han sido recuperados en condiciones que indican complicidad humana: enfermedad pulmonar, adenitis cervical y bursitis del olécranon. Por ahora nada se sabe de la índole saprófita de este microorganismo, que puede crecer a temperaturas de 25 a 40°C., con lo cual tiene firmes posibilidades de sobrevivir fuera del huésped humano. Hasta ahora, se han hecho pocos estudios en cuanto a virulencia en animales de experimentación.

Los colorantes acidófilos revelan bacilos de 1-4 micras de largo que pueden exhibir la coloración de barras cruzadas que se ven a menudo en *M. kansasii*.

En medios basales de huevo y agar ácido oleico-albúmina, forma colonias lisas y/o rugosas de forma más o menos piramidal, que se adelgazan en su extremidad con borde comúnmente irregular. Cuando crecen a 37°C. los cultivos son escotocromógenos, y la exposición continua a la luz puede resultar en la formación de cristales rojos en y sobre las colonias, como se nota en *M. kansasii*. Cuando crece a la oscuridad a 25°C., no es pigmentado, pero adquiere pigmento amarillo después de exponerse a la luz. Este fenómeno de fotocromogenicidad es menos evidente a 30 que a 25°C., y efectivamente ha existido cierta dificultad para detectar la fotocromogenicidad incluso a 25°C.

Debido a su patogenicidad potencial para el hombre, deben hacerse todos los esfuerzos posibles para identificar *M. szulgai*. La fotocromogenicidad exclusiva a 25°C. (cuando es manifiesta) y escotocromogenicidad a 37°C. deben sugerir inmediatamente esta especie. La prueba de hidrólisis de Tween es generalmente positiva en 10-14 días, los nitratos se reducen y la prueba de 2 semanas de arilsulfatasa es moderadamente fuerte (5-21-29).

— *M. xenopi*: aislado primariamente de granulomas cutáneos de sapos, se asocia a veces con enfermedad pulmonar crónica en el hombre o con enfermedad del tracto genitourinario. Su aislamiento más frecuente como residente casual del hombre respaldaría su reciente hallazgo en agua corriente. Experimentalmente es bastante inocuo para casi todos los animales de laboratorio, excepto si se usan inóculos muy grandes. *M. litorale* es un

sinónimo ilegítimo de *M. xenopi*.

Las colonias aisladas en medio basal de huevo maduran en 2 semanas o más y dan crecimiento liso, a veces rugoso, inicialmente no pigmentado que al envejecer se hace amarillo. En agar ácido oleico-albúmina las colonias son pequeñas, compactas y comúnmente exhiben filamentos ramificados, que son evidentes al examen microscópico. El microorganismo es capaz de crecer a 35-45°C.; la temperatura óptima es de 42-45°C.

Según la intensidad del pigmento, *M. xenopi* puede clasificarse como escotocromógeno. El reconocimiento se hace por la observación de pequeñas colonias compactas con filamentos periféricos en agar ácido oleico-albúmina junto con reacciones positivas en 68°C. catalasa y pirazinamidasas y susceptibilidad a 1 micra/ml. INH y reacciones negativas en hidrólisis de Twenn, ureasa, reducción de nitrato y de telurito (5-21-29).

— *M. tuberculosis*: aislado de lesiones tuberculosas de cualquier órgano humano, es casi siempre de origen pulmonar y parásito obligado; también infecta a primates, perros, loros, y otros animales en contacto habitual con el hombre. Esta es la especie que se recupera más comúnmente en Tuberculosis humana sospechada. Experimentalmente, esta especie produce enfermedad progresiva en cobayos, ratones y hámsters, pero es relativamente no patógena para conejos y aves. La virulencia para animales experimentales pueden perderse por subcultivos de rutina en medios artificiales, pero el mantenimiento de la patogenidad se facilita por el paso por medios sintéticos con buen "buffer" de pH alcalino o por preservación a -70°C.

Los bacilos tuberculosos, muy acidófilos y cuyo tamaño es de 0.3-0.6 x 1.4 micras, pueden ser rectos o ligeramente curvos y a menudo revelan formas redondeadas por coloración. Los bacilos tienen tendencia a la agregación, de modo que frotis de cultivos puros revelan a menudo formaciones serpentinas de cordones muy característicos de *M. tuberculosis* y otros bacilos tuberculosos.

M. tuberculosis limita su crecimiento a 33-39°C., y las colonias maduras tardan 10-14 días o más en aparecer, tanto en medio basal de huevo como en agar ácido oleico-albúmina. En casi todos los medios las colonias son rugosas y apiladas "en coliflor", con márgenes irregulares, no pigmentadas. En agar ácido oleico-albúmina las colonias son siempre planas, rugosas y acordonadas. El crecimiento es seco, friable y difícil de emulsionar en agua o solución salina.

Aunque una prueba positiva de niacina es para muchos una demostración inequívoca de *M. tuberculosis*, es bien sabido que otras Mycobacterias pueden ser positivas en esta prueba, que algunas cepas de *M. tuberculosis* pueden ser negativas y que ciertos contaminantes no acidófilos pueden dar pruebas positivas de niacina. Por estas razones la prueba de niacina por sí sola no basta para la identificación específica de *M. tuberculosis*. Quizá las dos pruebas de apoyo más valiosas para este taxón son una reacción positiva fuerte en la reducción de nitrato y una pérdida de actividad de catalasa a 68°C.

