



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Formación médica continuada: Métodos de diagnóstico rápido en Microbiología Clínica

Diagnóstico rápido de la tuberculosis. Detección de mecanismos de resistencia

Jesús Viñuelas-Bayón^a, María Asunción Vitoria^b y Sofía Samper^{c,*}

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Lozano Blesa, CIBERES, Zaragoza, España

^c Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, IIS Aragón, CIBERES, Zaragoza, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 27 de enero de 2017

Aceptado el 31 de enero de 2017

On-line el xxx

Palabras clave:

Multirresistencia

Resistencia extensa o extrema

Mycobacterium tuberculosis complex

R E S U M E N

La tuberculosis continúa siendo hoy en día un grave problema de salud pública con 10,8 millones de casos nuevos y 1,8 millones de muertes a nivel mundial en el año 2015. La diversidad existente entre los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* que producen la tuberculosis permiten el diseño de métodos para su rápido diagnóstico. Así mismo, las mutaciones en los genes implicados en los mecanismos de resistencia permiten escapar a la bacteria del tratamiento. Hemos revisado los métodos de diagnóstico rápido de *M. tuberculosis* complex y de la detección de la sensibilidad/resistencia a los fármacos; ambas cosas son necesarias para detener la aparición de nuevas resistencias e instaurar un tratamiento precoz y correcto.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Rapid diagnosis of tuberculosis. Detection of drug resistance mechanisms

A B S T R A C T

Tuberculosis is still a serious public health problem, with 10.8 million new cases and 1.8 million deaths worldwide in 2015. The diversity among members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, the causal agent of tuberculosis, is conducive to the design of different methods for rapid diagnosis. Mutations in the genes involved in resistance mechanisms enable the bacteria to elude the treatment. We have reviewed the methods for the rapid diagnosis of *M. tuberculosis* complex and the detection of susceptibility to drugs, both of which are necessary to prevent the onset of new resistance and to establish early, appropriate treatment.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

Los primeros indicios de la enfermedad tuberculosa se han hallado en momias de 5.000 años antes de la era actual y pese a que han transcurrido 135 años desde que Robert Koch descubriera el bacilo productor de la «tisis blanca», la tuberculosis (TB) continúa siendo hoy en día un grave problema de salud pública a nivel mundial. Según los últimos datos comunicados por la OMS, en el año

2015 se produjeron 10,8 millones de casos nuevos y 1,8 millones de muertes a nivel mundial debidas a esta enfermedad de transmisión respiratoria¹. En ese mismo año en España se comunicaron 4.191 casos nuevos (12/100.000 habitantes).

Desde el descubrimiento de los primeros fármacos, la estreptomina (SM) en 1943, la isoniazida (INH) en 1952, y la rifampicina (Rif) en 1959, comenzaron a surgir cepas resistentes, lo que hizo necesario tratar la enfermedad con una combinación de fármacos. El tratamiento insuficiente o interrumpido genera la aparición de cepas resistentes a algún fármaco o a varios, apareciendo las cepas multirresistentes (MDR), definidas como resistentes al menos a la INH y a la Rif. Cuando las resistencias no se identifican antes del

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ssamper.iaacs@aragon.es (S. Samper).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2017.01.015>

0213-005X/© 2017 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

inicio del tratamiento, la situación se vuelve particularmente peligrosa, ya que los pacientes infectados con cepas monorresistentes tienen un alto riesgo de desarrollar resistencias adicionales a otros fármacos si reciben la terapia estándar. Una mala administración de los fármacos de segunda línea, menos eficaces y con efectos secundarios más graves, puede conducir a la aparición de cepas extensamente resistentes (XDR), que son cepas MDR con mecanismos de resistencia adicionales frente al menos a uno de los 3 fármacos inyectables: kanamicina (KM), amicacina (AK) y capreomicina (CPM), y a cualquier fluoroquinolona empleada frente a *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)¹. Los casos de TB-XDR en la práctica son casi imposibles de tratar. Se han notificado casos con cepas XDR que son incluso resistentes a delamanid y bedaquilina, fármacos antituberculosos introducidos recientemente para tratar TB-XDR². Es por tanto crucial el diagnóstico temprano de la TB, la obtención de resultados de sensibilidad rápidos, y una correcta prescripción de los fármacos, para un tratamiento y control adecuados de la enfermedad.

El género *Mycobacterium* es el único de la familia Mycobacteriaceae, del orden de los actinomicetales, caracterizados por tener un elevado contenido en guanina y citosina (G+C). Apareció como lo conocemos hoy en día hace unos 15.000 años. Existen más de 170 especies descritas, la mayoría de ellas pertenecen al grupo de micobacterias no tuberculosas (MNT) y solo unas pocas, que comparten un 99,9% de homología en sus genomas, pertenecen al complejo *M. tuberculosis* (MTBc), todas ellas productoras de TB, en el hombre o en diferentes especies animales. El MTBc incluye distintos linajes que han evolucionado genotípicamente y fenotípicamente tras su expansión clonal desde un progenitor común adaptándose a distintos huéspedes.

