

# BACTERIOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS

M. CASAL ROMAN\*

Facultad de Medicina.  
Universidad de Córdoba.

## Introducción

Desde 1969 venimos dedicando una atención preferente al estudio bacteriológico de la tuberculosis.

En nuestros trabajos hemos analizado el gran descenso habido en las cifras de esta enfermedad en nuestro país entre los años 1950 a 1970, pero también hemos llamado la atención del estancamiento de los últimos años, con un ritmo de descenso muy lento, y la necesidad de introducir nuevos elementos de tipo bacteriológico en la lucha antituberculosa, si queremos rebajar estas cifras.

Esto no se ha llevado a cabo hasta el momento presente. No se ha utilizado a escala nacional, de manera total y organizada, la bacteriología de la tuberculosis. Y no sólo tenemos población tuberculosa vieja y crónica, sino que sigue habiendo nuevos casos cada día, como manifiestan nuestros clínicos, que se muestran preocupados ante este problema.

Este hecho nos hace insistir, una vez más, a exponer estas consideraciones acerca de la necesidad de la introducción, sin más demora, de la bacteriología en la lucha antituberculosa en España.

No queremos decir que pensemos se deba prescindir de la radiografía, vacunación, investigación tuberculínica, etc., sino solamente que creemos que en el momento actual debe tenerse en

cuenta la bacteriología, completada o como complemento, según las normas generales que se acuerden de lucha antituberculosa a escala nacional con todos los demás aspectos antes citados, en mayor o menor medida.

Estamos convencidos de que hoy día el laboratorio de bacteriología es el arma definitiva para «confirmar» a un enfermo sospechoso de tuberculosis. Y no sólo eso, sino que como intentaremos exponer a continuación es factor fundamental a tener en cuenta en la actual estrategia para llevar a cabo una lucha científica contra la tuberculosis que aún existe en nuestro país.

Hoy día, ya por nadie es discutida la importancia que la bacteriología tiene en la lucha antituberculosa. Y ello gracias a los esfuerzos de dos organizaciones que han contribuido decisivamente a esa mentalización. La Unión Internacional Contra la Tuberculosis (UICT) por un lado con los trabajos de sus miembros que han aportado hechos convincentes, y la Organización Mundial para la Salud (OMS) por otro con sus Comités de Expertos y sus recomendaciones.

Voy a tratar de exponer los hechos básicos sobre la bacteriología de la tuberculosis, y todo ello con un enfoque eminentemente clínico, no microbiológico, para los lectores de la revista, no deteniéndome en los detalles técnicos bacteriológicos, que el lector interesado puede encontrarlo en otras publicaciones específicas<sup>1</sup>.

Desde el punto de vista conceptual y como introducción al tema, hemos de recordar que la tuberculosis humana está ocasionada por unas especies del género *Mycobacterium* que pueden ser *Mycobacte-*

Recibido el día 8 de septiembre de 1983.

\* Catedrático de Microbiología y Parasitología.

\* Director Centro de Referencias de Micobacterias.

\* Miembro de la European Society of Mycobacteriology (ESM).

*rium tuberculosis* la más frecuente, y *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium africanum* en menor orden de frecuencia, en nuestro país.

El género *Mycobacterium* lo constituyen un total de 49 especies válidas hoy aceptadas<sup>2,3</sup> (tabla I).

Hoy día las micobacterias de interés en patología humana, bien porque puedan ser patógenas o bien porque puedan aislarse de productos patológicos y provocaremos confusiones, si no pensamos en su existencia, pueden clasificarse en seis grupos desde el punto de vista bacteriológico<sup>4,5</sup> (tabla II).

A su vez de todas ellas hay sólo algunas que suelen ser patógenas, otras pueden ser patógenas oportunistas y otras que suelen ser saprofitas y puedan encontrarse en productos humanos<sup>6</sup> (tabla III); cada una de ellas produce un tipo de patología predominante<sup>7</sup> (tabla IV).

### Utilidad actual de la bacteriología de la tuberculosis

Hoy día la bacteriología de la tuberculosis (y otras micobacteriosis)<sup>1</sup> tiene una gran importancia a la hora del diagnóstico, tratamiento y prevención de la enfermedad y ello desde el punto de vista bien individual del enfermo aislado o bien desde el punto de vista colectivo de la comunidad<sup>8</sup>.

Así desde el punto de vista individual y en relación al diagnóstico de la enfermedad nos va a ser

de gran utilidad para «confirmar» cualquier caso en el que se haya hecho un diagnóstico previo clínico, anatomopatológico o inmunológico, ya que sabemos que estos tres aspectos son muy comunes para cualquier tipo de micobacteriosis sin diferencias claras en cada caso e incluso pueden ser confusos en algunos casos de otras enfermedades infecciosas (hongos, etc.) para personal sanitario no muy experto. Caso este que cada vez ocurrirá más ya que la tuberculosis hoy se diagnostica por primera vez por personal no especializado, al contrario de lo que ocurría hace algunos años donde los tisiólogos eran casi exclusivamente los que diagnosticaban y trataban esta enfermedad. Este hecho se ve agravado por la falta de conciencia sanitaria que existe actualmente en nuestro país sobre esta enfermedad, que ha dado lugar a la idea «falsa» de que la tuberculosis es una enfermedad que ya «no se ve» si junto a esto añadimos, la poca atención que se le suele prestar en las facultades de Medicina en comparación con otras entidades interesantes por su novedad pero de insignificante incidencia, así como la falta de política sanitaria de nuestro Ministerio en este sentido desde que desapareció el antiguo Patronato Antituberculoso, llegaremos a comprender como es muy recomendable que hoy cualquier médico que sospeche pueda estar ante un caso de tuberculosis utilice una ayuda fácil y asequible como es la bacteriología que será