Jankins en 1982, publicó un estudio, en el cual, de 15,553 cepas de Mycobacterias examinadas, identificó 13,921 como *M. tuberculosis*, por medio de un procedimiento de selección simple, el cual consistió en identificar a *M. tuberculosis* por dar colonias no pigmentadas a 37°C. y no crecer a 25°C., ni a 37°C. en medio de Lowenstein Jensen que contenía ácido p-nitrobenzoico o tiacetazona. Las 2,138 cepas de Mycobacterias no tuberculosas, fueron asignadas a uno de los grupos o especies en base a su crecimiento a 25°C., 37°C. y 45°C., a la producción de pigmento, a la preferencia por el oxígeno y a la hidrólisis de Tween. La identificación fue llevada adelante sólo hasta límites de la necesidad clínica. Las especies más comunes fueron: *M. kansasii* (322), seguida del grupo *M. avium-intracellulare* (303), *M. gordonae* (280), *M. xenopi* (242) y el grupo *M. fortuitum* (183). Sólo 39 cepas quedaron sin clasificar y ninguna de ellas tenía importancia clínica (17).

En un estudio realizado por Lazlo, en 1982, se compararon 2 métodos bacteriológicos para aislamiento primario de *M. tuberculosis*. Se procesaron muestras clínicas de tejidos animales por medio de métodos convencionales. Todas las muestras que contenían bacilos resistentes a medicamentos antituberculosos, se sembraron en medios sólidos convencionales y en medio Middlebrook 7H-12; se llegó a la conclusión de que el tiempo de obtención de los resultados se acortaba al utilizar un medio no convencional como lo es Middlebrook 7H-12 (20).

La OMS, UNICEF y la Sociedad Filipina de Tuberculosis, realizaron en 1982, un estudio conjunto, en el cual se comparaba el medio de Lowenstein Jensen, con 2 medios más simples, para el cultivo de *M. tuberculosis*. Un medio en base de huevo y coco y el otro solamente en base de huevo.

Los resultados obtenidos, sugieren que, en los países en desarrollo

pueden utilizarse medios más simples de cultivo y de menos costos, sin comprometer la comparación internacional de los resultados de laboratorio (22).

Di Leonardo, en Buenos Aires, Argentina, en 1982, estudió los cultivos de *Mycobacterias* de 4,894 pacientes, la mayoría de los cuales eran de secreciones pulmonares, ya que solamente un 5.7% eran de otros orígenes. Los resultados obtenidos del total de casos estudiados fué de 0.35% de Micobacteriosis (7).

Tratamiento de Micobacteriosis:

Sólo *M. kansasii* muestra susceptibilidad significativa in vitro a los antituberculosos, si bien el grado de susceptibilidad no es siempre comparable al de *M. tuberculosis* (1-10-30).

M. intracellulare, *M. avium*, *M. fortuitum* y todas las demás *Mycobacterias* saprófilas que causan enfermedad pulmonar, son muy resistentes in vitro a todos los antituberculosos. Algunos de estos microbios tal vez muestren susceptibilidad in vitro a la rifampicina a niveles que no se pueden lograr en el tratamiento de la enfermedad humana. A pesar que se ha demostrado la resistencia in vitro, muchos médicos usan antituberculosos en varias combinaciones, y algunos informan de mejoría, en especial cuando se usan combinaciones que incluyen tres o más medicamentos. Sin embargo, no ha habido estudios controlados ni pruebas firmes de que estos regímenes sean de utilidad (1-10-29-30).

Las combinaciones de medicamentos antituberculosos recomendadas para el tratamiento de las Micobacteriosis, y que en algunos casos se informa de mejoría son: rifampicina, isoniácida, etambutol y estreptomycin, así como isoniácida, etambutol, rifampicina, etionamida y estreptomycin. También se puede utilizar la combinación anterior, excluyendo la estreptomycin, e incluyendo la capreomicina o la kanamicina (1-10-30).

La terapéutica racional depende de la identificación de la *Mycobacteria* etiológica, y determinar su sensibilidad a las drogas (1-10-30).

Las dosis de dichos medicamentos, son las usualmente utilizadas para el tratamiento de la Tuberculosis Pulmonar.

Gangadharam, publicó en 1982, un artículo sobre la quimioterapia experimental de corta duración de la enfermedad debida a *M. kansasii*, en

ratas. La quimioterapia incluyó la combinación de 3 medicamentos: rifampicina, etionamida y estreptomycin. Se decidió utilizar rifampicina debido a que las cepas salvajes de *M. kansasii*, in vitro se muestran uniformemente sensibles a concentraciones bajas de rifampicina y la negativización bacteriológica del esputo se produce rápidamente cuando se incluye a ésta, en el esquema terapéutico. Llegó a concluir que la utilización de esquemas que contienen rifampicina en el manejo del tratamiento de la enfermedad debida a *M. kansasii* permite obtener niveles de éxito equivalentes a los obtenidos en Tuberculosis (9).

Hintz, en 1982, comparando 3 métodos para determinar la susceptibilidad del *M. avium* a los agentes antituberculosos, concluyó que el etambutol, la isoniácida y la rifampicina son eficaces contra *M. avium*, no siendo así la pirazinamida, que resultó ineficaz para esta *Mycobacteria* (15).

El mismo autor, había demostrado en 1979, que *M. avium* era sensible a 8 de 14 antibióticos utilizados, por medio de la técnica de difusión; los antibióticos a los cuales fué sensible *M. avium*: rifampicina, cicloserina, amikacina, kanamicina, penicilina G., estreptomycin, isoniácida y clofazimina.

