

## 22 | Mycobacterias

G. Rodríguez

“Il bacili non é ancora tutta la tubercolosi”.  
G. Bacelli, 1882

El género *Mycobacterium* está integrado por bacilos largos de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de longitud o curvos en forma de maza, inmóviles, no esporulados, con abundantes gránulos citoplasmáticos, que poseen una resistencia mayor a la tinción por los colorantes comunes, pero una vez teñidos son resistentes a la decoloración con una mezcla de alcohol ácido. Desde el punto de vista de los requerimientos atmosféricos algunos son aerobios y otros microaerófilos. En cuanto a la velocidad de crecimiento algunas especies son de crecimiento rápido y otras lento. Se destaca en su estructura una gran riqueza en lípidos (20-60%). El contenido de bases de guanina más citosina en la molécula de ADN es de 62 a 70 moles %.

El género comprende 50 especies, entre ellas patógenos primarios, oportunistas y saprofitas.

La especie tipo es *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), la cual vamos a utilizar como modelo al referirnos a las principales características del género.

### Importancia

Las mycobacterias son agentes de enfermedades infecciosas que han acompañado al hombre a lo largo de su historia.

*Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium leprae* son los agentes etiológicos más frecuentes de las dos enfermedades más conocidas de este género. Poco tiempo después que Roberto Koch descubriera *M. tuberculosis* en 1882, fueron identificadas otras mycobacterias, constituyendo el grupo de las mycobacterias atípicas. El hallazgo de estas últimas estuvo vinculado por años a colonización transitoria o contaminación de la muestra clínica, pero es a partir de 1950 que se les ha asignado un rol en determinadas patologías; por ejemplo, actualmente *M. Avium Complex* y enfermedad pulmonar y diseminada en pacientes con SIDA.

Desde un punto de vista histórico evolutivo, existen evidencias de tuberculosis (TBC) espinal desde el neolítico, pero es a partir de la revolución industrial donde la enfermedad adquiere carácter endémico, debido a una mayor aglomeración de la población en las urbes, lo cual facilitó su diseminación.

Desde 1945, con el descubrimiento de las drogas antituberculosas, la utilización del examen radiológico de tórax y la implementación de programas estrictos de control de diagnóstico y

tratamiento, se logró una disminución de la incidencia de tuberculosis, lo que hizo pensar a principios de la década de 1980, en una posible erradicación de la enfermedad para el año 2010 (*Center for Disease Control*, Estados Unidos). Pero, a partir de 1985, comienza a emerger la TBC en tasas que no se veían desde hacía 20 años en los países desarrollados. Los factores postulados para explicar esta reemergencia de la enfermedad son varios:

- el compromiso del sistema inmune en los individuos infectados por el VIH, que permite tanto una reactivación de una antigua infección, como un aumento de la susceptibilidad a una nueva infección;
- cambios sociales: aumento del índice de pobreza, hacinamiento;
- falla en los sistemas de control de la salud pública;
- emergencia de bacilos tuberculosos multirresistentes a las drogas;
- escasa asignación de recursos para la investigación de nuevas drogas, nuevos métodos diagnósticos y vacunas.

### Clasificación y nomenclatura

En 1950, Timpe y Runyon propusieron una clasificación útil de *Mycobacterium* en cuatro grupos, que se basaba en la velocidad de crecimiento (rápido o lento, según sea superior o inferior a una semana), producción de pigmento en presencia o ausencia de luz (fotocromógeno, escotocromógeno y no cromógeno) y características coloniales. En la tabla 1 se presenta una clasificación modificada de la original de Runyon, que incluye los miembros del género *Mycobacterium* de importancia humana actualmente.

### *Mycobacterium tuberculosis*

En la práctica se acostumbra señalar como sinónimos a *M. tuberculosis* y bacilo tuberculoso, pero conviene recordar que, taxonómicamente, existen dos especies emparentadas genéticamente y, a la vez, aunque poco frecuente, agentes de tuberculosis, que son *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium africanum*.

#### MORFOLOGÍA, ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

La morfología característica suele ser bacilar, ligeramente curvada, siendo la observable en frotis provenientes de cultivo más regular que la que se observa en frotis de materiales patológicos. Como todas las células procariotas, las mycobacterias poseen un citoplasma, la membrana celular y un espacio periplásmico que lo separa de una gruesa y compleja pared celular.

A continuación se describirán las particularidades de estas estructuras en *M. tuberculosis*, las cuales son útiles para diferenciarlo de otras bacterias y comprender su interacción.

#### Naturaleza de la envoltura de *M. tuberculosis*

La envoltura bacteriana provee protección y soporte a las bacterias y también posee mecanismos que permiten el intercambio de sustancias entre la bacteria y el medio ambiente. Hay una marcada similitud tanto química como estructural entre las envolturas de la mayoría de las bacterias. *M. tuberculosis* y otras mycobacterias son biológicamente similares a las bacterias Gram positivas (aunque frente a la tinción de Gram las mycobacterias son débilmente Gram positivas o no se tiñen), pero tienen aspectos distintos. En especial, se debe destacar que aunque ambos poseen peptidoglicano, las moléculas unidas o asociadas a este polímero

son en las *Mycobacterias*, fundamentalmente de naturaleza lipídica en vez de proteínas y lipopolisacáridos, como en otras bacterias.

La envoltura consiste en dos partes principales: la membrana plasmática y, alrededor de ella, la pared celular. La primera le otorga a la célula protección osmótica y transporte de iones y moléculas, en tanto que la segunda le brinda soporte mecánico y protección.

Un importante tema de investigación ultraestructural relaciona cada componente con su función biológica, pero esto ha sido exitoso sólo con los componentes mayores, ya que las moléculas menores asociadas a la envoltura están todavía pobremente comprendidas.

### **Pared celular**

La pared celular está constituida por tres capas. Con tinciones convencionales su apariencia es:

- capa interna moderadamente electrón-densa, compuesta por el peptidoglicano cuya estructura es similar a la de otras bacterias;
- capa media, más ancha que la anterior y electrón-transparente, compuesta por polisacárido, el arabinogalactano, cuyos extremos distales están esterificados con ácidos grasos de alto peso molecular, los ácidos micólicos, de tamaño y estructura única para las mycobacterias (70-90 átomos de carbono).
- capa externa de grosor variable, electrón-opaca, de la cual no puede conocerse con las técnicas actuales, su exacta composición, aunque se le atribuye una estructura glucolípidica.

Además de los componentes anteriores existen proteínas asociadas a la pared, algunas con función enzimática (necesarias para la construcción y reconstrucción de los polímeros de la pared durante el proceso de división celular y crecimiento), otras, recientemente descubiertas, con función de porina. Estas últimas, encontradas en bajo número, lo que está de acuerdo con la baja permeabilidad de las mycobacterias a las moléculas hidrofílicas.

### **Membrana citoplásmica**

La membrana plasmática de las mycobacterias aparece en cortes ultrafinos como una membrana biológica trilaminar clásica, es decir, dos capas electrón-densas separadas por una capa transparente. Sin embargo, tiene como característica la presencia de moléculas de lipopolisacáridos, lipoarabinomananos (LAM), lipomananos y fosfatidil-inositol-manósidos.

