

MGIT y otros métodos para diagnosticar tuberculosis en un sistema hospitalario privado con baja incidencia

Claudia Elena Guajardo-Lara,^a
 Martha Idalia Saldaña-Ramírez,^a
 Nayelly Nohemí Hernández-Galván,^a
 Miguel Adrián Dimas-Adame,^a
 Juan Jacobo Ayala-Gaytán,^b
 Salvador Bruno Valdovinos-Chávez^c

MGIT and other methods for diagnosing tuberculosis in a private hospital system with low incidence

Background: Tuberculosis (TB) is still a threat to public health; in 2014 caused 1.5 million deaths worldwide; in hospitals where the prevalence of TB is low, it is appropriate to evaluate the effectiveness of tests to diagnose it.

Methods: We reviewed reports of airway clinical specimens sent for studies of tuberculosis to the microbiology laboratory from Tec Salud System private hospitals (400 beds) in the metropolitan area of Monterrey, NL, from May 2012 to December 2015. In conjunction with Ziehl-Neelsen (ZN) stain, and solid Lowenstein-Jensen medium (LJ), our laboratory resources also include fluorescent LED microscopy (Carl Zeiss Microscopy Products), MGIT 320 (Mycobacteria Growth Indicator Tube liquid culture detection system, Becton Dickinson), and recently incorporated a real-time PCR system the Xpert MTB/RIF test (Cepheid, Sunnyvale, CA).

Results: In 731 respiratory specimens from 510 patients, *M. tuberculosis* was isolated from 78 samples belonging to 50 patients on LJ and MGIT LJ 42 (84%) and MGIT 49, (98%) of the samples. From 41 patients identified, 26 (63.4%) were positive to fluorescein, and 25 (60.9%) with Ziehl-Neelsen stain. Real time PCR (Xpert TB) was positive in 13 out of 17 patient-airway samples (76.4%).

Conclusions: Usefulness of liquid culture (MGIT) and solid culture (LJ) is shown; the first can significantly cut incubation times.

Keywords

Mycobacterium Tuberculosis

Tuberculosis

Diagnosis

Palabras clave

Mycobacterium Tuberculosis

Tuberculosis

Diagnóstico

Recibido: 09/08/2016

Aceptado: 02/05/2017

Desde hace dos décadas, la Organización Mundial de la Salud (OMS), monitoriza los casos de tuberculosis (TB) de 205 países que representan el 99% de la población mundial; con esta información documenta los avances logrados en la prevención, diagnóstico y tratamiento de la TB, e identifica áreas que deben ser reforzadas.¹

Con ello establece metas para un diagnóstico y tratamiento efectivo, gracias a lo cual se logra reducir la mortalidad en un 47% contabilizable a partir del año 2000; además, se disminuye la incidencia un 1.5% anual (18% acumulado), y se evitan 43 millones de muertes.

A pesar de los avances, la TB es aún una de las más importantes amenazas a la salud pública mundial; en el año de 2014 causó 1.5 millones de muertes, 400 000 de ellas en portadores del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), para un total de 9.6 millones de enfermos de TB; de los cuales 480 000 se consideran multidrogo resistentes (TBMDR).

La OMS estratifica los países de acuerdo a la incidencia de casos de TB por 100 000 habitantes en: alta (> 300 casos), media (100-300 casos) moderada (30-100 casos) y baja (< 30 casos); México se encuentra en este último grupo.^{1,2,3} Asimismo, recomienda la rápida detección de la enfermedad mediante nuevas herramientas para la detección y el diagnóstico, como los medios de cultivo líquido, el microscopio de fluorescencia LED y, recientemente, las pruebas automatizadas de amplificación de ácidos nucleicos en tiempo real.^{4,5,6} También recomienda determinar la efectividad de las pruebas, sobre todo en los sitios donde es baja la prevalencia de la TB en la población. En nuestro centro, la mayor parte de las pruebas que son enviadas al laboratorio de microbiología, provienen de pacientes que se someten a estudios instrumentados para obtener muestras de secreción bronquial, con el objeto de descartar la presencia de micobacterias. Por ello, consideramos útil determinar la efectividad de las pruebas que se realizan en nuestros hospitales para el diagnóstico de TB.