En un estudio realizado por Hejny, y publicado en 1979, se compararon tratamientos utilizados para Micobacteriosis, producidas por *M. kansasii*, *avium-intracellulare* y *fortuitum*. Se utilizaron combinaciones de antibióticos no específicos (eritromicina, lincomicina y pirazinamida) y sulfas, así como utilizando monoterapia (un antibiótico no específico o una sulfa). La terapéutica en ambos casos tuvo una duración de 30 jornadas. Dicha experiencia demostró que la monoterapia es más eficaz que la combinación de medicamentos, y que el tratamiento eficaz exige períodos prolongados de administración de los medicamentos (14).

MATERIAL Y METODOS

Para el presente estudio se tomaron un total de 50 pacientes de ambos sexos, comprendidos entre los 16 y 70 años de edad, hospitalizados en el Sanatorio Antituberculoso "San Vicente", con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa.

Para llegar a la identificación diferencial de la *Mycobacteria* causante de enfermedad pulmonar tipo Tuberculosis, en cada uno de los pacientes estudiados, se efectuó lo siguiente:

1. Se procedió a tomar una muestra de esputo de cada uno de los pacientes, instruyéndolos sobre el inspirar profundamente por la nariz, ensanchando el tórax, y, después de retener el aire un instante, lanzarlo hacia afuera con un esfuerzo de tos y escupir dentro del recipiente que tenían para el mismo (previamente rotulado con el nombre del paciente, y un número correlativo de 1 a 50), para que la secreción saliera del árbol bronquial, y no de la nariz o la faringe, y así se obtuviera una buena muestra de esputo.
2. Se efectuó la coloración de Ziehl Neelsen a cada muestra de esputo, para determinar si habían bacilos ácido alcohol resistentes:

Se seleccionó la parte purulenta o más densa que contenía la muestra de esputo. Con un aplicador se colocó la partícula sobre la cara superior de un portaobjetos, ya identificado con un número correlativo de 1 a 50. Se extendió la partícula con el mismo aplicador, colocando éste en forma horizontal sobre el portaobjetos, y corriéndolo en forma de vaivén para lograr una película homogénea.

Se esperó a que el portaobjetos con la película homogénea se sacará a la temperatura ambiente. Las láminas ya secas, con el extendido hacia arriba, se pasaron 2 ó 3 veces sobre la llama de un mechero, para fijarlo.

Teniendo la lámina ya fijada, se cubrió en su totalidad con fucsina fenicada. Se calentó suavemente con la llama de un hisopo de algodón humedecido en alcohol, pasándolo lentamente por debajo de la lámina, hasta producir emisión de vapores. El procedimiento se repitió 3 veces, evitando que la fucsina hirviera. Se tomó el portaobjetos y se colocó debajo de un chorro de agua a baja presión, escurriéndose luego sobre la partícula coloreada, sin desprenderla.

Para hacer la decoloración, se cubrió la totalidad de la superficie del extendido con alcohol ácido. Luego se tomó la lámina entre el pulgar y el índice de la mano y se hizo un movimiento de vaivén de modo que el alcohol ácido decolorara y a la vez arrastrara suavemente la fucsina. Cuando el ácido alcohol adquirió coloración roja, se enjuagó la lámina bajo el chorro de agua como se hizo con la fucsina.

Se cubrió la totalidad de la superficie del extendido de la lámina con azul de metileno, durante 30 segundos. Se enjuagó suavemente con agua, dejando que se secara a temperatura ambiente.

Luego se observó con el dispositivo de inmersión.

3. Al comprobar que en cada muestra de esputo habían bacilos ácido alcohol resistentes, se efectuó la descontaminación de cada muestra, con hidróxido de sodio al 4%.

Se tomó en un tubo de ensayo 2 cms.³ de esputo. Se agregó 2 cms.³ de hidróxido de sodio al 4%. Se agitó vigorosamente en un mezclador para tubos de ensayo, durante 15 minutos. Se centrifugó el tubo de ensayo durante 15 minutos a 2000 revoluciones por minuto. Se decantó el sobrenadante. Al sedimento que quedó en el tubo de ensayo, se le agregó 1 gota de rojo bromotimol, tomando este una coloración azul. Moviendo el tubo de ensayo, se agregó ácido clorhídrico hasta obtener una coloración amarilla. Finalmente, moviendo nuevamente el tubo de ensayo, se agregó hidróxido de sodio al 2%, hasta obtener nuevamente coloración azul.

4. Se efectuó la siembra en medios de Lowenstein Jensen y agar ácido oleico-albúmina.

5. Se determinó el crecimiento de cada siembra por medio de observación periódica cada 4-5 días (índice de crecimiento), y se midió la temperatura a la cual se produjo el crecimiento, así como la calidad de crecimiento, la producción de pigmento de cada muestra en crecimiento, y la morfología de las colonias en crecimiento. Dependiendo de estos parámetros, anotados en la boleta de investigación llevada para cada paciente, con su nombre, sexo, edad y número de papeleta médica, se efectuaron pruebas bioquímicas, según la tabla 1, para llegar a la identificación diferencial de cada una de las Mycobacterias causantes de enfermedad pulmonar tipo Tuberculosis, en cada uno de los pacientes estudiados.