### **Fisiología y metabolismo**

El metabolismo de las mycobacterias es muy variable, encontrándose las mycobacterias de crecimiento rápido, que crecen en menos de tres días en medios simples, así como mycobacterias que crecen lentamente y necesitan medios más ricos, hasta *M. leprae* que aún no ha podido ser cultivada en medios sin células.

Los medios de cultivo pueden ser sólidos o líquidos, dependiendo de su uso. Los medios sólidos pueden ser en base de agar o en base de huevos (Lowenstein-Jensen), siendo este último el más usado. En tres a cinco semanas se observa el desarrollo de colonias para las mycobacterias de crecimiento lento (por ej.: *M. tuberculosis*).

Desde el punto de vista de los requerimientos atmosféricos *M. tuberculosis* y la mayoría de las mycobacterias, son aerobios estrictos, excepto *M. bovis* que es microaerófilo. El crecimiento es favorecido con una atmósfera de 5-10% de CO<sub>2</sub>. La temperatura óptima de crecimiento es variable; *M. tuberculosis* lo hace a 37 °C con un rango entre 30 y 42 °C.

### Resistencia a los agentes físicos y químicos

Las mycobacterias son altamente resistentes a la desecación y permanecen viables en el esputo desecado de seis a ocho meses cuando están protegidas de la luz solar directa. Son, en general, más resistentes a los agentes desinfectantes que otras formas vegetativas, pero son destruidos por procedimientos de pasteurización.

### Factores de virulencia

#### Sobrevivida en fagocitos

Un aspecto característico de *M. tuberculosis* que contribuye a su virulencia es su habilidad para crecer dentro de monocitos y macrófagos. Aún no está aclarado exactamente como *M. tuberculosis* entra en el macrófago. Existen dos posibilidades no totalmente aclaradas:

- mediante el proceso habitual de fagocitosis mediado por la opsonización por C3b o C3b.
- la bacteria estimula su propia fagocitosis a través de invasinas.

Por otra parte, se sabe actualmente que un factor de virulencia que podría contribuir a la supervivencia de *M. tuberculosis* en los macrófagos, es su habilidad para prevenir la acidificación del fagosoma. Habitualmente la ingestión de una bacteria por fagocitosis es seguida de la acidificación del fagosoma, mediada por ATPasas de la membrana fagosomal, la que bombea protones hacia el interior de esta estructura, reduciendo el pH en él. Dicha acidificación no sólo inhibe el desarrollo bacteriano sino que, además, es un paso importante en la fusión lisosoma-fagosoma, y en la activación de los factores bactericidas liberados durante la fusión. *M. tuberculosis* presumiblemente, contrarresta la acidificación produciendo amoníaco y de esta manera mantiene las condiciones óptimas para el crecimiento dentro de las vesículas. Otro mecanismo recientemente estudiado contra la destrucción fagocítica es debido a los glucolípidos abundantes de la pared de mycobacterias, que protegería las bacterias de las formas tóxicas de O<sub>2</sub> producidas en el fagolisosoma.

#### Interferencia con la activación de los macrófagos

Aunque *M. tuberculosis* puede sobrevivir dentro de los macrófagos no activados, la bacteria es destruida por las mismas células activadas. El interferón gamma y, en general, las citoquinas (producidas por las células T, especialmente la CD4) son esenciales para la activación de los macrófagos. *M. tuberculosis* produce compuestos como el lipoarabinomano que suprime la activación de las células T.

Se ha encontrado una proteína secretada por *M. tuberculosis*, el antígeno 85A, que se une a la fibronectina, la cual puede estimular las células T al unirse a sus receptores. De modo que el antígeno 85A puede prevenir la activación de células T mediada por la fibronectina y, de ese modo, impedir la activación de macrófagos.

#### Destrucción tisular

Muchos patógenos bacterianos causan daño en los tejidos del huésped por desencadenar una respuesta inflamatoria local o sistémica. Esta hipótesis es una posible explicación del daño pulmonar causado por *M. tuberculosis* y hay gran interés en detectar qué antígenos son los responsables del desencadenamiento de esta respuesta destructiva del hospedero. Se sabe poco acerca de los antígenos más importantes responsables de esta respuesta, pero los implicados en la actualidad son:

- ácidos micólicos de la pared celular (factor cuerda). Son tóxicos cuando son inyectados a animales y pueden desencadenar una respuesta inflamatoria;

- muramil dipéptido, estimula el sistema inmune y dispara la producción de citoquinas;
- compuestos de la pared no identificados y productos tóxicos liberados por los lisosomas que estimulan la producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF). Sería una hipótesis que explicaría el daño pulmonar.

### Patogenia

Los núcleos goticulares conteniendo muy pocos bacilos, dispersos en el aire, provenientes de un sujeto enfermo con tuberculosis pulmonar abierta, son lo suficientemente pequeños para no quedar atrapados en el aparato mucociliar bronquial y así alcanzar el espacio terminal aéreo donde comienza la multiplicación. El foco inicial es casi siempre de localización subpleural generalmente ubicado en la zona media de los pulmones donde el mayor flujo aéreo favorece el establecimiento de los bacilos inhalados. Excepcionalmente se encuentra el foco inicial en otras áreas (por ej.: piel, intestino, orofaringe, genitales). En la mayoría de los casos el foco pulmonar inicial es único, aunque en un 25% de los casos pueden ser múltiples. En el pulmón las bacterias son ingeridas por los macrófagos alveolares, los cuales pueden tener un bajo grado de actividad antimycobacteriana como para eliminar pequeñas cantidades de bacilos. Sin embargo, la multiplicación bacteriana no puede ser impedida y, eventualmente, destruye los macrófagos. Desde el torrente sanguíneo son atraídos hacia el foco linfocitos y monocitos, diferenciándose los últimos en macrófagos que ingieren las bacterias liberadas de las células degeneradas, y lentamente se desarrolla una o más áreas de neumonitis.

Los macrófagos infectados son llevados por vía linfática a ganglios linfáticos regionales (hiliares, mediastinales y, a veces, supraclaviculares o retroperitoneales), pero en el huésped no inmune no son retenidos allí y se puede diseminar por vía hemática a diferentes tejidos, hecho condicionado por el tipo de flujo sanguíneo. Preferentemente se ubicarán en: ganglios linfáticos, riñones, epífisis de huesos largos, espacio subaracnoideo, pero el sitio más importante serán las áreas apicales pulmonares.

Antes del desarrollo de hipersensibilidad el desarrollo bacteriano no está inhibido, tanto en el foco inicial como en los metastásicos, dando lugar a sitios de probable evolución a enfermedad progresiva en los ápices pulmonares o en focos extrapulmonares, prontamente o después de largos períodos de latencia. Los bacilos tuberculosos que continúan multiplicándose lesionan los órganos donde están localizados, provocando licuefacción de los tejidos, donde crecen extracelularmente, llegando a ser millones. En estas condiciones es fácil que, dado el gran número de bacilos, aparezcan mutantes resistentes a los agentes antituberculosos.

