

## MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN PACIENTES CON FIBROSIS QUISTICA

EDGARDO SEGAL<sup>1</sup>, GRACIELA S. DIEZ<sup>1</sup>, ELISA PROKOPIO<sup>1</sup>, ANA AGUIRRE<sup>2</sup>,  
GRACIELA POGGIO<sup>2</sup>, LILIE CHERTKOFF<sup>3</sup><sup>1</sup> Hospital Interzonal Especializado en Pediatría Superiora Sor María Ludovica, La Plata; <sup>2</sup> Hospital Interzonal Especializado en Agudos y Crónicos San Juan de Dios, La Plata; <sup>3</sup> Hospital Nacional de Pediatría Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires

**Resumen** En los últimos años hubo un aumento en el aislamiento de micobacterias no tuberculosas (MNT) en muestras de tracto respiratorio de pacientes adultos con fibrosis quística (FQ) siendo la prevalencia en los distintos centros de EE.UU., Inglaterra, Suecia e Irlanda entre 12.5 y 19.5%. El objetivo de este estudio fue investigar la presencia de MNT en los pacientes atendidos en nuestro Centro Provincial de Fibrosis Quística. Se estudiaron 92 muestras de esputo y/o contenido gástrico provenientes de 40 pacientes con FQ, de edades comprendidas entre 4 meses y 25 años, obtenidas durante una exacerbación aguda o en los controles de seguimiento. En 6 pacientes con afectación clínica moderada o severa se aisló complejo *Mycobacterium avium-intracellulare*, 5 de ellos se interpretaron como casos de colonización y un paciente se consideró con enfermedad micobacteriana activa y recibió tratamiento. El índice de contaminación de las muestras fue muy alto en la primera etapa del estudio (57%), descendiendo al 2.8% con el cambio de método utilizado en el procesamiento de las muestras. Concluimos que la presencia de MNT es relativamente frecuente en pacientes con FQ, aun en los niños con afectación moderada o severa, por lo que debería investigarse sistemáticamente ante la posibilidad de que desarrollen enfermedad activa.

**Abstract** *Nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis.* The prevalence of nontuberculous mycobacteria (NTM) isolated from the lower airways of adult cystic fibrosis (CF) patients appears to be increasing. Different centers of USA, England, Sweden and Ireland have reported a prevalence ranging from 1.5 to 19.5%. The aim of the present study was to investigate the presence of NTM in patients assisted at these centers. A total of 92 sputum specimens and/or gastric contents from 40 CF patients were studied. Ages of patients ranged from 4 months to 25 years. Samples were obtained during acute exacerbation or in routine check-up. *Mycobacterium avium-intracellulare* complex strains were isolated from six patients with moderate or severe clinical manifestations. Five of these patients were considered as being colonized by NTM. Active mycobacterial disease was diagnosed in one patient and he underwent treatment. The index of bacterial contamination of cultures was very high early along the study (57%), decreasing to 2.8% later due to a change in the methodology used in the processing of samples. It was concluded that the presence of NTM is relatively frequent in patients with CF, even in children with moderate or severe compromise, a fact which strongly suggests that NTM should be systematically searched for considering the possibility that the patients might develop active disease.

**Key words:** nontuberculous mycobacteria, cystic fibrosis, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

En la bibliografía internacional se ha informado un aumento de la presencia de micobacterias no tuberculosas (MNT) en las vías aéreas inferiores de pacientes adultos con fibrosis quística (FQ) siendo la prevalencia en los distintos centros de Estados Unidos de América, Inglaterra, Suecia e Irlanda entre 12.5% y 19.5%. Wood y col. (USA) en 1976, refieren un porcentaje del 0.7%; Boxerbaun (USA) en 1980 1.8%, Smith y col. (Londres) en 1984 2.4%; Mulherin y col. (Dublin) 2.3% y Hjelt

(Estocolmo) 11.0% en 1990; Kilby y col. (USA) en 1992 19.5%; Aitken y col. en 1993 12.5%<sup>1-3</sup>.