6. Finalmente, se efectuó porcentaje del total de pacientes estudiados, que tienen enfermedad pulmonar producida por Mycobacterias tuberculosas y enfermedad pulmonar producida por Mycobacterias no tuberculosas, haciendo un análisis "casual" respecto a la edad, el sexo y la evolución de estos últimos, en relación a lo revisado en la literatura.

CUADRO No. 1

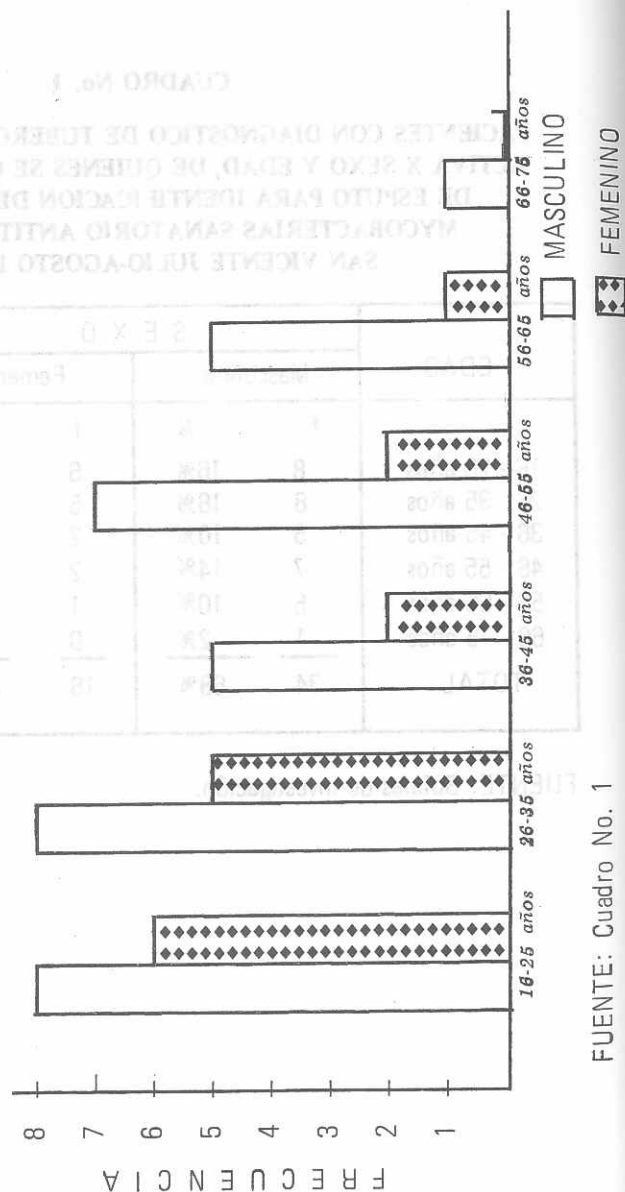
PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR
ACTIVA X SEXO Y EDAD, DE QUIENES SE OBTUVO MATERIAL
DE ESPUTO PARA IDENTIFICACION DIFERENCIAL DE
MYCOBACTERIAS SANATORIO ANTITUBERCULOSO
SAN VICENTE JULIO-AGOSTO DE 1985

EDAD	S E X O				TOTAL	
	Masculino		Femenino			
	f	%	f	%	f	%
16 - 25 años	8	16%	6	12%	14	28%
26 - 35 años	8	16%	5	10%	13	26%
36 - 45 años	5	10%	2	4%	7	14%
46 - 55 años	7	14%	2	4%	9	18%
56 - 65 años	5	10%	1	2%	6	12%
66 - 75 años	1	2%	0	0%	1	2%
TOTAL	34	68%	16	32%	50	100%

FUENTE: Boletas de investigación.

GRAFICA No. 1

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR ACTIVA
X SEXO Y EDAD, DE QUIENES SE OBTUVO MATERIAL DE ESPUTO
PARA IDENTIFICACION DIFERENCIAL DE MYCOBACTERIAS
SANATORIO ANTITUBERCULOSO SAN VICENTE
JULIO-AGOSTO DE 1985



