

# Enfermedades micobacterianas diseminadas en pacientes con VIH/SIDA. Evaluación de los hemocultivos por método rápido

C. COITINHO\*, E. BRANDES, M. PARDIÑAS, C. RIVAS

Laboratorio Bacteriológico y Centro de Referencia Nacional para Micobacterias  
de la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes.

Avda. 18 de julio 2175. 11000 Montevideo. Uruguay.

\*Correspondencia. E-mail: ccoitinho@yahoo.com

## RESUMEN

Mil cuarenta hemocultivos correspondientes a 451 enfermos uruguayos con SIDA y diagnóstico clínico de micobacteriosis diseminada fueron evaluados entre 1999 y 2003. Las muestras fueron procesadas en el Centro de Referencia Nacional para Micobacterias (Montevideo, Uruguay), utilizando el sistema de hemocultivos automatizado para micobacterias MB - BacT (BioMérieux). Se detectaron 45 muestras positivas (4,3%) correspondientes a 26 enfermos (promedio 2,3 muestras por paciente). En 10/26 casos se identificó *M. avium* complex (MAC) y en 13/26 el germen aislado fue *M. tuberculosis*. El tiempo medio de incubación fue de 12,4 días (intervalo 6-19 días) para MAC y de 22,6 días (intervalo 7-35 días) para *M. tuberculosis*. El hemocultivo ha demostrado ser la mejor muestra para la confirmación bacteriológica de las enfermedades micobacterianas diseminadas cuando se estudian por lo menos 2 muestras por paciente. La frecuencia de aislamientos de *M. tuberculosis* y MAC aislados en pacientes con SIDA en Uruguay, corresponde a la de un país con una moderada prevalencia de tuberculosis.

**Palabras clave:** hemocultivos, enfermedad micobacteriana diseminada, SIDA

## SUMMARY

**Disseminated mycobacterial infections in patients with HIV/AIDS. Evaluation of blood cultures.** One thousand-forty blood cultures corresponding to 451 Uruguayan patients with AIDS and clinic diagnosis of disseminated mycobacterial infection were evaluated between 1999 and 2003. Samples were processed in the National Reference Center for Mycobacteria (Montevideo, Uruguay), using the automated blood culture system for mycobacteria MB - BacT (BioMérieux). Forty-five positive samples were detected (4.3%) corresponding to 26 patients with AIDS (average 2.3 samples per patient). In 10/26 patients *M. avium* complex (MAC) was identified and in 13/26 the isolated germ was *M. tuberculosis*. The average time of incubation was of 12.4 days (range 6-19 days) for MAC and of 22.6 days (range 7-35 days) for *M. tuberculosis*. Blood culture has demonstrated to be the best sample for the bacteriological confirmation of the disseminated mycobacterial infections when at least 2 samples by patient are studied. The frequency of isolates of *M. tuberculosis* and MAC in AIDS patients is according with a moderate prevalence of tuberculosis in Uruguay.

**Key words:** blood cultures, disseminated mycobacterial infection, AIDS

La epidemia por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) incrementó el problema de la tuberculosis (TB) y de las enfermedades micobacterianas diseminadas (EMD) en los enfermos con SIDA (5, 13, 14). En los últimos años, en Uruguay se observa un aumento de la incidencia de la coinfección TB/VIH, notificándose 93 casos en el año 2004 (13% de la incidencia anual de casos nuevos de TB) (3). La existencia de EMD por especies o complejos de micobacterias no *Mycobacterium tuberculosis* (MNT) en sujetos inmunodeficientes, especialmente en el SIDA, está bien documentada (1, 2, 4, 13, 14). Estos procesos alcanzan tasas de mortalidad de un 20% a un 50% (8, 13, 14). La rápida recuperación de los microorganismos es de suma importancia para el

diagnóstico, la identificación, y los estudios de resistencia a los antimicrobianos; por ello se instrumentaron técnicas para aislar micobacterias en sangre, como los hemocultivos. Los hemocultivos realizados en Uruguay, con buenos rendimientos, tenían la desventaja de la demora en la obtención de resultados (10); actualmente existen sistemas comerciales de hemocultivos rápidos para micobacterias, útiles para el aislamiento de *M. tuberculosis* y de MNT (1, 6). Se realizó un análisis retrospectivo del rendimiento de los hemocultivos en el diagnóstico de las EMD en pacientes VIH/SIDA utilizando el sistema de hemocultivos rápidos MB-BacT (BioMérieux, L'Étoile, Francia), entre 1999 y 2003, evaluando la frecuencia de las micobacteriosis diseminadas en la pobla-