La FQ es la enfermedad hereditaria letal más frecuente en los individuos de raza blanca, con una prevalencia probable de 1:2 500 recién nacidos vivos<sup>4</sup>.

La causa de esta alta prevalencia en FQ es probablemente multifactorial y puede reflejar: a) mayor sobrevivencia, b) aislamiento de MNT sin contaminación con *Pseudomonas* debido al perfeccionamiento de las técnicas de cultivo, c) colonización como resultado de daño crónico de las vías aéreas en los pacientes adultos con FQ, d) aparición de patógenos resistentes para los antibacterianos estándar, seleccionados por los múltiples cursos de antibióticos requeridos durante las exacerbaciones, e) transmisión nosocomial o del medio ambiente

Recibido: 11-XI-1997

Aceptado: 8-IV-1998

Dirección postal: Dr. Edgardo Segal, Calle 63 N° 992, 1900 La Plata, Argentina. Fax: 54-021-53-4316

relacionado con el uso de suplementos de agua corriente dentro de los Centros de FQ y sus hospitales o a través del uso de equipos de inhalación con reservorios de agua<sup>6, 8, 10</sup>.

También hay un creciente interés en el aumento de publicaciones describiendo la presencia de MNT en la población sin FQ, especialmente en pacientes seropositivos para HIV y aun en pacientes sin aparente enfermedad pulmonar precedente<sup>5, 8, 10-17</sup>. En el Centro Provincial de Fibrosis Quística en el Hospital de Niños de La Plata, se investigaron en forma regular micobacterias en las muestras respiratorias de pacientes con afectación moderada y severa de esta enfermedad a partir de 1993 con el fin de conocer la prevalencia de estas especies\* en nuestro medio.

## Pacientes y métodos

Entre el 1 de enero de 1993 y el 31 de mayo de 1997 se asistieron y controlaron regularmente 96 pacientes con FQ.

Se investigaron micobacterias en 92 muestras (89 esputos y 3 contenidos gástricos) provenientes de 40 pacientes, 12 varones y 28 mujeres, de edades comprendidas entre 4 meses y 25 años. Ninguno de ellos había estado en contacto con personas con tuberculosis conocida u otra micobacteriosis.

Las muestras fueron obtenidas por expectoración espontánea, aspirado laríngeo o lavado gástrico en pacientes con afectación moderada o severa que se internaron por una exacerbación respiratoria aguda o que asistieron para el control durante su seguimiento. El grado de severidad de la enfermedad en cada caso fue definido por el "score" de Shwachman-Brasfield.

### Estudio bacteriológico

Se realizó el examen directo de todas las muestras mediante la tinción de Ziehl Neelsen. Entre enero de 1993 y febrero de 1995 se procesaron las muestras por el método de Petroff (solución de NaOH al 4%) y a partir de marzo de 1995 se cambió por el método de Corper y Uyei basado en el uso de ácido oxálico al 5% con actividad bactericida sobre pseudomonas<sup>18</sup>.

En ambos casos se sembró posteriormente en medios de cultivo de Lowenstein-Jensen y Stonebrink. Los resultados positivos se cuantificaron según el número de colonias desarrolladas en el medio de cultivo: menos de 200 colonias se informa en número de colonias; 1 + (20 a 100 colonias); 2 + (100 a 200 colonias) y 3 + (más de 200 o confluentes).

Las micobacterias aisladas por cultivo fueron identificadas por pruebas fenotípicas: aspecto, morfología y pigmentación de las mismas, prueba de la catalasa a temperatura ambiente y a 68 °C; prueba de la pirazinamidasasa, resultados de las pruebas de sensibilidad a los tuberculostáticos: estreptomina (S), isoniacida (H), ácido paraaminosalicílico (PAS), rifampicina (R), etambutol (EMB), cicloserina (Cs) y la susceptibilidad a la hidracida del ácido 2-tiéfeno carboxílico, realizado por el método de Canetti, Rist y Grosset<sup>19</sup>. Se enviaron los aislamientos al Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos A. Malbrán" para su definitiva identificación y determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida de amicacina, clofazimina, claritromicina, ciprofloxacina y ofloxacina frente a 5 de los 6 aislamientos<sup>20</sup>.