FUENTE: Cuadro No. 1

CUADRO No. 2

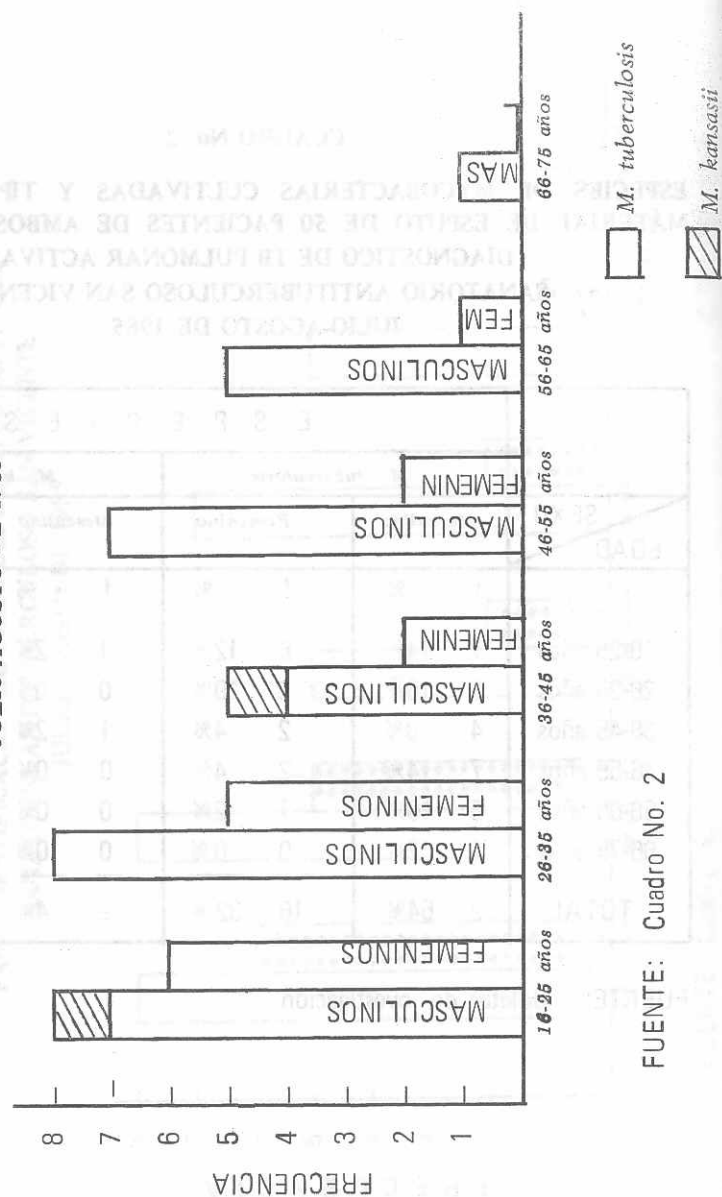
ESPECIES DE MYCOBACTERIAS CULTIVADAS Y TIPIFICADAS DE
MATERIAL DE ESPUTO DE 50 PACIENTES DE AMBOS SEXOS, CON
DIAGNOSTICO DE TB PULMONAR ACTIVA
SANATORIO ANTITUBERCULOSO SAN VICENTE
JULIO-AGOSTO DE 1985

SEXO EDAD	E S P E C I E S					
	M. tuberculosis				M. kansasii	
	Masculino		Femenino		Masculino	Femenino
	f	%	f	%	f	%
16-25 años	7	14%	6	12%	1	2%
26-35 años	8	16%	5	10%	0	0%
36-45 años	4	8%	2	4%	1	2%
46-55 años	7	14%	2	4%	0	0%
56-65 años	5	10%	1	2%	0	0%
66-75 años	1	2%	0	0%	0	0%
TOTAL	32	64%	16	32%	2	4%

FUENTE: Boletas de investigación

GRAFICA No. 2

ESPECIES DE MYCOBACTERIAS CULTIVADAS Y TIPIFICADAS DE MATERIAL DE ESPUTO DE 50 PACIENTES DE AMBOS SEXOS, CON DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR ACTIVA SANATORIO ANTITUBERCULOSO SAN VICENTE JULIO-AGOSTO DE 1985



FUENTE: Cuadro No. 2

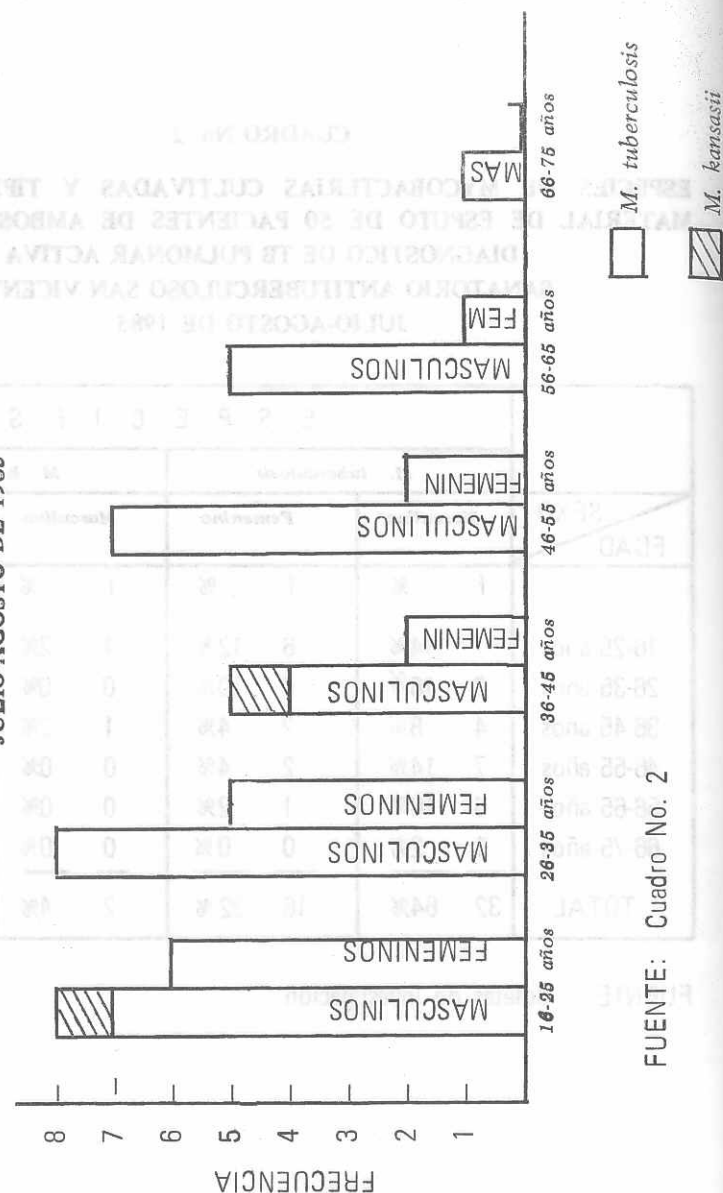
CUADRO No. 2

ESPECIES DE MYCOBACTERIAS CULTIVADAS Y TIPIFICADAS DE MATERIAL DE ESPUTO DE 50 PACIENTES DE AMBOS SEXOS, CON DIAGNOSTICO DE TB PULMONAR ACTIVA SANATORIO ANTITUBERCULOSO SAN VICENTE JULIO-AGOSTO DE 1985