Material y métodos

Se revisó la experiencia en el Sistema Tec-Salud, que incluye 2 hospitales de enseñanza privados, (certificados por el Consejo de Salubridad General), de tercer nivel, el Hospital San José Tec de Monterrey y el Centro Médico

^aTecSalud, Hospital Zambrano Hellion, Laboratorio de Microbiología. Monterrey, Nuevo León, México

^bTecSalud, Hospital Zambrano Hellion, Unidad de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria. Monterrey, Nuevo León, México

^cTecnológico de Monterrey Campus Monterrey, Escuela Nacional de Medicina y Ciencias de la Salud. Monterrey, Nuevo León, México

Comunicación con: Juan Jacobo Ayala Gaytán

Teléfono: (81) 8347 1010, extensiones 2383 y 2378

Correo electrónico: jacoboyala@medicos.tecsalud.mx

Introducción: la tuberculosis (TB) aún es una amenaza para la salud pública; en 2014 causó 1.5 millones de muertes a nivel mundial. En hospitales donde la prevalencia de TB es baja, resulta conveniente evaluar la efectividad de las pruebas para diagnosticarla.

Métodos: revisamos los informes de resultados de muestras de vías respiratorias enviadas para estudios de tuberculosis de mayo de 2012 a diciembre de 2015 al laboratorio de microbiología del Sistema Tec Salud (400 camas) en el área metropolitana de Monterrey. Además de la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) y cultivo sólido de Lowenstein-Jensen (LJ); se realizó fluorescencia LED, cultivo en medio líquido MGIT 320 y más recientemente el Xpert MTB/RIF test.

Resultados: se cultivaron en LJ y MGIT 731 muestras de vías respiratorias de 510 pacientes; en las muestras de 50 de ellos se identificó *M. tuberculosis*, 49 en MGIT (98%) y 42 en LJ (84%). De las muestras correspondientes a 41 pacientes, 26 (63.4%) fueron positivas con fluoresceína, y 25 (60.9%) con ZN. En las muestras de 17 pacientes se hizo PCR en tiempo real (Xpert MTB), 13 fueron positivas (76.4%).

Conclusiones: se demuestra la utilidad del cultivo en medio líquido (MGIT) y del LJ en medio sólido; el primero, además de ser más sensible, permite acortar en forma importante los tiempos de incubación.

Zambrano Hellion, que tienen un total aproximado de 400 camas, el Sistema cuenta con un laboratorio central de Microbiología; en el área de micobacterias, además de efectuar las tinciones habituales de Ziehl-Neelsen (ZN) y cultivo sólido de Lowenstein-Jensen (LJ), en apego a las recomendaciones de la OMS, se han agregado: fluorescencia LED (Carl Zeiss, Microscopy Products, Division Plant Gottingen, D-37081 Gottingen), cultivos en medio líquido BD Bactec MGIT (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD) y Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, California).

De acuerdo con los manuales de procedimientos,⁷ desde mayo del 2012, cultivamos en medio sólido y líquido las muestras a la par, revisamos los resultados del cultivo de muestras de vías respiratorias de pacientes sin diagnóstico previo de tuberculosis, en los que se aisló, por vez primera, *Mycobacterium tuberculosis*; ello con el propósito primario de determinar la utilidad del MGIT para detectar y diagnosticar la TB; además, comparamos la utilidad de la microscopía de fluorescencia LED con la de la tinción ZN, en los casos en que se solicitó efectuar la tinción ZN, ya que los exámenes se efectúan bajo pedido específico, dadas las características de ser un sistema hospitalario privado. Colectamos la información demográfica de los pacientes, enfermedades subyacentes y los datos en la radiografía de tórax; finalmente revisamos los resultados de las muestras en que se efectuó Xpert MTB/RIF, que es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos recientemente incorporada a los recursos de nuestro hospital.

Resultados

En los 3 años 8 meses que abarcó el estudio, se cultivaron 731 muestras de vías respiratorias en LJ y MGIT de forma paralela, correspondientes a 510 pacientes, de las cuales 78 muestras de 50 pacientes fueron positivas para *Mycobacterium tuberculosis* (1.6 pruebas por paciente) (cuadro I).

