



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

Métodos de determinación de sensibilidad a los antimicrobianos en micobacterias

Fernando Alcaide^{a,*}, Jaime Esteban^b, Julià González-Martin^c y Juan-José Palacios^d

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Bellvitge, Departament de Patologia i Terapèutica Experimental, Universitat de Barcelona. GEIM (SEIMC), Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España

^b Departamento de Microbiología Clínica, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid (UAM). GEIM (SEIMC), Madrid, España

^c Servei de Microbiologia-CDB, Hospital Clínic-ISGLOBAL, Departament de Fonaments Clínics, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona. GEIM (SEIMC), Barcelona, España

^d Unidad de Referencia Regional de Micobacterias, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Central de Asturias. GEIM (SEIMC), Oviedo, Asturias, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 6 de abril de 2016

Aceptado el 7 de abril de 2016

On-line el xxx

Palabras clave:

Micobacterias

Prueba de sensibilidad

Mecanismos de resistencia

Keywords:

Mycobacteria

Susceptibility testing

Resistance mechanisms

R E S U M E N

Las micobacterias son un amplio grupo de microorganismos en el que múltiples especies son causa de una importante morbilidad y mortalidad, como la tuberculosis y la lepra. La aparición y diseminación de cepas del complejo *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a diversos fármacos constituye en la actualidad uno de los problemas sanitarios de mayor gravedad a nivel mundial. Por otro lado, las micobacterias diferentes de *M. tuberculosis* y *Mycobacterium leprae*, denominadas micobacterias no tuberculosas (MNT), son aislamientos cada vez más frecuentes, requiriendo en muchos casos un tratamiento que precisa una orientación sobre la sensibilidad de estos microorganismos a los antimicrobianos. En el presente artículo se revisan los métodos para determinar la sensibilidad *in vitro* a los antimicrobianos de los aislamientos del complejo *M. tuberculosis* y las MNT más relevantes. Además, también se realiza un análisis de las técnicas moleculares de detección rápida de la resistencia a partir de las muestras clínicas.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Methods for determining the antimicrobial susceptibility of mycobacteria

A B S T R A C T

Mycobacteria are a large group of microorganisms, multiple species of which are major causes of morbidity and mortality, such as tuberculosis and leprosy. At present, the emergence and spread of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* complex are one of the most serious health problems worldwide. Furthermore, in contrast to *M. tuberculosis* and *Mycobacterium leprae*, nontuberculous mycobacteria (NTM) are more frequently isolated and, in many cases, treatment is based on drug susceptibility testing. This article is a review of the different methods to determine the *in vitro* drug susceptibility of *M. tuberculosis* complex and the most relevant NTM isolates. The molecular techniques currently used for rapid detection of resistance of clinical specimens are also analysed.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

Actualmente se han descrito más de 170 especies de micobacterias, y muchas de ellas son una causa importante de

morbimortalidad en el ser humano. Entre ellas destaca la tuberculosis (TB) causada por el complejo *Mycobacterium tuberculosis*¹. Según la OMS, cerca de 9,6 millones de personas enfermaron de TB en 2014 y 1,5 millones murieron por ella, siendo la primera causa de muerte por un agente infeccioso¹. Además, en los últimos años han aparecido y se están diseminando cepas resistentes a múltiples fármacos. Así se estima que 480.000 personas desarrollaron una TB multirresistente (MDR-TB; resistencia al menos a la isoniazida y a

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: falcaide@bellvitgehospital.cat (F. Alcaide).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.04.008>

0213-005X/© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

la rifampicina) a nivel mundial en 2014, de los que el 9% tendrían una resistencia extendida (XDR-TB) al menos a uno de los fármacos inyectables de segunda línea (capreomicina, kanamicina o amikacina) y una fluoroquinolona. Por todo ello, la detección rápida de la resistencia a los antituberculosos es fundamental para lograr un tratamiento adecuado y prevenir la aparición y diseminación de la MDR-TB. Por otro lado, las micobacterias no tuberculosas (MNT) o ambientales han ido tomando un mayor protagonismo, siendo muchas de ellas patógenas (micobacteriosis) y requiriendo un tratamiento específico que, en muchos casos, deberá ser orientado por las pruebas de sensibilidad *in vitro* a los antimicrobianos²⁻⁴.

Antimicrobianos

Aunque el arsenal terapéutico para las infecciones micobacterianas es muy limitado, en la actualidad se dispone de algunos fármacos nuevos, si bien no todos tienen la misma actividad ni se utilizan para tratar el mismo tipo de infecciones o las diferentes especies (tabla 1)⁵.

Fármacos utilizados frente al complejo *Mycobacterium tuberculosis*

Los fármacos denominados de primera línea incluyen a los administrados como primera elección y son la isoniazida (H), la rifampicina (R), el etambutol (E), la pirazinamida (Z) y, por razones históricas, también la estreptomina (S)⁵⁻⁷. Los 4 primeros son los recomendados por la OMS en una pauta de 6 meses (2HREZ + 4HR). Ante casos de resistencia, alergia, intolerancia, toxicidad hepática o interacción frente a uno o más de estos fármacos, debe recurrirse a los de segunda línea, que incluyen las rifamicinas (rifabutina, rifapentina), las quinolonas (ofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino), los aminoglucósidos (amikacina, tobramicina), la capreomicina, la cicloserina, el linezolid, los análogos de la isoniazida (etionamida, protionamida), la clofazimina, PAS o tioacetazona⁵⁻⁷. En casos de MDR-TB o XDR-TB puede, además, recurrirse a fármacos de aparición reciente, como la bedaquilina y/o el delamanid⁸.