		E S P E C I E S							
		<i>M. tuberculosis</i>				<i>M. kansasii</i>			
SEXO EDAD	<i>Masculino</i>		<i>Femenino</i>		<i>Masculino</i>		<i>Femenino</i>		
	f	%	f	%	f	%	f	%	
16-25 años	7	14%	6	12%	1	2%	0	0%	
26-35 años	8	16%	5	10%	0	0%	0	0%	
36-45 años	4	8%	2	4%	1	2%	0	0%	
46-55 años	7	14%	2	4%	0	0%	0	0%	
56-65 años	5	10%	1	2%	0	0%	0	0%	
66-75 años	1	2%	0	0%	0	0%	0	0%	
TOTAL	32	64%	16	32%	2	4%	0	0%	

FUENTE: Boletas de investigación

GRAFICA No. 2
 ESPECIES DE MYCOBACTERIAS CULTIVADAS Y TIPIFICADAS DE MATERIAL DE
 ESPUTO DE 50 PACIENTES DE AMBOS SEXOS, CON DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS
 PULMONAR ACTIVA SANATORIO ANTITUBERCULOSO SAN VICENTE
 JULIO-AGOSTO DE 1985



ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En el Cuadro 1 y Gráfica 1, podemos observar que del total de pacientes estudiados, con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa, los grupos etáreos que abarcan más del 50% de los casos, corresponden a las edades de 16-25 años (28%) y 26-35 años (26%), datos que en nuestra casuística en particular, se asemejan a los revisados en la División de Tuberculosis, de la Dirección General de Servicios de Salud, del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, respecto a que en 1981, más del 50% de casos de esta enfermedad, correspondieron al grupo etáreo de 20-39 años, lo cual demuestra que es un padecimiento de personas en edad productiva, lo que influye en gran escala en la economía y desarrollo en general, a nivel nacional.

En el Cuadro 2 y Gráfica 2, observamos que del total de pacientes estudiados con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa, el 96% (48 casos) están siendo provocados por la especie *Mycobacterium tuberculosis* y el 4% (2 casos) están siendo provocados por la especie *Mycobacterium kansasii* (M. no tuberculosa o "atípica"), resultados que en nuestra casuística en particular, se asemejan a los obtenidos en los Estados Unidos de Norteamérica y Europa, lugares en los cuales de 1 a 5% de los ingresos por Tuberculosis Pulmonar en los hospitales, dependen de infección por *Mycobacterias* no tuberculosas.

Algo importante de analizar y discutir en el presente estudio, es la evolución de cada uno de los casos de enfermedad pulmonar producida por *Mycobacterium kansasii*.

Según lo revisado en Beeson, Jankins y Shepard, la especie *Mycobacterium kansasii* es una de las más frecuentemente identificadas en pacientes con cuadro clínico y radiológico similar a la Tuberculosis Pulmonar, y lo comprobamos, ya que fué la única especie de *Mycobacteria* no tuberculosa identificada en el presente estudio.

Los síntomas que incluyen, malestar, fatiga, pérdida de peso y fiebre, los cuales son inespecíficos, estaban presentes en los 2 casos, y tendían a ser moderados en un caso, y severos en el otro caso (el cual falleció), y no como lo menciona Beeson y Shepard quienes describen que estos síntomas tienden a ser leves.

Los hallazgos radiológicos que incluyen lesiones cavitarias exudativas apicales, que según Beeson y Shepard, sugieren enfermedad pulmonar por *Mycobacterias*, fueron encontrados en los 2 casos.

Uno de los casos, un paciente masculino de 36 años de edad, originario de Tecpán, Chimaltenango, de raza mestiza y de oficio jornalero, el cual al ser hospitalizado, tenía sintomatología de más de 1 año de evolución, y a quien se le diagnosticó Tuberculosis Pulmonar Bilateral Moderada. Se le inició tratamiento con estreptomycin, isoniacida y tiacetazona, y que posteriormente se le omitió la tiacetazona por haber provocado reacciones cutáneas adversas, y se le inició etambutol, no respondió adecuadamente tanto clínica, radiológica como bacteriológicamente en el tiempo previsto para ello. Se le iniciaron medicamentos de segunda línea, a los cuales actualmente no ha respondido adecuadamente.

Según Beeson, Goodman, Shepard y Sonnenwirth, al utilizar medicamentos antituberculosos en varias combinaciones, y en especial cuando se usan 3 o más medicamentos, algunos médicos informan de mejoría en estos casos. Sin embargo, no ha habido estudios controlados, ni pruebas firmes de que estos regímenes sean de utilidad, y este caso en particular, reafirma la inutilidad de dar medicamentos antituberculosos en estos pacientes.

