

Aplicación del hemocultivo como medio diagnóstico en la micobacteriosis diseminada

Application of blood culture as a diagnostic tool in disseminated mycobacteriosis

Lilian María Mederos Cuervo^{a,*}(0000-0001-7431-2216)
Misleidis Sardiñas Aragón^a(0000-0002-9798-5031)
Grechen García León^a(0000-0002-9593-6711)
María Rosarys Martínez Romero^a(0000-0001-5947-732X)
Raúl Díaz Rodríguez^a(0000-0001-9107-124X)

^a Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK)

* mederos@ipk.sld.cu

Recibido: 29 de septiembre de 2021;

Aceptado: 25 de enero de 2022;

RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud define la tuberculosis extrapulmonar como aquella infección producida por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) que afecta tejidos y órganos fuera del parénquima pulmonar. Tras el desarrollo de la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), ha habido un significativo aumento de infecciones micobacterianas diseminadas. Los hemocultivos siguen siendo el estudio de elección para confirmar infecciones diseminadas pues permiten establecer la etiología infecciosa. En este estudio se realizó la caracterización etiológica de gérmenes obtenidos a partir de muestras de sangre pertenecientes al género *Mycobacterium*, en pacientes inmunocompetentes como inmunodeficientes, específicamente en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Se realizó un estudio descriptivo-prospectivo en el período de enero 2015 a diciembre 2020. Se analizaron 259 muestras de sangre procedentes de 128 pacientes sintomáticos, de estos 43(33,60%) eran procedentes de pacientes VIH- negativos y 85(66,40%) VIH+ positivos. Las muestras fueron analizadas empleando el método de "lisis por centrifugación". La identificación de MTB se realizó por el test rápido inmunocromatográfico SD TB AgMPT64, la identificación de otras especies se realizó por las técnicas fenotípicas-bioquímicas establecidas. Del total de muestras analizadas se obtuvo 20 (7,72 %) aislamientos, 8 (3,08%) MTB, y 12 (4,63%) aislamientos pertenecientes a micobacterias no tuberculosas (MNT), de éstos 16(80%) eran pacientes VIH/sida. La aparición del VIH propicio nuevas formas de enfermedad tuberculosa diseminada, conjuntamente a la presencia de otras especies micobacterianas en sangre, por lo que el hemocultivo se mantiene como una prueba útil para el diagnóstico de micobacteremias. Este estudio confirmó la importancia que tiene el diagnóstico clínico-microbiológico temprano en este tipo de infección, pues permitirá el comienzo del tratamiento específico especialmente en pacientes con algún tipo de deterioro en su sistema inmunológico, para evitar el riesgo de diseminación infecciosa.

Palabras claves: *Mycobacterium tuberculosis*, MNT, VIH, sida.

ABSTRACT

The World Health Organization defines extrapulmonary tuberculosis as an infection caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) that affects tissues and organs outside the lung parenchyma. Following the development of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) epidemic, there has been a significant increase in disseminated mycobacterial infections. Blood cultures continue to be the study of choice to confirm disseminated infections, as they allow the infectious etiology to be established. In this study, the etiological characterization of germs obtained from blood samples belonging to the genus *Mycobacterium* was carried out, emphasizing the importance of early diagnosis of this pathology in both immunocompetent and immunodeficient patients, specifically in patients infected by the human immunodeficiency virus (HIV). A descriptive-prospective study was carried out from January 2015 to December 2020. 259 blood samples from 128 symptomatic patients were analyzed, of these 43 (33.60%) were from HIV-negative patients and 85 (66.40%) HIV+ positive. The samples were analyzed using the lysis method by centrifugation. The identification of MTB was carried out by the SD TB AgMPT64 rapid immunochromatographic test, the identification of other species was carried out by established phenotypic-biochemical techniques. Of the total samples analyzed, 20 (7.72%) isolates were obtained, 8 (3.08%) MTB, and 12 (4.63%) isolates belonging to non-tuberculous mycobacteria (NTM), of these 16 (80%) They were HIV/AIDS patients. The appearance of HIV led to new forms of disseminated tuberculosis disease, together with the presence of other mycobacterial species in the blood, so blood culture remains a useful test for the diagnosis of mycobacteremia. This study confirmed the importance of early clinical-microbiological diagnosis in this type of infection, since it will allow the start of specific treatment, especially in patients with any deterioration in your immune system, to avoid the risk of infectious dissemination.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, NTM, HIV, AIDS.