La hipersensibilidad retardada aumenta el riesgo de licuefacción, provocándola los monocitos atraídos por las linfoquinas secretadas por los linfocitos sensibilizados, que al transformarse en macrófagos con sus enzimas proteasas, nucleasas y, quizás, lipasas, conducen a la licuefacción. La licuefacción produce extensa destrucción en los tejidos y proporciona vías para la diseminación de los bacilos de un órgano como el pulmón a otras localizaciones. El material de licuefacción, con gran cantidad de bacilos, puede, por drenaje o por golpes de tos, extenderse por vía bronquial a otras zonas del mismo pulmón o al contralateral.

Si la enfermedad no se desarrolla en el pulmón o en otro lugar en los dos años siguientes a la implantación inicial el riesgo de enfermedad posterior será escaso. Un 5% aproximadamente de los infectados desarrolla la enfermedad durante el primer año y otro 5% lo hará más tarde como resultado de reactivaciones de los bacilos persistentes dentro de viejos focos de infección. Estas reactivaciones tardías se producen habitualmente en las zonas altas del pulmón, pero puede ocurrir en cualquier parte del cuerpo.

## Clínica

### **Tuberculosis primaria. Primoinfección tuberculosa**

En cualquier área donde el bacilo se localice provocará una reacción inflamatoria que constituye el chancro de inoculación, habitualmente pulmonar y mucho menos frecuentemente digestivo, cutáneo o mucoso.

Alrededor del bacilo se agrupan una serie de células mononucleadas linfocitos y macrófagos con algunas células gigantes (células de Langhans). El centro de este folículo o granuloma suele necrosarse y luego se calcifica. En la mayoría de los casos se produce la destrucción de las mycobacterias y la única evidencia de infección es un test cutáneo de hipersensibilidad a la tuberculina positivo y otras veces los bacilos pueden persistir en forma latente. En una minoría de casos los antígenos en el complejo primario (foco pulmonar inicial más ganglio linfático regional) alcanzarían una concentración suficiente, que el desarrollo de hipersensibilidad resultaría en una necrosis y calcificación visible radiológicamente.

Junto con el desarrollo de hipersensibilidad pueden asociarse manifestaciones alérgicas como eritema nodoso o queratoconjuntivitis flictenular.

La mayoría de estos casos quedan en esta primoinfección que da lugar a la alergia tuberculínica y a la inmunidad tuberculosa, que provoca un estado defensivo en el organismo hacia nuevas infecciones o a la diseminación de la infección en curso. Esta inmunidad fallará bajo alguna circunstancia que produzca inmunodepresión, provocando una enfermedad tuberculosa meses o años después de la infección por el mismo bacilo: reinfección endógena o por reinfección exógena (adquisición de un nuevo bacilo del exterior).

### **Enfermedad tuberculosa**

Se manifiesta por un gran polimorfismo con variadas localizaciones, ya sean pulmonares o extrapulmonares (menos frecuentes). La tuberculosis pulmonar puede ser aguda, neumónica o bronconeumónica. Puede provocar una diseminación hematogena con afectación miliar o meníngea, así como también complicaciones bronquiales debido a adenopatías mediastinales que pueden ocasionar atelectasias por comprimir el árbol bronquial.

### **Epidemiología**

*M. tuberculosis* infecta a 1.7 billones de personas en el mundo (1/3 de la población mundial) y causa 3 millones de muertes por año. Los dos factores esenciales para su rápida diseminación son el hacinamiento, que favorece la transmisión aérea, y la población con baja resistencia natural.

La distribución etaria de la enfermedad refleja el grado de transmisión en una población dada. Es por esta razón que la enfermedad en la vejez es generalmente debida a reactivación de una infección adquirida en el pasado, mientras que en los niños pequeños indica transmisión activa en la comunidad. Además, actualmente la tuberculosis está siendo más frecuentemente diagnosticada en adultos jóvenes y la principal razón es la infección por VIH en estos pacientes. La incidencia de tuberculosis activa en esta población es mucho mayor que en la población general y debido a esta observación es que se incluye desde 1993 a la tuberculosis pulmonar o extrapulmonar en la definición de caso de SIDA. Según los criterios del CDC (Center for Disease Control, EE.UU.), todo paciente VIH positivo con menos de 200 células CD4 y un cuadro de tuberculosis diagnosticado equivale a un estadio SIDA.

### Cadena epidemiológica

Reservorio: hombre, representado por el enfermo bacilífero, o animal, 1-3% de todas las tuberculosis, se reconoce sobre todo transmisión por bovinos (leche no pasteurizada).

#### MECANISMO DE TRANSMISIÓN

- vía respiratoria: sin lugar a dudas la más frecuente, llevándose a cabo por gotitas de pflugge o núcleos goticulares de Wells;
- vía digestiva: generalmente a través de la leche contaminada;
- vía cutaneomucosa: excepcional.

### Población sana susceptible

Cualquier persona sana puede ser susceptible de enfermar de tuberculosis dependiendo de su estado inmunitario, de factores socioeconómicos y de factores individuales como edad (extremos de la vida), sexo y receptividad genética.

### Riesgo de infección

El determinante de riesgo más importante es el contacto directo con el paciente y la infecciosidad de este. Los casos con microscopía positiva son altamente infecciosos, en tanto aquellos con cultivo positivo solamente, son mucho menos infecciosos.

El grado de positividad del esputo y los patrones de tos son también importantes. Antes de la aparición del SIDA se establecía que la presencia de cavidad era necesaria para la contagiosidad, sin embargo, los pacientes con SIDA y tuberculosis pulmonar pueden ser altamente contagiosos en ausencia de cavitación (radiografía de tórax normal).

### Influencia de la antibioticoterapia en la transmisión de la infección

Los pacientes que están recibiendo quimioterapia rápidamente se tornan no infecciosos, en tanto su tos y la concentración de microorganismos disminuyen. Se acepta que esto ocurre después de dos semanas de iniciado el tratamiento. Por lo tanto, este es el método más efectivo para el control de la tuberculosis.

### Tuberculosis y SIDA

Los pacientes VIH positivos, como ya se ha citado, tienen un mayor riesgo de padecer tuberculosis, siendo susceptibles a la reactivación de una infección antigua, como así también a una rápida propagación de una infección recientemente adquirida.

La población más frecuentemente afectada la constituyen los adictos a drogas, población sin vivienda y con escasos recursos económicos, siendo estos mismos factores los que dificultan el cumplimiento de los tratamientos, favoreciendo el surgimiento de cepas multirresistentes.

Desde el punto de vista clínico la presentación depende del grado de inmunodepresión.

### Aspectos inmunológicos

La tuberculosis es el prototipo de infección de la cual la respuesta inmune de tipo celular es esencial para su control.