La evolución del otro caso, también un paciente masculino, de 19 años, originario de Quetzaltenango, de grupo étnico indígena y de oficio zapatero, al ser hospitalizado, tenía sintomatología de 4 meses de evolución. Se le diagnosticó Tuberculosis Pulmonar Bilateral Avanzada, y se le inició tratamiento con estreptomycin, isoniacida y etambutol; luego de permanecer 4 días hospitalizado inició cuadro neurológico, que por medio de laboratorios, se diagnosticó como Meningitis Tuberculosa. El paciente falleció, y se comprobaron ambos diagnósticos anatomopatológicamente.

El curso se caracterizó por progresión rápida, y no como lo revisado en Beeson, Robbins y Shepard, que mencionan cursos de estabilidad y regresión, y en general, progresión lenta.

Por último, hacemos un análisis comparativo de las edades en que se presentaron estos casos de enfermedad pulmonar por *Mycobacterias* no tuberculosas en nuestro estudio, 19 y 36 años, con las edades descritas en Beeson, mayores de 45 años. Creemos que esta diferencia depende de las edades en que se presenta la enfermedad pulmonar crónica, en general, en Guatemala, y las edades en que se presenta en otras partes del mundo.

CONCLUSIONES

1. Las especies de *Mycobacterias* identificadas en los pacientes del presente estudio, con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa, fueron *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium kansasii*.
2. En el estudio se encontró frecuencia de 4% (2 casos) de *Mycobacterias atípicas*, produciendo cuadro clínico y radiológico similar al producido por *Mycobacterium tuberculosis*.
3. Los 2 casos del presente estudio con enfermedad pulmonar producida por *Mycobacterium kansasii*, pertenecen ambos al sexo masculino, y sus edades son 19 y 36 años respectivamente.
4. El grupo etéreo más afectado por Tuberculosis Pulmonar de los pacientes estudiados, fué el comprendido entre las edades de 16 y 35 años.
5. Los casos de enfermedad pulmonar producida por *Mycobacterium kansasii*, se comportaron clínicamente como *resistentes* a quimioterapia de primera línea, y uno de ellos, a quimioterapia de segunda línea utilizada en Tuberculosis.

RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios al respecto, a fin de comparar resultados, y poder generalizar sobre si existe la necesidad de introducir la identificación de especies de Mycobacterias a nivel nacional, al efectuar el diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar, debido al costo que puede implicar el uso rutinario.
2. Efectuar la identificación de especies de Mycobacterias, en pacientes con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar, que no responden a la terapéutica antimicrobiana.
3. Fomentar la realización de estudios, que evalúen el tratamiento de la enfermedad pulmonar crónica por Mycobacterias no tuberculosas.

RESUMEN

En el presente trabajo, se tomaron un total de 50 pacientes, de ambos sexos, comprendidos entre los 16 y 70 años de edad hospitalizados en el Sanatorio Antituberculoso "San Vicente", con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar Activa, y a quienes se les identificaría la especie de *Mycobacteria* causante de su enfermedad Pulmonar.

A cada uno de estos pacientes, se les tomó una muestra de esputo, previa instrucción, para que la secreción saliera del árbol bronquial, y así se obtuviera una buena muestra de ésta.

Posteriormente, se efectuó la técnica de Ziehl Neelsen a cada muestra de esputo, para determinar si habían bacilos ácido alcohol resistentes. Al confirmar la presencia de estos bacilos, se descontaminó el esputo con hidróxido de sodio al 4%, y se efectuaron siembras de éste, en 2 medios de cultivo para *Mycobacterias*.

Luego de determinar el crecimiento de cada siembra por medio de observación periódica cada 4-5 días, medir la temperatura a la cual se producía el crecimiento, así como la calidad del crecimiento, la producción de pigmento de cada siembra, y la morfología de las colonias en crecimiento, se efectuaron pruebas bioquímicas, según la tabla 1, para llegar a la identificación de especie de *Mycobacteria* causante de enfermedad Pulmonar tipo Tuberculosis.

Las especies identificadas fueron *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium kansasii*.

La frecuencia de *Mycobacterias* "atípicas" o no tuberculosas, fué de 4% (2 casos de *Mycobacterium kansasii*), produciendo cuadro clínico y radiológico similar al producido por *Mycobacterium tuberculosis*.

Los 2 casos de enfermedad Pulmonar producidos por *Mycobacterium kansasii*, se comportaron clínicamente como *resistentes* a quimioterapia de primera línea, y uno de ellos, a quimioterapia de segunda línea, utilizada en Tuberculosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Beeson, P. y W. McDermott. *Tratado de medicina interna de Cecil-Loeb*. 15a. ed. México, Interamericana, 1983. t.1 (pp.573-599)
2. Borda, D. *et al.* Ampliación de experiencias con nuestro método sencillo y económico de cultivo del bacilo tuberculoso, incorporación de enriquecedores que aceleran su crecimiento. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):58
3. Boyd, R. *et al.* *Medical microbiology*. 5th. ed. Boston, Little Brown, 1980. 753p. (391-408)
4. Corado B., César A. *Alternativas terapéuticas de la tuberculosis en Guatemala*. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1984. 52p.
5. Davis, B. *et al.* *Tratado de microbiología*. 2a. ed. Barcelona, Salvat, 1978. 1559p. (pp.868-891)
6. D'Esopo, N. *et al.* Aspects cliniques et radiologiques de l'infection pulmonaire nosocomiale a mycobacterium xenopi. *Bull Int Union Tuberc* 1979 sep-dic; 54(3):361
7. Di Leonardo, M. *et al.* Mycobacterias no tuberculosas en Buenos Aires, Argentina. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):55
8. Falkinham, J. *et al.* Epidemiology of infection by atypical mycobacteria. *Bull Int Union Tuberc* 1979 Sep-Dec; 54(3):357-359
9. Gangadharam, J. *et al.* Antimycobacterial activity of clofazimine (B663) against mycobacterium intracellulare. *Bull Int Union Tuberc* 1979 Sep-Dec; 54(3):367-368
10. Goodman, A. *et al.* *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 6a. ed. México, Panamericana, 1982. 1756p. (pp.1176-1189)
11. Guatemala. Dirección General de Servicios de Salud. *Cinco años de control de la tuberculosis en los Servicios Generales de Salud*. 1983. 63p.