## Resultados

Se aislaron micobacterias en 16 muestras provenientes de 6 pacientes (15%), 4 de ellas resultaron positivas al examen microscópico directo.

En la primera etapa (enero de 1993 a febrero de 1995), antes del cambio de técnica de procesamiento de muestras, se contaminaron con pseudomonas 12 de 21 (57%), y posteriormente el índice de contaminación descendió al 2.8%.

De 6 pacientes se aislaron micobacterias que fueron identificadas como complejo *Mycobacterium avium-intracellulare* (Tabla 1) con un patrón de resistencia semejante: todos fueron resistentes a estreptomina, isoniacida, rifampicina, etambutol y al ácido paraaminosalicílico y sensibles a cicloserina. El ensayo *in vitro* a otras drogas (amicacina, ciprofloxacina, ofloxacina, clofazimina y claritromicina) arrojó resultados heterogéneos: todas las cepas fueron inhibidas por valores mayores a la concentración máxima alcanzable por la amicacina en suero, no observándose actividad bactericida en esa concentración sérica. La claritromicina tuvo actividad inhibitoria en 3 casos y bacteriostática en uno sólo de los aislamientos. La clofazimina y ofloxacina mostraron buena actividad inhibitoria y bacteriostática en los 5 aislamientos ensayados. También la ciprofloxacina actuó de un modo semejante inhibiendo el 80% de las cepas (4 casos). De los seis pacientes con cultivos positivos (Tabla 2) tres eran varones, de edades comprendidas entre 4 y 27 años (x 12.8) procedentes de La Plata y Pcia. de Buenos Aires, con "score" de Shwachman-Brasfield entre 37 y 69.

TABLA 1.— Pacientes con FQ y bacteriología positiva para MAI. Examen directo microscópico y cultivo en muestras respiratorias de pacientes atendidos en el Centro Provincial en el Hospital de Niños de La Plata, enero 1993 - mayo 1995

Paciente	Nº de muestras estudiadas	Nº de muestras positivas al examen directo	Nº de muestras positivas al cultivo
1	12	1	4
2	4	0	1
3	3	0	3
4	4	0	2
5	4	3	4
6	4	0	2

FQ: fibrosis quística

MAI: *Mycobacterium avium intracellulare*

TABLA 2.— Pacientes con FQ con aislamientos de MAI. Centro Provincial, Hospital de Niños de La Plata, enero 1993 - mayo 1995

Paciente	Sexo	Edad	Score*	Mantoux PPD 2UT	Bacteriología esputo**	Genotipo
1	M	27	56	10 mm	SA	$\Delta$ F508/ $\Delta$ F508
2	F	12	69	0 mm	SA/PA	$\Delta$ F508/G542x
3	M	10	37	12 mm	SA/PA	$\Delta$ F508/ $\Delta$ F508
4	F	19	40	0 mm	PA	$\Delta$ F508/otro
5	F	5	68	10 mm	SA/PA	Otro/otro
6	M	4	63	13 mm	SA/PA	$\Delta$ F508/ $\Delta$ F508

\*Score clínico-radiológico de Shwachman-Brasfield

\*\*SA: *Staphylococcus aureus*

PA: *Pseudomonas aeruginosa* mucosa

Respecto a la mutación genética tres eran homocigotas para  $\Delta$ F508, dos heterocigotas  $\Delta$ F508 y 1 no  $\Delta$ F508/no  $\Delta$ F508.

La reacción de Mantoux (P.P.D. 2UT) en dos pacientes fue negativa (0 mm), y en los otros cuatro las respuestas fueron positivas: dos pacientes con 10 mm, uno con 12 mm, uno con 13 mm.

En los cultivos de secreción bronquial de cuatro pacientes se aisló *Pseudomonas aeruginosa* mucosa y *Staphylococcus aureus*, en un paciente se aisló sólo *Staphylococcus aureus* y en el restante sólo *Pseudomonas aeruginosa* mucosa.