Cuadro I Características de los 50 pacientes en quienes se identificó *M. tuberculosis*

	n (%)
Femenino	24 (48%)
Masculino	26 (52%)
Media de edad (años)	38.8
Mediana de edad (años)	27.5
Rango de edad (años)	16-85
Enfermedades subyacentes	24 (48%)
Diabetes mellitus	7 (30%)
Neoplasia	6 (26%)
Inmunosuprimidos	6 (26%)
Enfermedad pulmonar	5 (18%)
Hallazgos radiográficos sugestivos	10 (20%)
Pacientes con cultivo MTB (+)	50
MGIT (+) medio líquido	49 (98%)
Lowenstein-Jensen medio sólido	42 (84%)
Tinciones realizadas	
Fluorescencia	26 (63.4%)
Ziehl-Neelsen	25 (60.9%)
Muestras para GeneXpert MTB-RIF	17
GeneXpert (+)	13 (76.4%)

Todos los pacientes provenían de estrato socioeconómico medio-alto y alto, predominó el sexo masculino y el promedio de edad fue de 39 años.

En 24 pacientes (48%) se registró una enfermedad subyacente obvia, con un predominio de diabetes mellitus en 30% y otras enfermedades con inmunocompromiso, en nuestra serie no hubo casos con infección por VIH.

Solamente en las radiografías del tórax de 10 de los 50 pacientes (7 mujeres y 3 hombres, con una mediana de edad de 27.5 años, y un rango de 18 a 54 años) se observaron alteraciones clásicas que sugirieron el diagnóstico de tuberculosis pulmonar (infiltrados apicales, cavitaciones, etc.). En el MGIT crecieron 49 de las 50 muestras (98%), mientras que en el LJ, 42 (84%); las primeras tardaron en promedio 2.6 semanas para crecer con un rango de 2-7 semanas; y en el medio sólido LJ las 42 muestras tardaron en promedio 3.8 semanas para crecer con un rango de 1-8 semanas (IC95%: -0.12 - 2.56, $p = 0.743$) (figura 1).

A 41 de los 50 pacientes se les solicitaron tinciones realizadas a la par con ZN y con tinción fluorescente de auramina-rodamina, 25 fueron ZN positivas (60.9%), y 26 con microscopía fluorescente también resultaron positivas (63.4%).

Como la prueba de Xpert TB se efectúa recientemente en el laboratorio, esta solo se solicitó en 17 de estos 50 pacientes, y resultó positiva en 13 (76.4%). En 2 de los Xpert TB positivos, las tinciones fueron negativas.

Discusión

En el 2007 la OMS recomendó, como método rutinario en la identificación y el diagnóstico de la TB, la utilización de medios líquidos tanto para cultivar como para efectuar las pruebas de susceptibilidad del bacilo,^{3,4} al demostrarse