44. *Manual de normas y procedimientos técnicos para el programa integrado de control de la tuberculosis en los Servicios Generales de Salud.* 1979. 67p.
13. Guyton, A. *Tratado de fisiología médica.* 5a. ed. México, Interamericana. 1159p. (pp. 758-759)
14. Hejny, J. L'Aspect bacteriologique du traitement des mycobacterioses par antibiotiques non especifiques et sulfamides. *Bull Int Union Tuberc* 1979 sep-dic; 54(3):360-361
15. Hintz A. et al. Comparación de tres métodos para determinar la susceptibilidad del mycobacterium avium a los agentes antituberculosos. *Bol. Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):54
16. Jawetz, E. et al. *Microbiología médica.* 10a. ed. México, Manual Moderno, 1983. 583p. (pp.221-228)
17. Jenkins, P. Cinco años de experiencia con un sistema simple para la identificación de las mycobacterias. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):56
18. Káppler, W. et al. Técnica simplificada de cultivo de mycobacterias. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):56
19. Krugman, S. *Infections diseases of children.* 7th. ed. St. Louis, Mosby, 1981. 607p. (pp. 427-477)
20. Laszlo, A. Aislamiento primario, identificación preliminar y sensibilidad a los medicamentos del complejo m. tuberculosis por un método radiométrico rápido. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):54
21. Lennette, E. *Manual of clinical microbiology.* 3rd. ed. Washington, American Society for Microbiology, 1980. 970p. (pp.150-179)
22. Organización Mundial de la Salud. Comparación del medio de lowenstein jensen con medios más simples para el cultivo del mycobacterium tuberculosis y más adecuados a los países en vías de desarrollo. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):55

23. Robbins, S. *Patología estructural y funcional.* México, Interamericana, 1975. 1516p. (pp.400-408)
24. Sanderson, D. et al. Interés del cultivo sistemático de las secreciones bronquiales obtenidas de las broncoscopías diagnósticas de rutina. *Bol Unión Int Tuberc* 1982 mar; 57(1):57
25. Sathianathan, S. et al. A simple diagnostic culture method for use in a tuberculosis control programme. *Bull WHO* 1981: 59:919-921
26. Shepard, Ch. Other mycobacterial infections. In: *Harrison's principles of internal medicine.* 10th. ed. Boston, McGraw-Hill, 1983. t.1. (pp.1032-1034)
27. Simonsson, B. et al. Possible host factors in pulmonary anonymous mycobacteriosis. *Bull Int Union Tuberc* 1979 Sep-Dec; 54(3):363
28. Sodeman, W. *Fisiopatología clínica.* 5a. ed. México, Interamericana, 1978. 951p. (390-392)
29. Sonnenwirth, A. et al. *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico.* 8a. ed. Buenos Aires, Panamericana, 1983. t.2 (pp. 1558-1591)
30. Stead, W. et al. Mycobacterial diseases tuberculosis. In: *Harrison's principles of internal medicine.* 10th. ed. Boston, McGraw-Hill, 1983. t.1 (pp.1019-1030)
31. Varkey, B. et al. Epidemiology of infection by atypical mycobacteria. *Bull Int Union Tuberc* 1979 Sep-Dec; 54(3):357-359

Esquivel

Universidad de San Carlos de Guatemala
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
UNIDAD DE DOCUMENTACION

Sanatorio Antituberculoso "San Vicente".
Finca "La Verbena", Zona 7. Guatemala

BOLETA DE INVESTIGACION

"MYCOBACTERIAS ATIPICAS EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR".

Nombre del paciente: _____ Sexo _____ Edad _____

Fecha de obtención de la muestra de esputo: _____

Fecha de procesamiento de la muestra de esputo: _____

Medios de cultivo para Mycobacterias, en los cuales se efectuó la siembra
del esputo, ya procesado: _____

Indice de crecimiento de la siembra: _____

Temperatura de producción de crecimiento de la siembra: _____

Cantidad de crecimiento de la siembra: _____

Producción de pigmento de la siembra: _____

Morfología de las colonias que han crecido en la siembra: _____

Pruebas bioquímicas utilizadas para la diferenciación: _____

Especie de Mycobacteria que se llegó a identificar: _____

OBSERVACIONES:

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

(CICS)

CONFORME:

Dr. Miguel Ángel López Mendoza
ASESOR.

Dr. Miguel Ángel López Mendoza
ASESOR

SATISFECHO:

Dr. César Agreda Godínez
REVISOR.

Dr. César Agreda Godínez
REVISOR

APROBADO:

DIRECTOR DEL CICS

IMPRESO

Dr. Mario René Moreno Cámara
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.
U.S.A.C.
GUATEMALA

Guatemala, 24 de septiembre de 1985

Los conceptos expresados en este trabajo
son responsabilidad únicamente del Autor.
(Reglamento de Tesis, Artículo 44).