En el momento de tener una sospecha clínica de TB, el primer paso es confirmar el diagnóstico microbiológicamente. La baciloscopia o visualización de los microorganismos a partir de una extensión del producto patológico teñido con tinción de Ziehl-Neelsen continúa siendo el método más rápido, barato y accesible para diagnosticar los casos bacilíferos, si bien su sensibilidad comparada con el cultivo oscila entre el 25 y el 90%, dependiendo de la muestra que estemos estudiando y de la carga bacteriana de dicha muestra, así como de la calidad del observador. El cultivo en medio sólido, Lowenstein-Jensen y Coletos, tiene el inconveniente de que MTBc tarda más de 15 días en crecer. El primer avance en cuanto al diagnóstico rápido se debe a S. Siddiqi, quien diseñó a finales de los 70 el sistema radiométrico Bactec 460TB, con el que se acortaba el tiempo hasta la obtención del cultivo positivo y se aumentaba la sensibilidad³. Además aportó la ventaja adicional de que se podía realizar el antibiograma disminuyendo considerablemente el tiempo para la obtención del resultado en comparación con el método de las proporciones de Canetti⁴. La identificación por métodos fenotípicos: temperatura óptima de crecimiento, pigmentación de las colonias y características bioquímicas, es lenta y a veces compleja, sobre todo en muchas de las especies de MNT. En la década de los 90 aparecieron las primeras técnicas de identificación genética, logrando nuevamente una mayor rapidez y precisión en el diagnóstico micobacteriológico⁵. La necesidad de disponer en el momento actual de un diagnóstico rápido es quizá el aspecto más importante para el control de la enfermedad tuberculosa. Ello ha impulsado en las últimas décadas la investigación y el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos basados en la biología molecular. De manera ideal deberíamos tener una técnica sensible, rápida, razonablemente económica y que no necesitase medios técnicos complejos ya que la mayoría de casos se dan en países poco desarrollados y con recursos económicos limitados.

Con este trabajo no se pretende realizar una descripción exhaustiva de toda la metodología disponible o en desarrollo en el momento actual, para lo cual remitimos al lector interesado a la literatura más especializada^{6,7}, sino revisar las distintas

aproximaciones existentes al diagnóstico rápido y microbiológico de la enfermedad tuberculosa.

Diferencias genómicas de los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*

Se han detectado polimorfismos en sus genomas debidos a pérdidas de secuencias largas de nucleótidos (LSP), mutaciones afectando a un nucleótido (SNP) o variaciones de los elementos repetitivos en su genoma. Las deleciones específicas en el genoma de los diferentes miembros del complejo se han llamado regiones diferenciales (RDs)⁸ y pueden utilizarse para identificarlos y clasificarlos en 8 linajes diferentes (fig. 1). MTB incluye los linajes 1 a 4 y se ha adaptado de forma selectiva al ser humano. A pesar de infectar a una tercera parte de la población mundial, no ha pasado a establecerse en el mundo animal¹². La presencia o ausencia de la región llamada TbD1 diferencia entre MTB ancestral (L1) y moderna⁸. Otras diferencias de SNP permiten clasificar a los aislados en sublinajes dentro de las cepas de MTB modernas: el L2 que incluye a la familia Beijing, L3 que incluye la familia CAS y L4 que incluye la familia Latinoamericana, la más presente en Europa. Para diferenciar los distintos linajes y sublinajes o familias se han propuesto diferentes técnicas mediante multiplex PCR, pirosecuenciación, SNAPshot y secuenciación de grupos de genes¹³⁻¹⁵. La pérdida de una región llamada RD9 separaría MTB de *Mycobacterium africanum*, asociados también al huésped humano (L5 y L6), y del resto de linajes del complejo asociados con huésped animal, linaje 8¹⁶. Un grupo de cepas que circula entre humanos con aparentemente menor virulencia es el relacionado con el linaje 6, o también llamado *M. africanum* West African 2 (MAF2). Estas cepas han perdido las regiones RD7, RD8, RD9 y RD10, como ocurre en las cepas asociadas a animales, que incluyen *Mycobacterium bovis*, *M. bovis bacillus Calmette-Guerin* (BCG), *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium oris*, *Mycobacterium pinnipedii*, y los descritos más recientemente, el llamado *chimpanzee bacillus*, *dassie bacillus*, *Mycobacterium mungi*, y *Mycobacterium suricatae*, los cuales se han aislado de chimpancé, damán roquero, mangosta rayada y suricata, respectivamente¹⁷.

Diagnóstico microbiológico rápido

La necesidad de un diagnóstico temprano cobra especial sentido si tenemos en cuenta que casi un 20% de las transmisiones son debidas a pacientes con baciloscopia negativa y cultivo positivo⁹, y al creciente aumento de los aislamientos con resistencias a distintos fármacos.

A pesar de que la microscopia continúa siendo el método más extendido y económico para el diagnóstico inmediato, sus inconvenientes —ya mencionados— han impulsado la investigación y el desarrollo de nuevos métodos, entre los cuales los de mayor implantación, sin lugar a dudas, han sido los basados en la biología molecular.

Biomarcadores

Un método rápido teórico para detectar infecciones activas es la detección de biomarcadores a partir de muestras mínimamente o no invasivas; sin embargo, a pesar de que hay un cierto desarrollo en esta línea, hasta el momento no se dispone de técnicas que puedan cumplir con las necesidades requeridas.

Serología. Al igual que en numerosas enfermedades infecciosas, con la TB se ha ensayado la detección de anticuerpos circulantes. Sin embargo, debido a su baja sensibilidad y a las reacciones cruzadas, la OMS ha desaconsejado formalmente su uso.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/5671941>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/5671941>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)