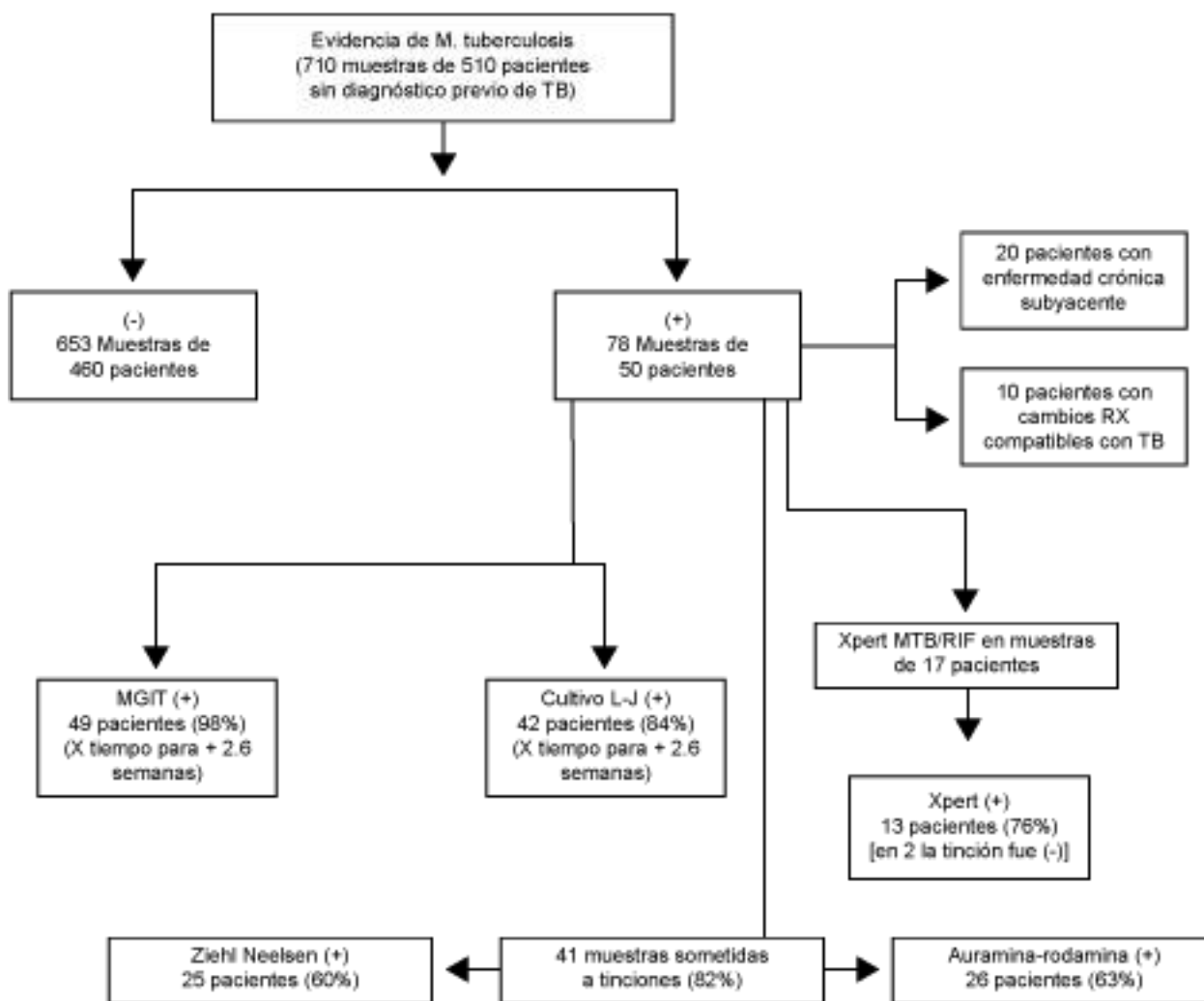


Figura 1 Evidencia de *M. tuberculosis* en 731 muestras de secreción bronquial de 510 pacientes sin diagnóstico previo de tuberculosis, enviadas al laboratorio de microbiología del complejo hospitalario privado Tec Salud, en Monterrey, N.L. (México)

mayor sensibilidad que con el cultivo sólido de LJ, además de una importante reducción en los tiempos de incubación;^{2,8,9,10,11} lo que confirmamos en los resultados que obtuvimos.

Sin embargo, no deja de ser importante el cultivo en medio sólido ya que permite ver la morfología de la colonia, detectar mezclas de cultivos y permite cuantificar el crecimiento, ya que algunas cepas micobacterianas solo crecen en el medio sólido; por ello, la recomendación es realizar al mismo tiempo los cultivos sólido y líquido.⁹

Una vez que ha dado positivo el cultivo en medio líquido, su beneficio se disminuye si no se inician rápidamente las pruebas de identificación de especie, proceso que en nuestro laboratorio realizamos por el método bioquímico convencional, lo que consume mucho tiempo (3 a 5 semanas adicionales); además estas pruebas son complicadas, laboriosas y en ocasiones con resultados confusos,¹² por lo que en estos casos podría utilizarse el Sistema Xpert MTB/RIF,¹³ que es una prueba rápida y específica, pero sofisticada y costosa. En el año 2009, la división de diagnósticos de BD lanzó al mercado el BD MGIT TBc que detecta a la proteína MPB64, que es específica de *M. tuberculosis* y algunas cepas de *M. bovis*, este método se basa en una técnica inmunocromatográfica, fácil de usar, con resultados en 15 minutos, y no requiere de instrumentos adicionales, ni del LJ;¹⁴ sin embargo, en nuestro laboratorio no contamos con dicha técnica aún.