En nuestro grupo aislamos complejo *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAI) de 6 pacientes sobre 40 investigados. El paciente n° 1 fue tratado con isoniacida, rifampicina y pirazinamida en el año 1992 al identificarse BAAR en el examen directo de esputo, durante una exacerbación respiratoria con hemoptisis. Al aislarse en 1993 una MNT por cultivo de esputo, cumplió tratamiento con claritromicina, clofazimina y ofloxacina durante 6 meses. Posteriormente se reinterpretó como colonización y no enfermedad, y se suspendió el tratamiento. La evolución de la afectación del aparato respiratorio ha sido estable y siempre se aísla la MNT.

Los pacientes n° 2, 3, 4 y 6 se interpretaron como colonizados con MNT y no recibieron tratamiento.

En el cultivo de secreción de la paciente n° 5 se aisló un número elevado de colonias, se encontraba con deterioro clínico evidente, con exacerbaciones pulmonares frecuentes que le ocasionaban internaciones periódicas para recibir tratamiento antibiótico endovenoso por períodos prolongados (no hubo cambios radiológicos claros). Se decidió medicar con claritromicina 15 mg/Kg/día y ciprofloxacina 25 mg/Kg/día, lleva 8 meses de tratamiento y el examen bacteriológico es negativo al directo y en el cultivo presentó una colonia. La evolución

clínica de la afectación del aparato respiratorio no se ha modificado y continúa con deterioro progresivo.

## Discusión

Las MNT son bacterias que se encuentran comúnmente en el medio ambiente y ocasionalmente colonizan el aparato respiratorio humano. Timpe, Runyon y otros, en 1959 establecieron la patogenidad potencial de estos organismos para humanos y crearon un sistema de clasificación basado en la morfología, fisiología y características bioquímicas. Desde entonces la enfermedad pulmonar crónica causada por distintas especies micobacterianas ha sido bien descrita<sup>11</sup>.

En los últimos años se han publicado varios trabajos sobre aparición de MNT en las secreciones bronquiales de pacientes con FQ<sup>2, 5-8</sup>.

La significación clínica de la presencia de cultivos con MNT en pacientes con FQ es difícil de determinar. La American Thoracic Society en 1997 propuso criterios diagnósticos para micobacteriosis en pacientes seropositivos y seronegativos para HIV aplicables a pacientes sintomáticos con enfermedad infiltrativa, nodular o cavitaria, o bronquiectasias multifocales y/o pequeños nódulos múltiples en tomografía Axial Computada de alta resolución<sup>21</sup>. Otros grupos también sugieren criterios de selección para pacientes con enfermedad pulmonar crónica y MNT<sup>2, 16, 17</sup>.

La definición de infección activa es a menudo problemática en los pacientes con enfermedad pulmonar crónica previa, ya que los cambios radiológicos, la tos crónica, pérdida de peso y hemoptisis son signos y síntomas presentes tanto en la FQ como en la tuberculosis y otras micobacteriosis. Otras bacterias y hongos patógenos se encuentran habitualmente presentes en

el esputo en los pacientes con FQ y MNT, por lo que la validez de los criterios diagnósticos es difícil de determinar en ellos. Kilby y col.<sup>6</sup> sugieren que el aislamiento reiterado de cultivos con MNT, particularmente con exámenes microscópicos directos positivos (BAAR), en pacientes con infiltrados pulmonares o cavidades, que no mejoran con antibióticos agresivos por vía parenteral pueden ser sugestivos de enfermedad micobacteriana activa en pacientes con FQ.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) propone para el diagnóstico de micobacteriosis: 1) varios cultivos de la misma cepa de un mismo sujeto, 2) cultivos con desarrollo relativamente abundante (más de 10-15 colonias), 3) enfermedad comprobada, 4) mala respuesta al tratamiento antituberculoso, 5) o cultivo positivo a partir del material obtenido de la lesión (biopsia, exéresis)<sup>21</sup>.