INTRODUCCIÓN

La sepsis se define como la existencia de un proceso infeccioso que conlleva a disfunción orgánica. La bacteriemia abarca gran variedad de manifestaciones clínicas, éstas pueden ser desde episodios asintomáticos hasta una respuesta inflamatoria sistémica grave. (CLSI, 2007; Higgins, 2010; Angus et al., 2013)

Los hemocultivos permiten establecer la etiología infecciosa y siguen siendo aún el estudio de elección para confirmar una bacteriemia en pacientes con o sin foco evidente de infección, además permite no sólo identificar el agente causal de la infección, sino que en base a los resultados permite hacer modificaciones en el tratamiento y otorga un valor pronóstico. La posibilidad de poder recuperar el microorganismo está relacionada con diversos factores: patología de base, factores propios del paciente, metodología empleada (manual o automatizada) y el tipo de microorganismos (fastidiosos, aerobios, anaerobios). (Mathuram, 2018; Rodríguez, et al. 2017; Guzmán, et al. 2012)

La tuberculosis (TB) constituye una importante causa de morbilidad y mortalidad, con el advenimiento de la pandemia provocada por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) el problema de la TB ha empeorado significativamente. La incidencia de esta enfermedad en pacientes VIH positivos es superior que en la población general. El retraso en el diagnóstico tiene consecuencias adversas tanto para el paciente como para sus contactos. (Peralta-Gómez, et al. 2015)

En paralelo también hay que tener en cuenta un número cada vez mayor de especies no pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) clasificadas como micobacterias no tuberculosas (MNT), las cuales presentan formas clínicas muy similares a las provocadas por MTB, incluso también pueden producir tanto afección pulmonar como extrapulmonar. La literatura refiere que más del 70 % tanto de los casos de TB como de micobacteriosis pertenecen a pacientes con algún tipo de inmunodepresión. (Brown-Elliott, et al.; Carrillo-Quintero, et al. 2014; Mederos, et al., 2010; Rithu, et al., 2020)

El objetivo de este estudio fue demostrar que el hemocultivo se mantiene como una prueba diagnóstica complementaria útil para el diagnóstico de las infecciones micobacterianas diseminadas sobre todo en los grupos de pacientes vulnerables, como son los pacientes VIH/sida.

MATERIALES Y MÉTODOS:

El diseño de este estudio fue de tipo descriptivo-prospectivo. Las muestras fueron recibidas y analizadas en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de TB, Lepra y Micobacterias (LNRI-TB/Lepra/Micobacterias-IPK), Centro Colaborador OPS/OMS del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), el período de estudio fue el comprendido entre enero 2015 a diciembre 2020. Se analizaron 259 muestras de sangre procedentes de 128 pacientes sintomáticos (fiebre prolongada, pérdida de peso, tos y evidencia radiológica sugestiva de TB), de estos 43 (33,60%) VIH- negativos y 85 (66,40%) VIH+ positivos. El método utilizado fue el de lisis por centrifugación (anticoagulante y líquido inerte), los cultivos se realizaron en medio de cultivo sólido Löwenstein-Jensen, la temperatura de incubación fue de 37°C, las lecturas se realizaron semanalmente, al crecimiento detectado se le realizó tinción de Zielh-Neelsen para detectar la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR). La identificación de MTB se realizó por el test rápido comercial inmunocromatográfico SD TB AgMPT64. Las cepas que dieron negativas por dicho test fueron clasificadas como (MNT), y para su clasificación e identificación se utilizaron las técnicas fenotípicas-bioquímicas recomendadas en la literatura. (OPS, 2008; Barrera, 2008; Tejashree, et al., 2011; SEIMC 2003, Mederos, 2011)

Se debe señalar que tanto el proyecto de esta investigación como los datos analizados en este trabajo fueron establecidos según las normas éticas de nuestra institución.

RESULTADOS

Del total de 259 muestras de sangre analizadas procedentes de 128 pacientes sintomáticos, se obtuvieron 22 (8,49 %) aislamientos, de éstos 16(12.5 %) procedentes de pacientes VIH/sida.

Al analizar el total de hemocultivos recibidos por año, se observa que el año 2016 fue en el que se recibió un mayor número de muestras, resultados reflejados en el **Figura 1**.