Si bien se ha comprobado una producción abundante de anticuerpos durante la infección, no se ha demostrado su papel en la defensa del huésped. Éste casi no tiene una respuesta inmunológica en las primeras semanas, en las que los bacilos se multiplican libremente en el espacio alveolar, adentro de los macrófagos. El efecto bacteriostático de estos macrófagos alveolares sobre los bacilos parece ser variable y muy débil. La multiplicación irrestringida de

mycobacterias prosigue por semanas en el foco inicial y en los metastásicos (linfohematógenos), hasta el desarrollo de la inmunidad celular e hipersensibilidad.

La hipersensibilidad es muy florida en comparación a otras infecciones intracelulares debido a la potente actividad adyuvante de los lípidos de la pared mycobacteriana. Cuando la población de linfocitos activados alcanza un cierto número, la hipersensibilidad retardada se torna manifiesta (3-9 semanas). Simultáneamente aparece la inmunidad celular. Es motivo de controversia si la inmunidad celular, que connota resistencia a la infección, y la hipersensibilidad retardada, que describe una reactividad celular alterada (formación de granuloma, necrosis tisular), son punto final de una misma secuencia de eventos inmunológicos y químicos, o son fenómenos paralelos y estrechamente asociados, que dependen de diferentes antígenos y poblaciones linfocitarias, o ambos.

Sin embargo, en un sentido clínico ellos parecen ser inseparables. Los aspectos patológicos de la tuberculosis son el resultado del grado de hipersensibilidad y la concentración local de antígenos. Cuando la concentración de antígenos es baja y la hipersensibilidad alta, los elementos celulares y capilares forman un granuloma que puede ser proliferativo, exudativo o caseoso. Cuando la situación es a la inversa, la reacción tisular puede ser poco específica, con escasos polimorfonucleares y células mononucleares, condición llamada tuberculosis no reactiva.

El espectro inmunológico, desde la hipersensibilidad florida hasta la baja o no específica, es similar al visto en pacientes VIH positivos en el transcurso de la disminución del conteo de CD4.

### Tratamiento de la tuberculosis

Antes que existieran drogas efectivas, la mitad de los pacientes con tuberculosis pulmonar morían en 2 años, y sólo 25% se curaban. Con el advenimiento de la quimioterapia los tratamientos con largos períodos de reposo en cama, aislamiento prolongado y colapsoterapia, se tornaron innecesarios.

*M. tuberculosis* es inhibido *in vitro*, a concentraciones alcanzables en suero humano en dosis terapéuticas, por una serie de antimicrobianos que son conocidos como agentes antituberculosos y han sido clasificados tradicionalmente en los siguientes grupos:

- Antituberculosos mayores: isoniácida, rifampicina.
- Antituberculosos secundarios: pirazinamida, estreptomina, etambutol.
- Antituberculosos menores: PAS.

Los mecanismos de acción de los agentes antituberculosos no están aún totalmente aclarados. Isoniácida probablemente actúa inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos y etambutol interferiría con el metabolismo glucídico.

### Resistencia de *M. tuberculosis* a los agentes antimicrobianos

La aparición de resistencia constituye el principal problema del tratamiento. Podemos clasificar las cepas en sensibles y cepas resistentes, que se desarrollarían en presencia de antimicrobianos por selección de mutantes resistentes, y que aparecen en forma espontánea con diferente frecuencia para los fármacos antituberculosos, como se esquematiza en el siguiente cuadro.

Es de importancia reseñar los conceptos de: resistencia primaria, aquella que muestran las cepas de enfermos que nunca recibieron tratamiento; resistencia secundaria, la que es consecutiva generalmente a un tratamiento incorrecto.

El único mecanismo demostrado hasta el presente capaz de originar resistencia en *M. tuberculosis* es el resultado de mutación espontánea a nivel cromosómico.

En el siguiente cuadro se resumen los principales factores que favorecen la aparición de mutantes resistentes en *M. tuberculosis*.

Del análisis de estos factores surge la necesidad de una terapéutica combinada, ya que esta permite la destrucción de bacilos resistentes a una droga a través de las otras. El problema emergente actualmente en algunas poblaciones es la multirresistencia y, aunque en bajo porcentaje, ya está descrito en nuestro país como en otras partes del mundo, siendo la población más afectada la de los pacientes VIH positivos.

El tratamiento debe ser prolongado debido a que *M. tuberculosis* es una bacteria de crecimiento lento.

Existen diferentes esquemas a nivel mundial (oscilan entre 4-12 meses) dependiendo de la edad del paciente, la localización de la enfermedad y el estado inmunitario.

En nuestro país estas pautas están regidas por la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa, que las entrega a los médicos periódicamente en su sede.

### Profilaxis

#### Inmunoprofilaxis

BCG es una vacuna con microorganismos vivos atenuados en forma irreversible, derivada de una cepa de *M. bovis* (bacilo de Calmette y Guérin, en honor a sus creadores). Esta cepa entra en los macrófagos y se replica brevemente antes de ser destruida, y debería desencadenar el mismo tipo de respuesta inmune que *M. tuberculosis*, asumiendo que los antígenos más importantes están expresados. Ya han sido administrados billones de dosis a nivel mundial teniendo escasos efectos colaterales (chancro de inoculación, adenopatía localizada), que la hacen una de las vacunas más seguras conocidas. Una contraindicación es el paciente inmunodeprimido (SIDA).

La vacunación en niños produce una disminución del 60-80% de la incidencia de tuberculosis en una población dada. Su uso es recomendable en áreas de alta prevalencia de infección tuberculosa.

En tanto que la BCG no previene la infección, generalmente previene contra la progresión a enfermedad clínica y su efectividad en prevenir la enfermedad generalizada en niños es sorprendente (7-8 veces menos que en población no vacunada).

El efecto de la vacunación con BCG en la hipersensibilidad a la tuberculina depende de la edad de vacunación y el intervalo al realizar el test cutáneo, disminuyendo el porcentaje de test positivo cuando menor haya sido la edad en que se administró la última dosis. En un estudio hecho en la ciudad de Montreal, se encontró 7.9% de test positivo a la edad de 25 años cuando la vacuna se administró antes del año, en tanto el porcentaje ascendió al 25.9% cuando la administración fue luego de los 5 años de edad.

Existen intensas investigaciones para desarrollar vacunas más efectivas que BCG para proteger contra tuberculosis, aunque, por otra parte, debido al bajo costo de BCG, la seguridad de la misma y que estimula una respuesta mediada por células, así como humoral, se estudia la posibilidad de usar a BCG como vehículo para una vacuna multivalente. Esto sería posible al saber que es factible introducir en *M. bovis* BCG, DBA clonado que codifica antígenos protectores contra una variedad de bacterias y virus.

### Mycobacterias atípicas

Todas las mycobacterias no comprendidas dentro del complejo tuberculoso ni *M. leprae* han

recibido muy distintos nombres. Desde 1969 se las engloba bajo el término de mycobacterias atípicas.

#### CARACTERES MICROBIOLÓGICOS

Son similares a los estudiados para *M. tuberculosis*, diferenciándose algunos en cuanto a la producción de pigmento frente a la luz, velocidad de crecimiento y diferentes resultados frente a las pruebas bioquímicas de identificación.