En nuestro grupo de seis enfermos con MNT en secreciones bronquiales, inicialmente el paciente N° 1 fue tratado con tuberculostáticos a pesar de la ausencia de cambios clínicos sugestivos de tuberculosis, ya que la hemoptisis es relativamente frecuente en las exacerbaciones de pacientes con FQ. A los 4 meses, al aislarse y tipificarse como MNT se indicó claritromicina, clofazimina y ofloxacina durante 6 meses, aunque la evolución clínica no experimentó cambios. En el caso de la paciente N° 5 indicamos tratamiento específico porque hubo desmejoramiento clínico significativo y se aisló un elevado número de colonias de MAI en varios cultivos. No obstante, la paciente tampoco experimentó mejoría objetivable en la evolución de su enfermedad con este tratamiento.

Si bien en nuestro grupo no tuvimos aislamientos de *M. Tuberculosis*, la incidencia de este tipo de aislamientos también ha aumentado en los últimos años: Wood en 1976 refiere el aislamiento de *M. tuberculosis* en 2 de 700 pacientes (0.29%) en un período de 18 años, Smith en 1984, 3 de 286 (1.05%) en un período de 16 años y Hjelte, en 1990, 1 de 54 (1.85%) en un período de 3 años. En el Registro Argentino de Fibrosis Quística (RAFQ) no se ha comunicado asociación de FQ y tuberculosis.

Respecto a la frecuencia de MNT en Argentina, en un estudio efectuado mediante una encuesta entre 15 laboratorios que realizaban cultivos para micobacterias, se halló un porcentaje de casos de micobacteriosis de 0.35%, durante el período de 1982 a 1984<sup>23</sup>. En el Laboratorio de Bacteriología de la Tuberculosis del Hospital San Juan de Dios de La Plata la frecuencia de casos debidos al complejo MAI en pacientes no infectados con el HIV fue de 0.29% durante 1992 a 1996, no estando estos casos asociados con FQ. En el caso de pacientes HIV positivos que tuvieron aislamientos de micobacterias hasta 1996 se halló un porcentaje de 4.9% con complejo MAI.

La contaminación bacteriana de los cultivos para micobacterias, en pacientes con FQ, ha sido bien reconocida<sup>5,7</sup> y fue un problema técnico al comienzo de nuestro estudio (57%). El sobrecrecimiento en el medio de bacterias (probablemente *Pseudomonas aeruginosa*), provoca destrucción proteolítica del medio de cultivo de Lowenstein-Jensen<sup>6</sup>. El cambio de procedimiento de decontaminación determinó una sensible disminución en el número de muestras necesarias para llegar al diagnóstico etiológico. En resumen, la presencia de MNT en pacientes con FQ es relativamente frecuente. Estudios adicionales con seguimiento evolutivo y mayor número de pacientes serán necesarios para definir la incidencia y significación clínica que las micobacterias tienen en el pronóstico y sobrevida de estos pacientes. Concluimos que se debería buscar MNT en las muestras de esputo de pacientes con FQ, con afectación moderada o severa, y que los pacientes con aparente colonización con MNT deberán ser monitoreados regularmente ante la posibilidad de que desarrollen enfermedad activa.