Aunque se sigue considerando al cultivo como el estándar de oro para TB, no se contempla como una prueba inicial, dado lo tardado para obtener resultados, y más bien se recomienda efectuarlo con, o después de, la microscopia de expectoración o del estudio molecular Xpert MTB/RIF.^{1,2}

Pese a que la tinción de ZN tiene una sensibilidad del 61% o menor,^{2,14} este método continúa como el principal método para detectar *Mycobacterium tuberculosis*, dada su rapidez y su bajo costo; con base en lo anterior, para aumentar al menos un 10% la efectividad, la OMS recomienda agregar la microscopia de fluorescencia DEL.^{5,15} En nuestro estudio, los resultados con ambos métodos fueron semejantes y no mostraron dicha superioridad, debido probablemente a que el tamaño de la muestra es muy pequeño.

Hasta el momento hemos realizado en muestras respiratorias alrededor de 100 pruebas de Xpert MTB/RIF, que correspondieron a unos 90 pacientes. La sensibilidad de este método en muestras de expectoración, en sitios de alta incidencia de TB y con escasos recursos para diagnóstico, es mayor al 90%,^{2,6,15} pero en sitios que no reúnen las anteriores características surgen diferencias que se extienden incluso a la forma en que se obtiene la muestra. Sohn y colaboradores¹⁶ encontraron una sensibilidad del 46% con el Xpert en 25 pacientes con cultivo positivo, y observaron que la sensibilidad se elevó hasta el 86% en 7 pacientes que también tenían la tinción ZN positiva, y bajó a 28% cuando la tinción fue negativa. En nuestra serie tuvimos una sensibilidad del 76%, subió al 89% en los 9 pacientes que también tenían positiva la tinción, y

observamos Xpert positivo en 2 de 5 pacientes cuyas muestras fueron Z-N negativas.

Por ello, la utilidad del Xpert depende de diversos factores: incidencia, recursos y uno muy importante, que es lo avanzado de la enfermedad.^{16,17,18} En nuestros casos, solo el 20% tuvieron sospecha radiológica, y al igual que en los casos de Sohn y colaboradores,¹⁶ las muestras que fueron enviadas a nuestro laboratorio no correspondieron a casos avanzados.

En individuos que son sintomáticos respiratorios en poblaciones como la del presente estudio, los CDC recomiendan efectuar, cuando menos, una prueba de amplificación de ácidos nucleicos en una muestra de vías respiratorias.¹⁹

Aunque en las últimas 2 décadas se ha logrado disminuir la incidencia de la TB, aún falta mucho para erradicarla, entendiéndose esto como < de 1 caso de TB por cada millón de habitantes por año.²⁰ Para un control efectivo se necesita de un diagnóstico lo más temprano posible, lo cual permitirá establecer a tiempo las precauciones de vía aérea, acción que contribuirá a evitar la transmisión, además de permitir un tratamiento curativo efectivo que suprima la transmisión. El diagnóstico temprano también permitirá investigar a los contactos de manera más temprana, situación que resulta esencial para prevenir y detectar nuevos casos de TB.^{20,21,22,23}

Conclusiones

Con el presente trabajo demostramos la utilidad de realizar el cultivo en medio líquido (MGIT) a la par del tradicional de LJ en medio sólido; debido a que además de ser más sensible, permite acortar en forma importante los tiempos de incubación.

No obstante, para obtener la mayor utilidad, debe considerarse conjuntamente con las pruebas de susceptibilidad, la prueba inmunocromatográfica MGIT TBc, lo que favorece la identificación rápida de especie.

Por otro lado, en nuestro medio, debido a la poca cantidad de muestras que recibimos, no observamos mayor beneficio con el uso del microscopio de fluorescencia DEL.

Al igual que en otros sitios que registran baja incidencia de TB como el nuestro, la experiencia observada con la técnica molecular Xpert MTB/RIF es buena, por lo que recomendamos mayor difusión de este método, de tal forma que permita ser realizado al menos en una muestra en todos los pacientes con sospecha de TB.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Referencias