#### ROL COMO PATÓGENO

Para que una mycobacteria atípica sea considerada como agente etiológico de una infección por mycobacterias, esta debe ser hallada, identificada y debe descartarse la presencia de mycobacterias del complejo tuberculoso y *M. leprae*. De lo contrario, serán estos últimos los responsables del proceso, siendo las mycobacterias atípicas simples acompañantes.

#### LOCALIZACIÓN ANATOMOCLÍNICA

En el cuadro siguiente se esquematiza la relación entre la localización, agente etiológico y cuadro clínico.

| Localización    | Agente etiológico  | Cuadro clínico                                      |
|-----------------|--|---|
| Bronco pulmonar | <i>M. kansasii</i><br><i>M. xenopi</i><br><i>M. szulgai</i><br><i>M. avium complex</i> | Igual a tuberculosis                                |
| Ganglionar      | <i>M. scrofulaceum</i><br><i>M. avium complex</i>                                      | Adenitis supura profunda y linfáticos generalizados |
| Cutánea         | <i>M. ulcerans</i><br><i>M. marinum</i>  | Úlceras tropicales. Pequeñas lesiones tórpidas      |
| Osteoarticular  | <i>M. avium complex</i><br><i>M. scrofulaceum</i>                                      | Huesos largos planos                                |
| Generalizada    | <i>M. avium complex</i><br><i>M. kansasii</i>  | Sepsis  |

#### MYCOBACTERIAS ATÍPICAS EN EL PACIENTE CON SIDA

En el paciente con SIDA las mycobacterias atípicas constituyen una causa de infección frecuente. No suelen encontrarse ni cavernas ni granulomas como en tuberculosis y se presentan habitualmente como formas diseminadas. *Mycobacterium avium complex* es responsable del 80% de las infecciones generalizadas en estos pacientes.

#### Epidemiología

Si bien en la tuberculosis la cadena epidemiológica (reservorio, transmisión, huésped susceptible) está determinada, en las mycobacteriosis esto no sucede así, ya que los reservorios son diferentes y variados.

Reservorio - el hombre enfermo es un reservorio de estas mycobacterias, pero en general desempeña un papel poco importante en la transmisión de la infección. El reservorio principal y la fuente de infección está en el medio ambiente contaminado (los alimentos, el suelo, el agua).

Mecanismo de transmisión - la transmisión puede hacerse vía área o cutánea. El contagio interhumano no es decisivo como en tuberculosis o lepra.

Huésped susceptible. Existen tres grupos de riesgo:

- pacientes con irritación o lesión previa a nivel pulmonar, para mycobacteriosis pulmonar;
- empleados de piscinas y acuarios para las afecciones cutáneas;
- pacientes inmunodeprimidos, especialmente con SIDA, que se han convertido en el grupo de riesgo más importante.

### Tratamiento

Por la importancia referida anteriormente en el paciente con SIDA, destacamos el tratamiento de *M. avium complex*. Se utiliza la terapia combinada igual que para *M. tuberculosis*, pero se destaca la multirresistencia a los antituberculosos de primera línea, por ello las pautas son muy variables. En las adenitis supuradas, nódulos pulmonares e infiltrados localizados, se plantea la resección quirúrgica.

## Mycobacterium leprae

La enfermedad de Hansen o lepra ha sido, más que ninguna, a lo largo de la historia una de las de mayor impacto psicosocial. Aislados, marcados, señalados, rehuidos por la sociedad, los pacientes han sentido su enfermedad como un verdadero estigma. Desde 1940 con el advenimiento de antibioticoterapia adecuada, un diagnóstico precoz y un equipo multidisciplinario en el tratamiento, han hecho que estos conceptos tiendan a desaparecer.

### CARACTERES MICROBIOLÓGICOS

*M. leprae* es un bacilo ácido alcohol resistente de 1-8 $\mu$ m de longitud y 0.3-0.5 $\mu$ m de ancho y no puede ser distinguido microscópicamente de otras mycobacterias. No desarrolla en los medios libres de células ni en cultivos celulares, pero sí se ha logrado su crecimiento en la almohadilla plantar del ratón y en el armadillo de nueve bandas encontrado en Estados Unidos. Crecen mejor a temperaturas menores a 38 °C. Su tiempo de duplicación es de 12 días en la almohadilla plantar del ratón.

*M. leprae* posee una gruesa cápsula externa por fuera de la pared celular, rica en glucolípido fenólico (PGL-1) el cual ha sido implicado en la supervivencia intracelular y en la limitación a la entrada de los antibióticos. El PGL-1 y el lipoarabinomanano de la pared celular han sido responsabilizados de la falta de respuesta de los linfocitos y macrófagos en la anergia de la forma lepromatosa. Estos dos componentes constituyen los factores de virulencia más importantes.

### Patogenia

Los bacilos de lepra se diseminan a partir de los enfermos con lepra lepromatosa por vía nasal. Una descarga nasal contiene aproximadamente 100 millones de bacilos por ml, y pueden permanecer viables varios días en las secreciones desecadas. A partir de éstos se contaminaría la piel de los contactos íntimos, estimándose un período de incubación de 2-7 años. Se ha comprobado que lepra es bastante contagiosa, pudiendo producir muchas infecciones, si bien se sabe que la frecuencia de enfermedad en los contactos es muy baja. Más del 95% no serían susceptibles a la infección por *M. leprae*. Los que enferman lo harían por un defecto

de su inmunidad celular que hace que sus células macrofágicas ingieran los bacilos pero no los destruyan.

### **Clínica**

Se distinguen tres formas clínicas de lepra.

#### **Lepra lepromatosa**

En ella el paciente tiene nódulos cutáneos simétricos, placas y la dermis engrosada. Como el bacilo crece a temperaturas bajas, las áreas frías del cuerpo como nariz, lóbulo de la oreja, son áreas propensas. Puede ocurrir pérdida de las cejas, especialmente las porciones laterales. El aparato respiratorio, particularmente la mucosa nasal, está infiltrada por estos microorganismos, produciendo una congestión nasal crónica y epistaxis. En la era preantibiótica y, ocasionalmente en la actualidad, la progresión de este proceso puede llevar a la destrucción del tabique nasal, siendo responsable de las deformidades a este nivel. La neuropatía, cuando está presente en la forma lepromatosa, es simétrica y generalizada. La reacción de la lepromina es negativa.

#### **Lepra tuberculoide**

Es el otro polo de la enfermedad. Los pacientes con esta forma de lepra sólo tienen escasas manchas hipopigmentadas, anestésicas, con bordes elevados y eritematosos. Se encuentra afectación de troncos nerviosos periféricos, asimétrica. A diferencia de la forma lepromatosa, no existen síntomas y signos respiratorios. La reacción de la lepromina es positiva.

#### **Lepra borderline**

La mayoría de los pacientes tiene una forma intermedia, entre lepromatosa y tuberculoide, compartiendo formas clínicas de una y otra. La leprominoreacción es positiva.