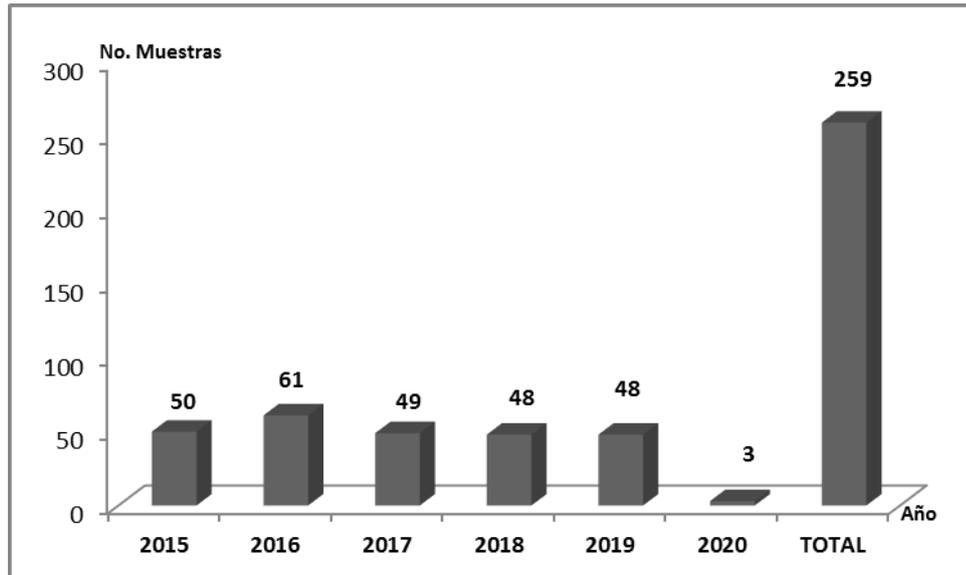


Fig. 1. Cantidad de muestras recibidas en el LNRI-TB/Lepra/Micobacterias-IPK por año.

Al observar el total de muestras estudiadas según tipo de paciente, más del 50% pertenecían a pacientes VIH/sida atendidos en el Hospital Nacional de Referencia en Atención a pacientes VIH/sida del IPK, resultados reflejados en la **Figura 2**.

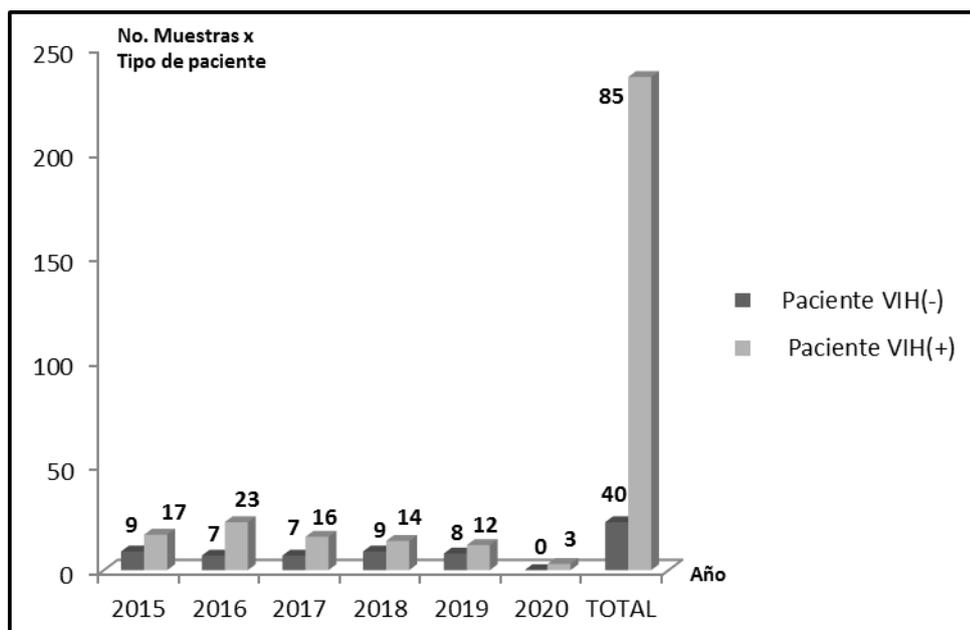


Fig. 2. Total de muestras analizadas en el LNRI-TB/Lepra/Micobacterias-IPK por tipo de paciente.

El total de aislamientos obtenidos según la especie micobacteriana aislada se expone en la **Figura 3**.