- World Health Organization. Global Report Tuberculosis Report 2015, 20th edition, WHO. Geneva, Switzerland: WHO; 2015.
- World Health Organization. Systematic screening for active tuberculosis. Principles and recommendations. Geneva, Switzerland: WHO; 2013.
- Flores-Ibarra AA, Ochoa-Vázquez MD, Sánchez-Tec GA. Estrategias diagnósticas aplicadas en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2016;54(1):122-7.
- World Health Organization. Use of liquid TB culture and drug susceptibility testing (DST) in low and medium income settings. Summary report of the expert group meeting on the use of liquid culture media. Geneva, Switzerland: WHO; 2007.
- World Health Organization. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis. Policy statement. Geneva, Switzerland: WHO; 2011.
- World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. Geneva, Switzerland: WHO; 2011.
- Centers for Disease Control. Laboratory manual of mycobacteria. Taipei, Taiwan: Centers for Disease Control; 2004.
- Fitzgerald DW, Sterling TR, Haas DW. Mycobacterium tuberculosis. En: Bennett JE, Dolan R, Blaser MJ, Eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone; 2015: chap 251. pp. 2787-818.
- Cruciani M, Scarparo C, Malena M, Bosco O, Serpelloni G, Mengoli C. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 2004;42:2321-5.
- Tyrrell FC, Budnick GE, Elliott T, Gillim-Ross L, Hildred MV, Mahlmeister P, et al. Probability of negative Mycobacterium tuberculosis complex cultures based on time to detection of positive cultures: a multicenter evaluation of commercial-broth-based culture systems. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3275-82.
- Moreira-Ada S, Huf G, Vieira MA, Costa PA, Aguiar F, Marsico AG, et al. Liquid vs. solid culture medium to evaluate proportion and time to change in management of suspects of tuberculosis - A pragmatic randomized trial in secondary and tertiary health care units in Brazil. *PLoS One.* 2015;10(6):e0127588.
- Kim CH, Hyun IG, Hwang YI, Kim DG, Lee CY, Lee MG, et al. Identification of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance in clinical specimens using the Xpert MTB/RIF assay. *Ann Clin Lab Sci.* 2015;45:32-8.
- Yu MC, Chien HY, Wu M, Huang W, Kuo Y, Yu F, Jou R. Evaluation of the rapid MGIT TBc identification test for culture confirmation of Mycobacterium tuberculosis complex strain detection. *J Clin Microbiol.* 2011;49:802-7.
- Reid MJ, Shah NS. Approaches to tuberculosis screening and diagnosis in people with HIV in resource-limited settings. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:173-84.
- World Health Organization. Framework for implementing new tuberculosis diagnostics. Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
- Sohn H, Aero AD, Menzies D, Behr M, Schwartzman K, Alvarez GG, et al. Xpert MTB/RIF testing in a low tuberculosis incidence, high-resource setting: limitations in accuracy and clinical impact. *Clin Infect Dis.* 2014;58:970-6.
- Salfinger M. Molecular laboratory testing for tuberculosis: innovators, early adopters, or laggards? *Clin Infect Dis.* 2014;58:977-9.
- Pinyopornpanish K, Chaiwarith R, Pantip C, Keawwichit R, Wongworapat K, Khamnoi P, et al. Comparison of Xpert MTB/RIF assay and the conventional sputum microscopy in detecting Mycobacterium tuberculosis in Northern Thailand. *Tuberc Res Treat.* 2015;571782:1-6.
- Marlowe EM, Novak-Weekley SM, Cumpio J, Sharp SE, Momeny MA, Babst A, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1621-3.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009;58:7-10.
- Taylor Z, Nolan CM, Blumberg HM; American Thoracic Society; Centers for Disease Control and Prevention; Infectious Diseases Society of America. Controlling tuberculosis in the United States. Recommendations from the American Thoracic Society, CDC, and the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2005;54(RR-12):1-81.
- Haddad MB, Mitruka K, Oeltmann JE, Johns EB, Navin TR. Characteristics of tuberculosis cases that started outbreaks in the United States, 2002-2011. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:508-10.
- Salinas JL, Mindra G, Haddad MB, Pratt R, Price SF, Langer AJ. Leveling of Tuberculosis incidence - United States, 2013-2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:273-8.

Cómo citar este artículo:

Guajardo-Lara CE, Saldaña-Ramírez MI, Hernández-Galván NN, Dimas-Adame MA, Ayala-Gaytán JJ, Valdovinos-Chávez SB. MGIT y otros métodos para diagnosticar tuberculosis en un sistema hospitalario privado con baja incidencia. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2018;56(2):158-62.