TABLA I

Especies de micobacterias que han sido aceptadas como válidas hasta enero de 1983 (Wayne, 1983)

I. MICOBACTERIAS CUYO RESERVORIO SON LOS MAMIFEROS INFECTADOS			
A. Especies patógenas para el hombre		B. Especies patógenas para otros animales	
1. <i>M. africanum</i>		5. <i>M. lepraemurium</i>	
2. <i>M. bovis</i>		6. <i>M. microti</i>	
3. <i>M. leprae</i>		7. <i>M. paratuberculosis</i>	
4. <i>M. tuberculosis</i>			
II. MICOBACTERIAS DE CRECIMIENTO LENTO CUYO RESERVORIO PRINCIPAL ES EL MEDIO AMBIENTE			
A. Especies asociadas a enfermedades humanas		B. Especies que nunca o raramente se asocian a enfermedades humanas	
8. <i>M. asiaticum</i>	15. <i>M. scrofulaceum</i>	21. <i>M. farcinogenes</i>	
9. <i>M. avium</i>	16. <i>M. shimoidei</i>	22. <i>M. gastri</i>	
10. <i>M. haemophilum</i>	17. <i>M. simiae</i>	23. <i>M. gordonae</i>	
11. <i>M. intracellulare</i>	18. <i>M. szulgai</i>	24. <i>M. nonchromogenicum</i>	
12. <i>M. kansasii</i>	19. <i>M. ulcerans</i>	25. <i>M. terrae</i>	
13. <i>M. malmoense</i>	20. <i>M. xenopi</i>	26. <i>M. triviale</i>	
14. <i>M. marinum</i>			
III. MICOBACTERIAS DE CRECIMIENTO RAPIDO CUYO RESERVORIO PROBABLE ES EL MEDIO AMBIENTE			
A. Especies asociadas a enfermedades humanas		B. Especies que nunca o raramente se asocian a enfermedades humanas	
27. <i>M. chelonae</i>	29. <i>M. agri</i>	36. <i>M. gadium</i>	43. <i>M. rhodesiae</i>
28. <i>M. fortuitum</i>	30. <i>M. aichiense</i>	37. <i>M. gilvum</i>	44. <i>M. senegalense</i>
	31. <i>M. aurum</i>	38. <i>M. komossense</i>	45. <i>M. smegmatis</i>
	32. <i>M. chitae</i>	39. <i>M. neoaurum</i>	46. <i>M. sphagni</i>
	33. <i>M. chubuense</i>	40. <i>M. obuense</i>	47. <i>M. thermoresistibile</i>
	34. <i>M. duvalii</i>	41. <i>M. parafortuitum</i>	48. <i>M. tokaiense</i>
	35. <i>M. flavescens</i>	42. <i>M. phlei</i>	49. <i>M. vaccae</i>

TABLA II

## Clasificación bacteriológica de las micobacterias de importancia en patología humana (Casal)

Grupos y subgrupos	Correspondencia con grupos de Runyon	Especies de micobacterias
I	I	<i>M. kansasii</i> ( <i>M. licopinogenes</i> ) <i>M. asiaticum</i>
II	II	<i>N. lactis</i> (1) <i>M. scrofulaceum</i> ( <i>M. marianum</i> ) <i>M. gordonae</i> ( <i>M. aquae</i> ) <i>M. flavescens</i> <i>M. szulgai</i> <i>M. ulcerans</i> <i>M. xenopi</i> <i>M. simiae</i> ( <i>M. habana</i> )
III	III	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. bovis</i> ( <i>M. bovis</i> BCG) <i>M. africanum</i> <i>M. avium</i> <i>M. intracellulare</i> <i>M. shimoidei</i> <i>M. gastri</i> <i>M. nonchromogenicum</i> <i>M. terrae</i> ( <i>M. novum</i> ) <i>M. triviale</i> <i>M. malmoense</i> <i>M. haemophilum</i>
IV	IV	<i>M. marinum</i> ( <i>M. balnei</i> )
V	V	<i>M. engbackii</i> (2) <i>M. acapulcense</i> (3) <i>M. aurum</i> <i>M. obuense</i> <i>M. rhodesiae</i> <i>M. gilvum</i> <i>M. duvalii</i> <i>M. neoaurum</i> <i>M. chubuense</i> <i>M. aichiense</i> <i>M. tokaiense</i> <i>M. gadium</i>
		c) <i>M. phlei</i> <i>M. smegmatis</i> <i>M. vaccae</i> <i>M. parafortuitum</i> <i>M. thermoresistibile</i> <i>M. diernhoferi</i> (4)
VI	VI	<i>M. fortuitum</i> ( <i>M. peregrinum</i> ) <i>M. chelonae</i> <i>M. chitae</i> <i>M. agri</i>