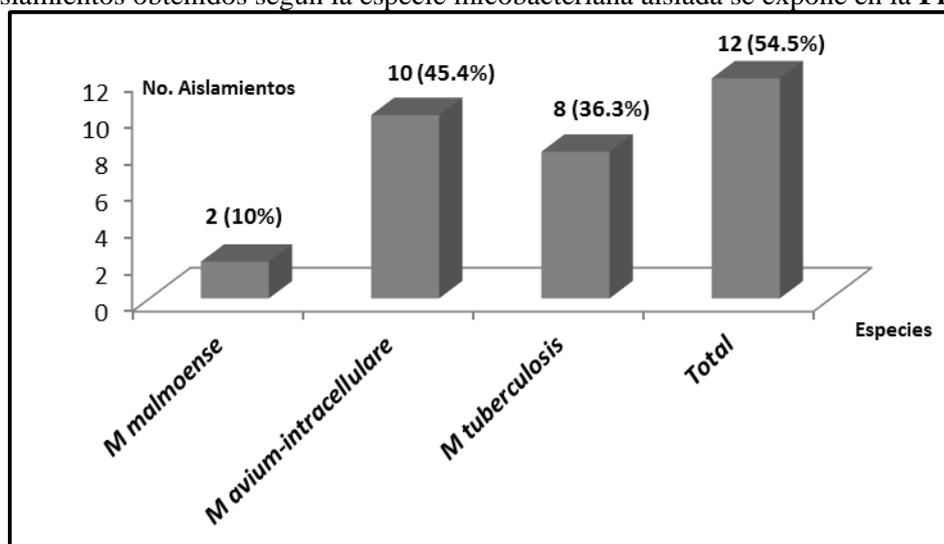


Fig. 3. Total de aislamientos obtenidos en el LNRI-TB/Lepra/Micobacterias-IPK por especie.

DISCUSIÓN

Normalmente los hemocultivos son más utilizados en pacientes con sospecha de algún tipo de inmunodepresión en los que se presume presenten enfermedad diseminada, fundamentalmente en pacientes con VIH/SIDA con bajo número de células T CD4+. Los sistemas más utilizados son los de lisis centrifugación y el BACTEC 460TB (viales BACTEC13A). También se han obtenidos buenos resultados con el sistema automatizado ESP Culture II-Myco6. (Peralta-Gómez, et al., 2015)

A pesar de que se dispone de algunas técnicas que facilitan la detección de micobacterias en sangre, son muy pocos los estudios que se han centrado en las bacteriemias o micobacteremias producidas tanto por MTBC como por otras especies no pertenecientes a este complejo. Por esta razón consideramos que este estudio es importante pues reafirma una vez más la necesidad y utilidad de los hemocultivos para el diagnóstico de micobacteremias en particular en pacientes con algún tipo de deterioro en su barrera inmunológica, como son los pacientes con infección avanzada por el VIH, donde es fundamental llegar a identificar esta patología e iniciar tempranamente tratamiento específico para evitar un desenlace fatal. (Mathuram, et al., 2018)

Al analizar los resultados en la **Figura 1** se observó que en el año que mayor número de muestras se analizaron fue el 2016 y el de menos muestras el 2020, evidentemente este resultado es una consecuencia general que se ha presentado posterior a la aparición de la pandemia de COVID-19. Recientemente se han publicado trabajos donde se alerta sobre esta infección viral aguda pues está produciendo internacionalmente una distorsión en los programas de prevención y control de muchas enfermedades que podrían a corto o mediano plazo causar un enorme problema de salud a nivel mundial. Específicamente en el caso particular de la TB y la COVID-19 infección causada por SARS-CoV-2 pues ambas afecciones tienen un típico compromiso respiratorio que, en ocasiones, puede presentar similitudes clínicas y radiológicas. Lo preocupante es que ambas entidades pueden tener desenlace fatal si no son diagnosticadas y tratadas a tiempo. (Ritacco, 2020)

En la **Figura 2** se analizó el total de muestras estudiadas por tipo de paciente, como se puede observar el mayor valor corresponde a los pacientes VIH + positivos, esto coincide con lo referido anteriormente respecto a la desfavorable asociación existente entre estas dos enfermedades. Sin embargo, no se debe dejar de reconocer que con la aplicación de la terapia antirretroviral se ha logrado en este tipo de paciente una significativa disminución de la presencia de infecciones oportunistas. (Mederos, 2011; Carazo, et al. 2003)

Analizando los resultados reflejados en la **Figura 3** se observó que dentro de las MNT con mayor porcentaje de aislamiento se mantienen las pertenecientes a los grupos III, según clasificación descrita por Runyon, resultado que coincide con los ya descritos por otros autores. En este estudio el porcentaje de aislamiento de MTBC fue menor del obtenido para el complejo *M. avium-intracellulare*, resultado que

reafirma una vez más a este complejo como uno de los que más frecuentemente se aísla en humanos, tanto en localización pulmonar como extrapulmonar. (OPS, 2016; Casal, et al., 2000; Henkle, 2015; Ticona-Huaroto et al., 2017; Martínez, et al., 2017)

Según lo reportado en la literatura científica la especie más frecuentemente aislada es MTB, sin embargo, los resultados de este estudio demostraron que se debe hacer una alerta urgente recalando la importancia clínico-diagnóstica de otras especies micobacterianas, donde los síntomas y daños clínicos son muy similares a los descritos por MTB.