### **Epidemiología**

La enfermedad predomina en Asia, Africa, América Latina y países del Pacífico. Hay 10 millones de casos en el mundo. El reservorio aceptado es el hombre y las fuentes de infección radican en la localización de la enfermedad en éste, sobre todo la forma lepromatosa no tratada.

El mecanismo de transmisión es a través de la piel, aparato respiratorio y aparato digestivo, siendo esta última localización de escaso interés. El contacto íntimo y prolongado haría que los sujetos predispuestos pasen de la infección al inicio de la enfermedad. Sufre lepra quien tiene un trastorno de su inmunidad celular que le impide destruir los bacilos.

### **Tratamiento**

El tratamiento de lepra, como el de otras mycobacterias, es largo, y, a menudo, esto ocasiona fallas en el cumplimiento del mismo. Dos problemas se originan:

- emergencia de cepas resistentes a las drogas, en particular, dapsona;
- persistencia de bacilos sensibles a los antibióticos que quedan en estado latente luego del tratamiento adecuado.

Las drogas que se utilizan en el tratamiento son: dapsona, antibiótico que actúa en la síntesis de folatos, rifampicina, clofazimine, etionamida, estreptomina.

Se encuentra en estudio la utilización de nuevos macrólidos y quinolonas.

### Inmunoterapia

Se encuentra en investigación debido a las dificultades del tratamiento con antimicrobianos. Es así que se ensaya con interferón gamma o interleucinas.

La frase del comienzo de G. Bacelli no es una simple frase. La tuberculosis no es sólo el bacilo, resta mucho por conocer del binomio huésped-parásito y este concepto se puede extender a todas las enfermedades ocasionadas por el género *Mycobacterium*. Los próximos años plantean el desafío.

## Métodos de estudio

### INTRODUCCIÓN

La tuberculosis, junto a la lepra y otras mycobacteriosis, han sido inseparables y terribles compañeras de la humanidad. La lepra, que necesita de un largo tratamiento, difícilmente efectivo, con pocos fármacos útiles y gran número de abandonos del tratamiento, no dispone de cultivos ni de vacunas adecuadas. La tuberculosis, que necesita también de un largo tratamiento, caracterizado por el incumplimiento y la creciente resistencia a las drogas, aumenta su incidencia en el mundo debido al SIDA. Igualmente las mycobacteriosis ocasionadas por mycobacterias atípicas, aumentan su incidencia por la inmunodepresión en pacientes con SIDA. En éstos, *Mycobacterium Avium Intracellulare* se ha convertido en un patógeno oportunista frecuente.

Por todo esto la microbiología clínica de la tuberculosis, la lepra y otras mycobacteriosis aparece como fundamental en el diagnóstico y control de curación de estas enfermedades.

Las características que hemos mencionado del género *Mycobacterium* y otras que señalaremos a continuación, determinan un conjunto de particularidades (en relación a recolección de las muestras clínicas, procesamiento, etc.) que enmarcan estos gérmenes en un capítulo distinto al de las demás bacterias en el laboratorio microbiológico.

Asomarse a estas particularidades constituye no sólo un hecho ineludible en la formación médica, sino también una posibilidad apasionante.

### DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS

#### Bioseguridad en la bacteriología de la tuberculosis

Existen estrictas normas de bioseguridad para el manejo de las muestras clínicas en el laboratorio. Como ya fue visto en los aspectos teóricos del tema, la vía de transmisión principal es la inhalatoria, por la aspiración de partículas aerosolizadas; éstas pueden provenir del paciente o ser diseminadas al manipular las muestras en el laboratorio (apertura de frascos, flameo del asa, etc.). Evitar el desprendimiento de estas partículas, trabajar en ambientes amplios y ventilados de circulación restringida, y recordar las normas de no fumar, beber, comer, o aplicarse cosméticos en el laboratorio, son algunos de los puntos a tener en cuenta.

El estudiante que se dedicará fundamentalmente a la observación de frotis y cultivos ya procesados y no al manejo de muestras clínicas, deberá cumplir con las habituales normas de bioseguridad y buenas prácticas en el laboratorio.

#### Obtención de la muestra

Las muestras pueden provenir de zonas naturalmente estériles, zonas naturalmente contaminadas o de zonas estériles pero en las que al efectuar la toma, se pasa por un área contaminada. El siguiente cuadro esquematiza los ejemplos más frecuentes.

| Muestras contaminadas | Muestras no contaminadas |
|-----------------------|--------------------------|
| Expectoración         | Líquido cefalorraquídeo  |
| Orina                 | Líquido pleural          |
| Jugo gástrico         | Líquido articular        |
| Exudados              | Biopsias                 |

La expectoración es la muestra de más frecuente manejo, ya que como dijimos, la pulmonar es la presentación más habitual. La expectoración debe ser representativa de las secreciones del tracto respiratorio inferior; para ello se debe recoger a primera hora de la mañana, previa higiene bucal, y con el esfuerzo de la tos, en frasco estéril. La toma debe repetirse tres veces en días consecutivos, ya que la eliminación de bacilos no es constante. Mujeres y niños pueden tener dificultades por no poder, o no saber, expectorar, pudiendo entonces hacer nebulizaciones con NaCl hipertónico. En pacientes hospitalizados graves puede recurrirse a FBA o lavado gástrico.

### Transporte y conservación

La rapidez es una condición fundamental en el transporte pues los bacilos se debilitan con el tiempo y prolifera, en caso de ser una muestra contaminada, la flora acompañante, por ej.: proliferación de la flora del tracto respiratorio superior en la expectoración. La conservación puede hacerse a 4 °C hasta 7 días.

### Procesamiento

El trabajo con las muestras clínicas en el laboratorio se realiza en cabina de seguridad, con las debidas protecciones para el personal (túnicas, tapabocas, etc.).

### Metodos directos

#### Microscopía - baciloscopía

El examen microscópico directo o baciloscopía es la técnica fundamental para la investigación bacteriológica de la tuberculosis pulmonar, tanto para el diagnóstico como para el control de tratamiento, resultando también útil para muestras provenientes de otros orígenes.

#### TÉCNICA DE ZIEHL-NEELSEN

Se trata de una coloración diferencial basada en la capacidad de las mycobacterias de incorporar colorantes y luego retenerlos ante la acción de una mezcla de alcohol y ácido, lo que es conocido como ácido-alcohol resistencia. Las particulares características de la pared de las mycobacterias parece ser responsable de esta propiedad, pudiendo formar complejos ácido estables, cuando se exponen a colorantes aniónicos, con los lípidos de la pared, especialmente los ácidos micólicos, o también constituyendo complejos fucsina-ARN.

Con un frotis seco y fijado se recorren los siguientes pasos:

|                         |   |                            |
|-------------------------|---|----------------------------|
| Coloración              | Fucsina + calor<br>(calor hasta emisión de vapor;<br>no ebullición) | Aproximadamente 5 min.     |
| Decoloración            | Alcohol-Acido   | Aproximadamente 3 a 5 min. |
| Coloración de contraste | Azul de metileno  | Aproximadamente 1 min.     |

Se debe lavar con agua corriente a baja presión entre paso y paso. Después se seca y se

observa con lente de inmersión. Las mycobacterias se ven rosadas sobre un fondo de leucocitos, fibrina y escasa flora asociada, coloreados de azul.