ción estudiada y estableciendo las especies o complejos predominantes. Se incluyeron un total de 1040 muestras recibidas en el período setiembre de 1999 a setiembre de 2003, correspondientes a 451 pacientes con diagnóstico presuntivo de EMD procedentes del Servicio Hospitalario de Enfermedades Infecciosas del MSP donde se centralizan los enfermos VIH/SIDA. Los datos clínicos que más frecuentemente acompañaron la solicitud del hemocultivo fueron: síndrome febril prolongado, fiebre de origen desconocido (FOD), anemia, repercusión general y adelgazamiento, hepatoesplenomegalia, poliadenomegalias y diarrea. Se recomendó la extracción seriada de tres muestras de sangre (5 a 10 ml) en días consecutivos, obtenidas asépticamente por venopunción. La sangre se recolectó en tubos estériles con heparina o polianetol sulfonato sódico como anticoagulantes. Cinco ml de sangre de cada muestra se inocularon en botellas de cultivo MB-BacT y se incubaron durante 42 días, al cabo de los cuales, de no existir desarrollo bacteriano, se informaron como negativas. Cuando el sistema MB-BacT detectó una muestra positiva, se extrajo 1 ml de medio de cultivo y se centrifugó a 3000 g x 20 minutos; con el sedimento se realizaron: a) tinción para micobacterias (Ziehl-Neelsen) y b) subcultivos en medio de Löwenstein Jensen incubados a 37 °C, durante 8 semanas. Si los extendidos eran positivos para bacilos ácido-alcohol resistentes la muestra se consideró positiva. La identificación bacteriológica se realizó según la velocidad de desarrollo, temperatura óptima de crecimiento, producción de pigmento y pruebas bioquímicas: producción de niacina, nitrato reductasa, catalasa termoestable 68 °C, ureasa, arilsulfatasa (3 y 14 días), hidrólisis de Tween 80 y reducción de telurito.

Sobre un total de 1040 muestras procesadas (451 pacientes), 45 (4,3%) resultaron positivas para micobacterias y 995 (95,7%) negativas. En 876 muestras (84,3%) no se observó desarrollo bacteriano, en el 11,4% se observó desarrollo de otros gérmenes. Las 45 muestras positivas correspondieron a 27 pacientes; en 26, se confirmó la infección por VIH/SIDA; el promedio de muestras enviadas por paciente fue de 2,3 (intervalo 1-5). Cinco pacientes se estudiaron con una sola muestra, 10 con 2,5, 4 con 3,5 y 1 con 5 muestras. El rendimiento de los positivos se incrementó con el aumento del número de muestras de la serie, diagnosticándose el mayor número con series de dos y 3 muestras. En 10 pacientes se identificó MAC como etiología de la EMD; en 1 paciente se estableció una doble etiología aislándose MAC y *M. tuberculosis*, en 13 pacientes se aisló *M. tuberculosis* y en 2 pacientes no se logró la identificación micobacteriana. El tiempo promedio para el primoaislamiento de MAC fue de 12,4 días (intervalo 6-19) y de 22,6 días promedio (intervalo 7-35) para *M. tuberculosis*. A 4/10 pacientes con MAC se les encontraron otras muestras positivas (médula ósea, materia fecal y expectoración); de un enfermo se recibieron además muestras de orina y expectoración con resultados

negativos. En el grupo de pacientes con *M. tuberculosis*, 8/13 tenían otras muestras positivas además del hemocultivo (biopsia de ganglio, pus de partes blandas y lavado bronquial por fibrobroncoscopia), 3 pacientes fueron estudiados con otras muestras las cuales resultaron negativas. Finalmente dos pacientes tenían hemocultivos como muestras únicas.