El aumento de las infecciones por MNT coincide mundialmente con el declive de la infección tuberculosa e incremento de la infección por el VIH. La relación de estas especies micobacterianas con enfermedades en el ser humano es ocasional u oportunista; no todas las especies han sido reconocidas como patógenas, la capacidad de producir enfermedad depende no solo de los factores de patogenicidad o virulencia intrínsecos, sino sobre todo de los factores del hospedero, tales como la integridad de su sistema inmunitario. Dentro del amplio grupo de posibles síndromes denominados micobacteriosis, estos habitualmente se han asociados con algún tipo de inmunosupresión, como pacientes VIH/sida, oncohematológicos, receptores de trasplantes, tratados con fármacos biológicos anti-factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), y otros. Sin lugar a dudas, las MNT han venido adquiriendo mayor relevancia principalmente por el incremento de su frecuencia como agente causal de patologías tanto pulmonar como extra pulmonar (linfática, piel, tejidos blandos, óseo, otros). Por todo lo planteado anteriormente, el interés clínico-científico por estos microorganismos ha crecido significativamente, lo que ha permitido conocer los diversos aspectos asociados a los factores de virulencia y patologías que ocasionan. (Ticona-Huaroto et al., 2017; Martínez, et al., 2017; Máiz-Carro et al., 2018; Mederos, et al., 2020)

CONCLUSIONES

La sangre hasta hace algunos años no era la muestra más adecuada para diagnosticar micobacteremias, el aislamiento de MTB y otras micobacterias a partir de ésta constituía un hecho anecdótico. Sin embargo, la aparición de la pandemia provocada por el VIH puso de relieve la existencia de nuevas formas de enfermedad tuberculosa diseminada, y paralelamente a esto también se hizo cada vez más frecuente el aislamiento de otras especies micobacterianas en sangre. Por tanto, el hemocultivo sigue siendo una prueba complementaria útil para diagnosticar micobacteremias, pues al producirse la lisis de leucocitos de la sangre periférica se liberan micobacterias intracelulares que se concentran posteriormente con la centrifugación, lo cual aumenta la sensibilidad del hemocultivo particularmente en el paciente VIH/sida.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2007). Principles and procedures for blood cultures. Approved Guidelines. CLSI document M47-A. Clinical Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania.
- Higgins, C. (2010). Laboratory diagnosis of sepsis: blood culture and beyond. *Biomed Scient*, 325-327.
- Angus, D.C., van der Poll, T. (2013). Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*, 369,840-851.
- Mathuram, A.J., Sarojini, J., Prakash, V., Sudha, J., Carey, R., Ramya, I. (2018). Mycobacterial blood culture as the only means of diagnosis of disseminated tuberculosis in advanced HIV infection. *Tropical Doctor*, 48(2), 100-102.
- Rodríguez, J.C., Guna, M.R., Larrosa, N., Marín, M. (2017). Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cap 62 Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares.
- Guzmán, A., Sánchez, T., De la Barra, R. (2012). Análisis de la monitorización de cinco indicadores de calidad del hemocultivo en un hospital universitario en Chile 2009-2011. *Rev Chilena Infectol*, 29, 406-411.
- Peralta-Gómez, I., Cabrera-Rodríguez, M.C., Gutiérrez-Díaz, M.J. (2015). Coinfección TB/VIH: una amenaza para los programas de control de ambas enfermedades. *Medicent Electrón*, 19(3),160-162.
- Brown-Elliott, B.A., Molina, S., Ousman-Njie, T.F., Stribley, P., Stephenson, D., Wallace, Jr. R.J., Perry, J.D. (2019). Evaluation of a novel rapidly-growing mycobacteria medium for isolation of *Mycobacterium abscessus* complex from respiratory specimens from patients with bronchiectasis. *Heliyon* 5 (2019) e02684. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02684>