La observación debe recorrer unos 200 campos microscópicos y se informa según el siguiente criterio semicuantitativo:

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| <b>Baciloscopía negativa -</b>   | No se observan bacilos ácido-alcohol resistentes en 200 campos microscópicos observados. |
| <b>Baciloscopía positiva +</b>   | Se observan menos de un bacilo por campo en 200 campos observados.                       |
| <b>Baciloscopía positiva ++</b>  | Se observan 1 a 10 bacilos por campo en 100 campos observados.                           |
| <b>Baciloscopía positiva +++</b> | Se observan más de 10 bacilos por campo en 50 campos observados.                         |

La baciloscopía por la técnica de Ziehl-Neelsen es una técnica sencilla de bajo costo, cuya utilidad ya hemos destacado. Aplicado a la expectoración se estima que se necesitan 10.000 para que la probabilidad sea del 95-100%. En nuestro país el hallazgo de bacilos ácido-alcohol resistentes en la baciloscopía de muestras provenientes de áreas estériles es diagnóstica y específica de *M. tuberculosis* en un alto porcentaje. Lo mismo ocurre con las muestras de lavado gástrico.

#### **TÉCNICA DE FLUORESCENCIA AURAMINA RODAMINA**

Basada igual que el Ziehl-Neelsen en la ácido-alcohol resistencia de la mycobacterias, aquí se colorean con un fluorocromo y no se decoloran con la mezcla de alcohol-ácido. La técnica no necesita del agregado de calor y permite una visualización más rápida ya que los bacilos se ven luminosos sobre un fondo oscuro. La observación se hace con objetivo en seco y se requiere un microscopio de fluorescencia, lo que hace esta técnica más cara con respecto al Ziehl-Neelsen. Se utiliza en laboratorios que manejan un número importante de muestras por día.

Respecto al valor de la microscopía y a las técnicas de coloración mencionadas, nos parece oportuno señalar:

- Si se tiene una baciloscopía positiva y una clínica sugestiva, casi siempre se tratará, en nuestro país, de una tuberculosis, pero es necesario tener presente que puede tratarse de otras especies del género *Mycobacterium*.
- La microscopía no sustituye el cultivo.
- Referente a las técnicas de coloración, recordar la importancia de las mismas, y que la técnica de Gram, muy difundida en el diagnóstico de otras bacterias, no es útil para las mycobacterias.

#### **Cultivo**

El cultivo es complemento de la microscopía; permite diagnosticar como positivos casos negativos en el examen microscópico. Las muestras contaminadas se someten a una descontaminación que destruye la flora asociada y mantiene viables a las mycobacterias. Después se siembra en los medios adecuados. Las muestras no contaminadas se siembran directamente (previa centrifugación para concentrar).

La incubación se realiza a 35-37 °C en aerobiosis. Se observan los medios periódicamente y, al cabo de 3-5 semanas, crecen colonias rugosas, secas, amarillentas. Deben esperarse hasta ocho semanas para informar un cultivo como negativo.

El medio empleado es el de Lowenstein-Jensen, compuesto por hierro, aminoácidos,

sales, glicerina, fécula de papa, huevo, y verde de malaquita (este último inhibe la flora asociada).

La inoculación en animales se ha dejado de usar por ser poco práctica y no definitiva en algunas situaciones.

#### **Identificación de los aislamientos**

En nuestro país los laboratorios clínicos públicos y privados realizan el examen microscópico de la muestra y sólo algunos realizan los cultivos. La identificación definitiva y las pruebas de sensibilidad se realizan en la Comisión Honoraria de Lucha Antituberculosa, (CHLA, 18 de Julio 2175 esquina Beisso) donde está el laboratorio de referencia con el personal y el equipo adecuado. La CHLA cubre el país por medio de una extensa red de puestos que recuperan y envían las cepas aisladas al laboratorio central, además de realizar diagnóstico precoz, control de los casos, prueba tuberculínica, pautas de tratamiento y administración de vacunas.

*M. tuberculosis* puede ser diferenciado de otras mycobacterias por pruebas simples y observación de características micro y macroscópicas, así como el estudio de sus requerimientos. *M. tuberculosis* crece lentamente, es no cromógeno, productor de niacina, reduce nitratos, produce una catalasa sensible al calor, es generalmente sensible a la isoniacida, etc.

#### **Estudio de sensibilidad**

La sensibilidad de las mycobacterias se estudia como para otros gérmenes, poniendo en contacto el bacilo con el antibiótico a probar; pero existen algunas diferencias con el antibiograma utilizado de rutina en los laboratorios, por ejemplo, no se utiliza el medio de Mueller Hinton, ni el método de difusión en agar (Kirby-Bauer). En su lugar se emplea Lowenstein-Jensen y distintas técnicas para el antibiograma. Mencionaremos solamente una, la cual consiste en inocular un medio control y simultáneamente medios que contienen en solución el antibiótico a probar en diferentes concentraciones. El inóculo bacteriano debe ser de concentración conocida. La resistencia o sensibilidad se determina por comparación entre el control y los otros medios.

#### **Nuevos métodos para aislamiento, identificación y sensibilidad**

##### **Métodos radiométricos**

Son útiles para el aislamiento y estudio de sensibilidad. El medio de cultivo es suplementado con un substrato marcado con  $^{14}\text{C}$ . El substrato es utilizado, y durante el metabolismo se libera  $^{14}\text{CO}_2$ , el que es medido, detectándose así en forma indirecta el desarrollo bacteriano.

El sistema comercial Bactec que utiliza este método realiza el aislamiento y la determinación de la sensibilidad en aproximadamente 18 días. El método convencional requiere cerca de 40 días.

##### **DETECCIÓN DE COMPONENTES CELULARES**

Se trata de identificar por diferentes técnicas algunos componentes de la bacteria.

##### **Métodos genéticos**

*DNA fingerprinting*, basado en la fragmentación del ADN por una endonucleasa de restricción específica; el ADN después se separa electroforéticamente y se trata con una sonda que hibridiza con una secuencia repetitiva del ADN (IS 6110). Los aislamientos que muestren esta secuencia pueden ser identificados como *M. tuberculosis*. Esta técnica parte de cultivo puro.

**REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

A diferencia de otras pruebas, PCR no necesita partir de cultivo puro pudiendo hacerlo directamente de la muestra clínica. En esta técnica se amplía una secuencia del genoma de *M. tuberculosis* para después ser reconocida. El resultado de la PCR puede estar listo en 48 hs. Una muestra conteniendo 10 bacilos puede ser positiva por PCR (para la baciloscopia se necesitan 10.000). La técnica puede ser útil para la detección rápida de resistencia, si se conocen los genes responsables de la misma.

Las deficiencias de la técnica están en los riesgos de contaminación cruzada y que no resulta de utilidad en el control de tratamiento, ya que no distingue entre bacilos vivos y muertos.

