

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Evaluación de la prueba de la pirazinamidasas para la determinación de la susceptibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* a la pirazinamida

Dr. Ernesto Montoro Cardoso,<sup>1</sup> Dra. Magaly López Novo,<sup>2</sup> Téc. Miguel Echemendía Font<sup>3</sup> y Dr. José A. Valdivia Álvarez<sup>4</sup>

### RESUMEN

Se utilizó la prueba de la pirazinamidasas para la determinación de la susceptibilidad frente a la pirazinamida en 55 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacteria del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" durante el primer semestre de 1997. Al comparar los resultados obtenidos con el método de las proporciones se obtuvo una correlación del 83,6 % de sensibilidad, con 16,4 % de falsos positivos. Se demostró que la prueba de la pirazinamidasas no debe sustituir el método de las proporciones.

**Descriptor DeCS:** MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS/análisis; PIRACINAMIDA; SUSCEPTIBILIDAD A ENFERMEDADES.

La reemergencia de la tuberculosis (TB) se torna más complicada por la asociación con la infección VIH-sida y con la aparición de la multidrogorresistencia, lo que constituye el signo más relevante en las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* (M.t.) de reciente aparición.<sup>1,2</sup>

En 1993, la OMS declaró esta enfermedad como una emergencia sanitaria mundial. En la actualidad se estima que una tercera parte de la población mundial está infectada con M.t., la cifra anual de casos crecerá hasta 10 200 000 en el año 2000, se producirán 90 000 000 de casos nuevos durante esta década y 30 000 000 de muertes.<sup>3</sup>

Con la aparición en nuestra época de la multirresistencia a las drogas antibacilares, el empleo de las pruebas de sensibilidad a estos medicamentos ha recobrado actualidad y vigencia. En Cuba, desde hace varios años se realizan estudios de resistencia y desde 1982 el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tu-

berculosis y Micobacteria (LNR-TB) del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), comenzó un estudio longitudinal de vigilancia, con el objetivo de conocer la problemática del país en relación con el desarrollo y tendencia de la resistencia a las diferentes drogas contempladas en el actual Programa Nacional de Control de la TB.<sup>4,5</sup>

La determinación de la sensibilidad a la pirazinamida (Pza), droga de primera línea utilizada en los esquemas modernos de tratamiento de la TB, requiere por el método de las proporciones acidificar el medio Löwenstein-Jensen hasta un pH 5 para que la droga actúe; sin embargo, el crecimiento de M.t. se hace difícil y algunas cepas no logran desarrollarse. Por otra parte, si el pH es mayor que 5,5 la droga se inactiva y la prueba daría un resultado de resistencia falso.<sup>6,7</sup>

La prueba de la pirazinamidasas (método de Wayne,<sup>8</sup> es utilizada en los laboratorios de Micobacteriología para

<sup>1</sup> Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar.

<sup>2</sup> Especialista de I Grado en Microbiología.

<sup>3</sup> Técnico en Investigación y Servicio.

<sup>4</sup> Doctor en Ciencias. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Titular.

la identificación de micobacterias no tuberculosas), se ha descrito también para ser utilizada en reemplazo de la prueba de sensibilidad a la Pza por el método de las proporciones<sup>9</sup>, ésta pone de manifiesto la presencia del ácido pirazinoico por la formación de una sal ferrosa de color rosado, permite obtener respuesta en 4 d. Las cepas de M.t. que son sensibles a la Pza poseen la enzima pirazinamidasa (Pzasa) que metaboliza la Pza con formación del ácido pirazinoico. Las cepas que resulten Pza-resistentes han perdido la actividad de esta enzima.

En el presente trabajo se utilizó el método descrito anteriormente, para la determinación de la susceptibilidad frente a la Pza en 55 cepas de M.t. recibidas en el LNR-TB del IPK, durante el primer semestre de 1997 y comparar los resultados obtenidos con el método de las proporciones.

Las 55 cepas estudiadas resultaron sensibles a la Pza por el método de Pzasa, y 46 lo fueron por el método de las proporciones. Al comparar los resultados, se obtuvo una correlación del 83,6 % de sensibilidad, con 16,4 % de falsos positivos. Al aplicar la prueba no paramétrica de Mc Nemar,<sup>10</sup> se demostró que existe una diferencia estadística entre ambos métodos, con una  $p < 0,01$ ; lo cual demuestra que los resultados de ambas pruebas no son iguales, con 99 % de confiabilidad.