- Carrillo-Quintero, D., Bolaños-Rivero, M., Hernández-Cabrera, M., Cañas-Hernández, F. (2014). Aislamiento de micobacterias de crecimiento rápido a partir de muestras de piel y tejidos blandos. Una etiología a tener en cuenta. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 32, 692-3.
- Mederos, L.M., Sardiñas, M., García, G., Guerra, J.C., Martínez, M.R., Díaz R. (2014). Aspectos clínicos y aislamientos de micobacterias ambientales en muestras pulmonares y extrapulmonares. *Salud(i)Ciencia*, 21 (2), 40-44.
- Rithu, M., Juzar, A., Lapinel, N.C. (2020). The chicken and the egg dilemma: A case of disseminated MAC with Hodgkin's lymphoma. *Respiratory Medicine Case Reports*, 31:101253. doi: 10.1016/j.rmcr.2020.101253.
- Organización Panamericana de la salud, OPS (2008). Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis. Normas y Guía Técnica, Parte II Cultivo, 37-8.
- Barrera, L. (2008). Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guía teórica. Parte II. Cultivo. INEI, ANLIS Dr. Carlos Malbrán. Argentina. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud.
- Tejashree, A., Ranganath, R. (2011). MPT64 Antigen detection for Rapid confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *BMC Research Notes*, 4,79.
- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, SEIMC (2003). Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Capítulo Hemocultivos. Editores: Cercenado E, Cantón R. ISBN: 84-609-2289-8.
- Mederos, L. M. (2011). Infection for *Mycobacterium tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria in the HIV/AIDS patients. Part 1, Chapter 1. En: Venketaraman V, Ed. Global View of HIV Infection. Croacia; InTech : 3-21.
- Ritacco, V., Kantor, I.N. (2020). Tuberculosis and COVID-19: a dangerous liaison. *MEDICINA (Buenos Aires)*, 80 (Supl. VI): 117-11.
- Carazo, L., Molinos, L., Diego, C., Alonso, M, López, F., Faiña V., Miranda B., Martínez J. (2003). Tuberculosis en el paciente VIH+: revisión de la clínica, diagnóstico y tratamiento en la era Haart. *Rev Española de Sanidad Penitenciaria*, 5(2).
- OPS/OMS (2016). Coinfección TB/VIH en las Américas. Recuperado de: http://www2.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=35133&lang=es
- <http://www.sanipe.es/OJS/index.php/RESP/article/view/244/538>
- Casal, M.M., Casal, M. (2000). Las micobacterias atípicas como patógenos emergentes. *Enf Emerg*, 2(4), 220-230.
- Henkle E., Winthrop, K.L. (2015). Nontuberculous mycobacteria infections in immunosuppressed hosts. *Clin Chest Med*, 36(1), 91-9. doi: 10.1016/j.ccm.2014.11.002
- Ticona-Huaroto, C., Astocondor-Salazar, L., Montenegro-Idrogo, J., Valencia-Mesias G., Soria, J. (2017). Infección por el complejo *Mycobacterium avium-intracellulare* en pacientes con VIH/sida en un hospital peruano: una serie de casos. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 34(2), 323-7.
- Martínez, S., Cano, A., Sota, L. A., García, J.M., Alba, L.M., Palacios, J.J. (2017). Micobacterias no tuberculosas. ¿Una amenaza emergente? *Arch Bronconeumol*, 53(10), 554–560.
- Máiz-Carro, L., Barbero-Herranz, E., Nieto-Royo, R. (2018). Infecciones respiratorias por micobacterias no tuberculosas. *Medicina Clínica*, 150(5),191-197.
- Mederos, L.M., Sardiñas, M., García, G., Martínez, M.R., Díaz, R. (2020). Identificación de especies micobacterianas ambientales u oportunistas en pacientes sintomáticos y con VIH/Sida. *Salud(i)Ciencia*, 24, 12-18. <http://www.siic.info>

Este artículo no tiene conflicto de intereses

CONTRIBUCIÓN AUTORAL

Lilian María Mederos Cuervo: Diseño del estudio, desarrollo práctico-tecnológico, análisis e interpretación de los datos, y elaboración del manuscrito con vistas a su publicación.

Misleidis Sardiñas Aragón: Recogida de datos, desarrollo práctico-tecnológico, revisión del manuscrito.

Grechen García León: Desarrollo práctico-tecnológico del trabajo.

María Rosarys Martínez-Romero: Revisión del artículo.

Raúl Díaz-Rodríguez: Revisión del artículo