## Bibliografía

1. Wood RE, Boat TF, Doershuk CF. Cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 833-78.
2. Boxerbaum B. Isolation of rapidly growing mycobacteria in patients with cystic fibrosis. *J Pediatrics* 1980; 96: 689-91.
3. Smith MJ, Efthimiou J, Hodson ME, Balter JC. Mycobacterial isolations in young adults with cystic fibrosis. *Thorax* 1984; 39: 369-75.
4. Mulherin D, Coffey MJ, Halloran D, Keogan M, Fitz Gerald M. Skin reactivity to atypical mycobacteria in cystic fibrosis. *Respir Medicine* 1990; 84: 273-6.
5. Hjelte K, Hojlyng N, Howitz P, Illum N, Munk E, Valerius N et al. The Role of Mycobacteria Other Than Tuberculosis in Patients with Cystic Fibrosis. *Scand J Infect Dis* 1994; 26: 569-76.
6. Kilby JM, Gilligan P, Yankaskas JR, Highsmith E, Edwards L, Knowels M. Nontuberculous Mycobacteria in Adult Patients with Cystic Fibrosis. *Chest* 1992; 102: 70-5.
7. Aitken ML, Burke W, McDonald G, Wallis C, Ramsey B, Nolan C. Nontuberculous Mycobacterial Disease in Adult Cystic Fibrosis Patients. *Chest* 1993; 103: 1096-99.
8. Olivier KN. Nontuberculous Mycobacteria in the Adult CF Patient Colonizers or Pathogens? Eighth Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Washington DC, 1994.
9. Makluskus I, Levison H. Cystic Fibrosis. In: Chernick V, Boat T (eds). *Disorders of Respiratory tract in children*. 6th ed. New York: Saunders, 1996, p 838.
10. Prince D, Peterson D, Steiner R, Gottlier J, Scott R, Israel H, et al. Infection with *Mycobacterium avium* complex in Patients without Predisposing Conditions. *N Engl J Med* 1989; 321: 863-68.
11. Rigsby M, Curtis A. Pulmonary Disease From Nontuberculous Mycobacteria in Patients With Human Immunodeficiency Virus. *Chest* 1994; 106: 913-9.
12. Griffith D, Girard W, Wallace R. Clinical Features of Pulmonary Disease Caused by Rapidly Growing Mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1271-8.
13. Starke J, Correa A. Management of mycobacterial infection and disease in children. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 455-70.
14. Husson R, Ross L, Sandelli S, Indderlied C, Venzon D,

- Lewis L, et al. Orally administered clarithromycin for the treatment of systemic *Mycobacterium avium* complex infection in children with acquired immunodeficiency syndrome. *J Pediatr* 1994; 124: 807-14.
15. Dautzenberg B, Truffot Ch, Legris S, Meyohas MC, Berlie C, Mercat A, et al. Activity of Clarithromycin against *Mycobacterium avium* infection in Patients with the Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 564-9.
  16. Lewis L, Butler K, Husson N, Mueller B, Fowler C, Steinberg S et al. Defining the population of human immunodeficiency virus-infected children at risk for *Mycobacterium avium-intracellulare* infection. *J Pediatr* 1992; 121: 677-83.
  17. Masur H and the Public Health Service Task Force on Prophylaxis and Therapy for *Mycobacterium avium* complex. Recommendations on prophylaxis and therapy for disseminated *Mycobacterium avium* complex disease in patients infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1993; 329: 898-904.
  18. Lennette E, Balows A, Hausler W, Shadomy H. Manual de Microbiología Clínica. 4ª edición. Buenos Aires: Editorial Panamericana 1987.
  19. OPS/OMS. Manual de Normas y procedimientos técnicos para la bacteriología de la tuberculosis. Nota técnica N° 28. INPPAZ. Martínez 1986.
  20. Instituto Nacional de Microbiología Dr Carlos G. Malbrán. 1994. Manual de Procedimientos para el estudio de la tuberculosis y otras micobacteriosis.
  21. American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of Disease Caused by Nontuberculous Mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: S1-25.
  22. OPS/OMS. Bacteriología de la Tuberculosis. Centro Panamericano de Zoonosis. Martínez, 1988.
  23. Barrera L, Kantor IN, Salinas A. Micobacteria of Clinical Interest. Buenos Aires: M. Casal, 1986, p 286-9.

-----

#### LA PORTADA

Miguel Carlos Victorica (1884-1995). **El médico**. Oleo; 1.24 x 0.96 m.  
Cortesía del Museo Municipal de Bellas Artes Juan B. Castagnino, Rosario, Argentina.

Para datos biográficos del autor, ver MEDICINA (Buenos Aires) 1987; 47: 560.  
En "El médico", dice Claudia Laudano\*, se condensan todas las virtudes estilísticas de Victorica. El motivo es la figura de un médico, que sería probablemente un cirujano, dada la vestimenta y el primerísimo plano otorgado por el artista a las manos.

\* En: Obras del Museo Municipal de Bellas Artes Juan B. Castagnino, Secretaría de Cultura y Educación, Municipalidad de Rosario, 1996, pág. 38.