En un trabajo realizado por Miller y otros,<sup>11</sup> donde comparó el método Bactec-Pza se obtuvo una correlación de 98 % de sensibilidad entre ambos métodos y sólo 0,7 % de falsos positivos. En nuestro trabajo se obtuvo una correlación más baja y la presencia de falsos positivos fue mayor; no se realizó comparación con el método Bactec por no disponer en el laboratorio de este equipo ( sistema radiométrico automatizado que mide la radiactividad de un metabolito a partir de un sustrato marcado en el medio, los resultados de sensibilidad se obtienen en 7 a 12 d). No se encontró en la literatura estudios previos, con los métodos utilizados por nosotros.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se demostró que la prueba de la Pzasa, no debe sustituir el método de las proporciones a pesar de los inconvenientes que presenta este último, por lo que se recomienda continuar realizando estudios que permitan disponer en el futuro del método apropiado para la determinación de la susceptibilidad de cepas de M.t. frente a la Pza.

## SUMMARY

The pyrazinamidase test was used to determine susceptibility to pyrazinamide in 55 strains of *Mycobacterium tuberculosis* received at the National Laboratory of Reference and Research of Tuberculosis and Mycobacteria of the "Pedro Kourí" Institute of

Tropical Medicine during the first semester of 1997. On comparing the results obtained with the method of proportions, it was attained a correlation of 83.6 % of sensitivity with 16.4 % of false positives. It was proved that the pyrazinamidase test should not replace the method of proportions.

**Subject headings:** MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS/analysis; PYRAZINAMIDE; DISEASE SUSCEPTIBILITY.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dolin PJ, Raviglione MC, Kochi A. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. Bull World Health Organ 1994;72:213-20.
2. Wenger PN, Otten J, Breeden A, Orfas D, Beck-Sagué CM, Jarvis WR. Control on nosocomial transmission of multidrug-resistant M tuberculosis among health care workers and HIV-infected patients. Lancet 1995;345:235-9.
3. WHO. Tuberculosis control and research strategies for the 1990s. Memorandum from WHO meeting. Bull World Health Organ 1992;70(1):17-21.
4. Valdivia JA, Jiménez CA, Rodríguez R, Mederos LM, Echemendía MA. Estudio cooperativo de la resistencia a las drogas antibacilares en cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes tuberculosos. Informe preliminar. Rev Cubana Med Trop 1982;34:119-25.
5. Montoro E, Echemendía MA, Jiménez CA, Ferrá C, Valdivia JA. Estudio de la resistencia a 7 drogas antibacilares de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas en Cuba. Bol COLABAT 1992;8(2):7-12.
6. Canetti G, Rist N, Grosset J. Mesure de la sensibilité du bacille aux drogues antibacilaires pour la méthode des proportions, méthodologie, critere de resistance, results, interpretation. tuberc Pneumol 1963;27(2-3):217-72.
7. Kent PT, Kubica GP. Manual for public health mycobacteriology: a guide for the level III Laboratory U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta: Centers for Disease Control, 1985;107-9.
8. Wayne LG. Simple pyrazinamidase and urease tests for routine identification of mycobacteria. Am Rev Respir Dis 1974;109:147-51.
9. Blancarte L, Anzaldo G, Balandrano S. Manual de técnicas y procedimientos de laboratorio en tuberculosis. México, DF: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) de la Secretaría de Salud, 1981:112-35 (Publicación técnica del INDRE; # 20).
10. Fleis J. The analysis of data from matched samples statistical methods for rates and proportion. 2 ed. Washington DC: John Wiley, 1981:112-35.
11. Miller MA, Thibert L, Desjardins F, Siddiqui S, Dascal A. A comparison of Bactec Pyrazinamide (Pza) susceptibility test (B-Pza) to the Pyrazinamidase (Pza'se) test for susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) to PZA. En: Abstract Selection from: Las Vegas: American Society for Microbiology; 1994:139.

Recibido: 8 de abril de 1998. Aprobado: 14 de agosto de 1998.  
Dr. Ernesto Montoro Cardoso. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.  
E.mail: ciipk@infomed.sld.cu