La centralización nacional de los hemocultivos para micobacterias asegura la representatividad de la población estudiada y permite comparar resultados en el tiempo. Desde el avance de la epidemia VIH/SIDA existen reportes sobre la detección de micobacterias en sangre en diferentes países; Esteban *et al.* encontraron 10,3% de hemocultivos positivos en 541 muestras analizadas (4). Oplustil *et al.* hallaron un 16% de micobacteriemias en 530 muestras analizadas (8). Truffot-Pernot *et al.* (12) encontraron resultados positivos en un 10,8% de 564 muestras analizadas. En nuestro país, en 1998, Rivas *et al.* encontraron un 9,1% de muestras positivas sobre 187 hemocultivos evaluados, utilizando el medio de Middlebrook 7H9; existiendo un neto predominio de MAC (10). La frecuencia similar de aislamientos de MAC y *M. tuberculosis* en el estudio actual evidencia un cambio en las especies predominantes en las EMD en pacientes con VIH/SIDA. El menor porcentaje de muestras positivas respecto al hallado por Rivas en 1998 podría explicarse por la investigación sistemática de EMD en protocolos que incluyen hemocultivos, determinando una baja en la prevalencia de la EMD en la población estudiada o, al descenso del número de enfermos que cursan EMD, tal como ha estado ocurriendo últimamente (6, 8, 9). Algunos autores afirman detectar entre un 90 y un 95% de los positivos con una sola muestra y que la mejora obtenida con el envío de más muestras no sería significativa (1, 6, 11). Nuestros resultados sugieren que el número ideal de muestras seriadas es entre 2 y 3; series mayores parecerían no lograr una mejor recuperación, con el consiguiente aumento de costos. La existencia de pacientes con hemocultivos, como únicas muestras positivas, reafirma la utilidad de este tipo de procedimientos y la necesidad de laboratorios que permitan su procesamiento adecuado. En Uruguay debe prestarse atención a la etiología por *M. tuberculosis* en las EMD ya que constituye el 50% de las muestras, y la mortalidad es significativamente alta (10/13 enfermos fallecieron dentro de los primeros 3 meses de efectuado el diagnóstico). Los métodos automatizados para hemocultivos de micobacterias presentan numerosas ventajas técnicas; la más importante es el menor tiempo para confirmar el diagnóstico. La diferencia en el tiempo de detección entre *M. tuberculosis* y MAC (22,6 y 12,4 días de promedio, respectivamente) con el Sistema MB-BacT es un hecho interesante, observado en otros tipos de muestras. Los hemocultivos para micobacterias por sistemas automatizados son una herramienta útil para la confirmación de las EMD en enfermos VIH/SIDA; en la actualidad las

etiologías casi exclusivas son *M. tuberculosis* y MAC en porcentajes similares; estos hallazgos estarían acordes a una situación epidemiológica de la TB intermedia entre países desarrollados y en vías de desarrollo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Archibald LK, Dobbie H, Kazembe P, Nwanyanwu O, McKnight C, Byrne T *et al.* (2001) Utility of paired BACTEC MYCO/F LYTIC blood culture vials for detection of bacteremia, mycobacteremia, and fungemia. *J. Clin. Microbiol.* 39: 1960-1962.
2. Chin DP, Reingold AL, Stone EN, Vittinghoff E, Horsburgh CR Jr, Simon E M *et al.* (1994) The impact of *Mycobacterium avium* Complex bacteremia and its treatment on survival of AIDS patients-A prospective study. *J. Infect. Dis.* 170: 578-584.
3. Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes (2004) Cifras Oficiales sobre tuberculosis año 2004. Memorias anuales. Montevideo, Uruguay.
4. Esteban J, Molleja A, Fernández-Roblas R, Soriano F. (1998) Number of days required for recovery of mycobacteria from blood and other samples. *J. Clin. Microbiol.* 36: 1456-1457.
5. Heifets L (1997) Mycobacteriology laboratory. *Clin. Chest Med.* 18: 35-53.
6. Gordin FM, Horsburgh J Jr (2005) *Mycobacterium avium* Complex. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Ed), *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Churchill-Livingstone, New York, p. 2897-2909.
7. Nightingale SD, Byrd LT, Southern PM, Jockusch JD, Cal SX, Wynne BA (1992). Incidence of *Mycobacterium avium-intracellulare* complex bacteremia in human immunodeficiency virus-positive patients. *J. Infect. Dis.* 165: 1082-1085.
8. Oplustil CP, Leite OHM, Oliveira MS, Sinto SI, Uip DE, Boulos M *et al.* (2001) Detection of Mycobacteria in the bloodstream of patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome in a University Hospital in Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 5: 252-259.
9. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (2003). Pautas para la prevención de infecciones oportunistas en personas con VIH o SIDA en América Latina y el Caribe. Actualización 2003. Washington, Estados Unidos de América.
10. Rivas CM, Corbo M, Dafond V (1999) Hemocultivos convencionales para *Mycobacterium* spp. en enfermos con SIDA. *Rev. Med. Uruguay* 15: 199-202.
11. Stone BL, Cohn DL, Kane MS, Hildred MV, Wilson ML, Reves RR (1994) Utility of paired blood cultures and smears in diagnosis of disseminated *Mycobacterium avium* Complex infections in AIDS patients. *J. Clin. Microbiol.* 32: 841-842.
12. Truffot-Pernot C, Lecouer HF, Maury L, Dautzenberg B, Grosset J (1989) Results of blood cultures for detection of mycobacteria in AIDS patients. *Tubercle* 70: 187-191.
13. Witebsky FG, Conville PS (1993) The laboratory diagnosis of mycobacterial diseases. En: Saunders WB (Ed) *Infectious Disease Clinics of North America. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases*, Philadelphia, p. 359-376.
14. Woods GL (2002) The mycobacteriology laboratory and new diagnostic techniques. En: Saunders WB (Ed) *Infectious Disease Clinics of North America. Mycobacterial Infections*, Philadelphia, p. 127-144.