Fármacos utilizados frente a las micobacterias no tuberculosas

El tratamiento de las MNT, con la excepción de la lepra, está menos estandarizado que el de la TB, con amplias variaciones entre especies^{2,9}. Para la mayoría de las especies de crecimiento lento la base del tratamiento son la claritromicina, el etambutol y la amikacina, complementadas con otros fármacos como quinolonas, rifamicinas, linezolid y probablemente, con menor grado de eficacia, cefalosporinas, carbapenems y tetraciclinas. Las infecciones por *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium xenopi* se tratan de forma similar a la TB, salvo la pirazinamida, ya que no tiene actividad frente a las MNT^{2,9}. Las especies de crecimiento rápido son resistentes a los fármacos antituberculosos clásicos y tienen también a la claritromicina como base del tratamiento, con excepción de *Mycobacterium fortuitum*, que es resistente, así como el 80-85% de los aislamientos de *Mycobacterium abscessus*^{2,9}.

Pruebas de sensibilidad a los fármacos en *Mycobacterium tuberculosis* complex

La historia de las pruebas de sensibilidad frente al complejo *M. tuberculosis* surge paralela al desarrollo del tratamiento farmacológico específico de la TB, que se inicia con el descubrimiento de la estreptomina en 1944. Desde un primer momento ya se observó que la monoterapia lograba una mejoría clínica inicial seguida de una recaída de la enfermedad. Este fenómeno, conocido como *fall and rise*, se debía a la selección de bacterias resistentes. La OMS, en

el año 2000, definió las resistencias en varias categorías desde un punto de vista epidemiológico: a) *Resistencia en casos nuevos*: cepas aisladas en pacientes que nunca han recibido tratamiento antituberculoso durante más de un mes. b) *Resistencia en casos tratados*: cepas aisladas en pacientes que previamente han recibido tratamiento antituberculoso durante más de un mes. c) *Multiresistencia* (MDR-TB): resistencia conjunta al menos a la isoniazida y a la rifampicina. d) *Poliresistencia*: resistencia a más de un fármaco sin que estén incluidos isoniazida y rifampicina a la vez. e) *Resistencia combinada*: suma de todas las resistencias en un área concreta. Indica la carga de cepas resistentes en una comunidad. En 2006 se añadió la categoría *Resistencia extendida* (XDR-TB), que se ha comentado en la introducción.

La confirmación definitiva de la resistencia del complejo *M. tuberculosis* a los fármacos debe realizarse siempre con métodos microbiológicos. En los estudios de los años sesenta de Canetti, Rist y Grosset¹⁰ se estableció la frecuencia de mutaciones espontáneas asociadas a cada fármaco. En el caso de la isoniazida, del etambutol y de la estreptomina aparecía una mutante resistente entre 10^{-5} y 10^{-7} bacterias, a la rifampicina una entre 10^{-7} y 10^{-9} y a la pirazinamida una entre 10^{-2} y 10^{-4} . La frecuencia teórica de mutantes resistentes para más de un fármaco sería la suma exponencial de las individuales de cada fármaco. Del mismo modo, también se estimaron las poblaciones bacterianas presentes en las lesiones. Así, los infiltrados de poca extensión tendrían poblaciones de 10^3 - 10^5 bacterias, y las cavidades llegarían a las 10^7 - 10^9 bacterias, lo que hace muy improbable que se generen de manera espontánea mutaciones simultáneas a más de un fármaco. En TB se habla de resistencia cuando el 1% o más de la población bacteriana es resistente a un determinado fármaco¹⁰.

Las *concentraciones críticas* de los diferentes fármacos fueron establecidas por consenso internacional y representan las concentraciones más bajas que inhiben el crecimiento de las «cepas salvajes» (sensibles) del complejo *M. tuberculosis* que nunca han estado expuestas a los mismos, mientras que no inhiben a las cepas procedentes de pacientes que no responden al tratamiento, consideradas resistentes. Inicialmente fueron postuladas para el medio de Löwenstein-Jensen, y después se establecieron equivalencias para los medios de agar 7H10 y 7H11 de Middlebrook, así como para los sistemas automatizados de cultivo en medio líquido.

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* en *M. tuberculosis* complex deberían realizarse al primer aislamiento que se obtenga de un nuevo paciente, en casos de sospecha de fracaso terapéutico y ante recidivas de la enfermedad^{7,11-13}. Además, cuando la TB afecte simultáneamente a más de un órgano, los estudios deberían individualizarse para cada localización, sin presuponer que el resultado vaya a ser siempre coincidente. Deberían incluirse todos los fármacos de primera línea (isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomina), ya que proporcionan información sobre el esquema terapéutico actualmente recomendado para la mayoría de los pacientes^{7,11-14}. Los fármacos de segunda línea tradicionales (amikacina, capreomicina, clofazimina, cicloserina, etionamida, kanamicina y PAS) y los nuevos, como las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino), el linezolid y, en determinados casos, la rifabutina, deberían ser evaluados siempre que: a) una cepa sea resistente a la isoniazida, rifampicina, etambutol o pirazinamida; b) cuando mediante técnicas moleculares se detecten mutaciones en genes que codifican resistencia a la isoniazida y/o a la rifampicina, y c) cuando se disponga de información clínico-epidemiológica que así lo aconseje¹³⁻¹⁵.

Métodos basados en medios de cultivo sólidos

El método de las *concentraciones absolutas*, descrito por Meissner, se basa en la comparación del número de colonias en

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/5671942>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/5671942>

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