**Metodos indirectos**

Se han estudiado métodos inmunológicos para la detección de anticuerpos por técnicas inmunoenzimáticas, aglutinación, etc. Estos tienen dificultades para su desarrollo debido a la falta de antígenos purificados específicos.

**Prueba de la tuberculina**

Siendo la respuesta inmune esencialmente de tipo celular, las pruebas cutáneas se transforman en una ayuda importante. Se pueden realizar pruebas cutáneas frente a todas las mycobacterias, pero nos referiremos a la prueba tuberculínica.

Esta prueba estudia la hipersensibilidad frente a antígenos proteicos de *M. tuberculosis*. La tuberculina de Koch (OT: *old tuberculin*) era un extracto de caldo de bacilo tuberculoso. En 1934 Siebert creó un precipitado proteico que llamó derivado proteico purificado (PPD) y que se usa hasta hoy.

La reacción se prueba con la intradermoreacción de Mantoux. Se inyectan en la dermis de la cara anterior del antebrazo 0,1 ml de tuberculina de 5 UT. Después de 72 hs se mide el diámetro de la induración producida (no del eritema). La interpretación de los diámetros de las induraciones es la siguiente:

|        |          |
|--------|----------|
| 10 mm  | Positiva |
| 5-9 mm | Dudosa   |
| 0-4 mm | Negativa |

El PPD positivo (más de 10 mm) permite separar una población infectada de otra que no lo está, siendo un buen estudio de masas. De todos modos, debe considerarse el contexto del paciente, su sintomatología y signología, así como estudios radiográficos y datos epidemiológicos.

Concepto de viraje. Si se realizan dos pruebas tuberculínicas con un intervalo de dos meses en un año, y la primera es negativa y la segunda positiva con una diferencia de 6 mm o más, se habla de viraje e indica una infección actual. Puede o no acompañarse de hallazgos clínicos o radiológicos.

**CRITERIO DIAGNÓSTICO**

- Paciente con sospecha clínica y epidemiológica de tuberculosis.
- Paciente con tuberculosis extratorácica en la que hay dificultades para aislar el germen.

**CRITERIO EPIDEMIOLÓGICO**

- Contacto con enfermos de tuberculosis.
- Tuberculosis confirmada (para registro).

Si la reacción tuberculínica es positiva:

1. El paciente está infectado.
2. El paciente recibió BCG.  
Si la reacción tuberculínica es negativa:
  1. El paciente no está infectado.
  2. El paciente está en período prealérgico (período que va desde la infección hasta la aparición de la hipersensibilidad retardada). Si dos meses más tarde se repite la prueba se puede ver el viraje de la reacción.

Puede haber falsos negativos por aspectos técnicos o en tuberculosis avanzadas en las que el 50% no reacciona por tener elevadas concentraciones de antígenos en sus tejidos; se revierte al recuperarse el paciente.

Otros falsos negativos:

- fisiológicos-embarazo;
- infecciones-sarampión;
- desnutrición;
- neoplasias-linfomas;
- medicamentos-corticoides.

El 3-5% de la población es inmunocompetente y no reacciona nunca frente a las pruebas cutáneas.

Prueba tuberculínica en el paciente VIH positivo: en el paciente VIH positivo la reactividad disminuye a medida que los CD4 disminuyen. Un diámetro de induración de 5 mm es aceptado como positivo en un paciente VIH positivo para realizar inmunoprophilaxis (CDC, *Center for Disease Control*, Estados Unidos).

## Diagnostico de las mycobacteriosis

El diagnóstico de las mycobacteriosis en el huésped con defensas normales es similar al que acabamos de mostrar para la tuberculosis. Las mycobacteriosis en el paciente con SIDA u otros inmunocomprometidos, demanda una sistemática diagnóstica más exhaustiva por parte del laboratorio, al igual que en las mycobacteriosis diseminadas. La microscopía incluye el estudio de un mayor número de muestras: sangre, heces, ganglios, etc. En cuanto a los cultivos, se realizan los convencionales; el hemocultivo parece ser la mejor manera de aislar mycobacterias en casos diseminados. Los sistemas Bactec e Isolator (lisis-centrifugación) son medios comerciales disponibles para el procesamiento de los hemocultivos. Para la identificación, los métodos convencionales mantienen vigencia, pero los métodos genéticos parecen ser los más adecuados.

### DIAGNÓSTICO DE MYCOBACTERIUM LEPRAE

El diagnóstico bacteriológico de lepra ofrece la dificultad de que su agente etiológico no puede ser cultivado en medios sintéticos ni en cultivos celulares. La inoculación animal (armadillo y plantilla plantar del ratón) es muy restringida y tiene dificultades prácticas.

### Métodos directos

Estos se hallan limitados a la observación microscópica de frotis provenientes de las lesiones clínicamente sospechosas.

**Microscopía**

La técnica utilizada es la de Ziehl-Neelsen o la de fluorescencia. En tinciones de biopsias puede usarse el Ziehl u otras (Fite). Con los resultados de la microscopía se confecciona el llamado índice morfológico, que es el porcentaje de bacilos bien teñidos (vivos) en relación al total; con este se evidencia la actividad de la enfermedad.

**Métodos indirectos****Inmunidad humoral**

La búsqueda de los anticuerpos está supeditada al hallazgo de antígenos específicos para así diferenciar *M. leprae* de otras mycobacterias, y determinar los títulos de una población normal, una infectada y una enferma. Las técnicas están en fase de implementación (ELISA, Inmunofluorescencia, etc.).

**Inmunidad celular. Prueba de la lepromina**

La prueba cutánea de hipersensibilidad utiliza células muertas de *M. leprae* en inyección intradérmica (0,1 ml en la cara anterior del antebrazo). Produce una induración a los 3 ó 4 días (reacción de Fernández), y una induración papular a las 3 ó 4 semanas (reacción de Mitsuda).

El test de la lepromina es positivo en pacientes con lepra tuberculoide, en individuos no afectados en áreas endémicas y en ciertos pacientes lepromatosos tratados, pero es negativa en los pacientes lepromatosos no tratados, por lo que no tiene valor diagnóstico.

El clínico, el radiólogo, el anatomopatólogo, pueden sospechar la enfermedad; el microbiólogo puede aislar e identificar el agente etiológico. Pero esto no es todo, el diagnóstico bacteriológico continúa siendo lento, las técnicas que aceleran la obtención de resultados están en desarrollo o recién comienzan a comercializarse. La preocupante asociación tuberculosis y SIDA continúa avanzando. El equipo de salud debe estar atento y con conocimientos firmes para manejar la situación.

**Bibliografía**

- Bloom, B.R. Tuberculosis. Pathogenesis, protection and control. ASM Press, Washington, 1994.
- Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious Diseases. 2<sup>nd</sup>. Ed. Saunders, Pa., 1998
- Chin J, (ed): El control de las enfermedades transmisibles, Organización Panamericana de la Salud, (OPS, Publicación científica 581). Washington, 2001