(1) (2): Especies con pigmentación rosada, se incluyen en el «complejo terrae». (3): Se considera semejante al *M. flavescens* con crecimiento más rápido. No se incluye en esta clasificación el *M. leprae* por no cultivarse en medios ordinarios de laboratorio. Tampoco se incluyen *M. microti*, *M. farcinogenes*, *M. senegalense*, *M. lepraemurium*, *M. paratuberculosis*, *M. sphagni* y *M. komosense*, por no aislarse normalmente de productos patológicos humanos. Los grupos I, II y III corresponden a los I, II y III de Runyon de crecimiento lento, fotocromógenos, escotocromógenos y no cromógenos. Los grupos IV, V y VI, corresponden al IV de Runyon subdividido según se trate de gérmenes, fotocromógenos, escotocromógenos o no cromógenos, todos ellos de crecimiento rápido. Los subgrupos a), b) y c) son subdivisiones dentro de los escotocromógenos según sea la pigmentación, rosa-roja, amarilla-anaranjada o irregular. (4): Considerado semejante al *M. parafortuitum*.

TABLA III

## Clasificación clínica de las mycobacterias (Casal)

Grupos	Patógenas	Op. mayores	Op. menores	Saprophytas
I		<i>M. kansasii</i>		
II		<i>M. scrofulaceum</i> <i>M. szulgai</i> <i>M. xenopi</i> <i>M. ulcerans</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. flavescens</i> <i>M. lactis</i>
III	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. africanum</i> <i>M. bovis</i>	<i>M. avium</i> <i>M. intracellulare</i> <i>M. shimoidei</i> <i>M. simiae</i> <i>M. malmoense</i> <i>M. haemophilum</i>	<i>M. bovis</i> BCG <i>M. triviale</i>	<i>M. gastri</i> <i>M. terrae</i> <i>M. nonchromogenicum</i>
IV		<i>M. marinum</i>		
V				<i>M. acapulcense</i> <i>M. aichiense</i> <i>M. aurum</i> <i>M. chubuense</i> <i>M. duvalii</i> <i>M. engbaeckii</i> <i>M. gadium</i> <i>M. gilvum</i> <i>M. obuense</i> <i>M. phlei</i> <i>M. rhodesiae</i> <i>M. smegmatis</i> <i>M. tokaiense</i>
VI			<i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i>	

A excepción de *M. leprae*, que no se aísla en medios ordinarios. Las saprophytas no causan patología humana pero pueden aislarse de productos patológicos y causar confusión (ejemplo: *M. gastri* en jugo gástrico, *M. gadium* en esputos, *M. smegmatis* en orina).

la única que puede «confirmarle» su diagnóstico clínico previo mediante la confirmación de la presencia de *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* o *M. africanum* causantes de tuberculosis humana<sup>9</sup>.

También a veces si se utiliza de manera sistemática puede proporcionarnos un «primer diagnóstico» de tuberculosis que no habría sido realizado anteriormente por otros métodos. Caso éste de enfermos etiquetados clínicamente de cuadros varios (bronconeumonías, derrame pleural de etiología desconocida, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, etc.) o bien aquellos supuestamente sanos en los que en el curso de una revisión que incluya la bacteriología nos aparecen presentes algunas de las tres citadas antes micobacterias patógenas para el hombre.

TABLA IV

## Patología humana atribuida a micobacterias\*

Grupos de micobacterias	Patología
I. Fotocromógenos crecimiento lento. <i>M. kansasii</i> .....	Pulmonar, ganglionar, meninges, generalizada, osteoarticular, urogenital.
II. Escotocromógenos crecimiento lento. <i>M. scrofulaceum</i> ...	Ganglionar, pulmonar, osteoarticular.
<i>M. xenopi</i> .....	Pulmonar, urogenital.
<i>M. ulcerans</i> .....	Cutánea.
<i>M. szulgai</i> .....	Pulmonar, ganglionar, articular.
<i>M. goodii</i> .....	Pulmonar (?).
III. No cromógenos crecimiento lento. <i>M. tuberculosis</i> .....	Pulmonar, renal, osteoar- ticular, meníngea, intesti- nal, ganglionar, cutánea, etc.
<i>M. bovis</i> .....	Idem.
<i>M. africanum</i> .....	Pulmonar.
<i>M. bovis</i> BCG.....	Cutánea, ganglionar, ge- neralizada.
<i>M. avium</i> .....	Ganglionar, pulmonar, osteoarticular, generaliza- da.
<i>M. intracellulare</i> ...	Idem.
<i>M. simiae</i> .....	Pulmonar.
<i>M. shimoidei</i> .....	Pulmonar.
<i>M. malmoense</i> .....	Pulmonar.
<i>M. haemophilum</i> ...	Cutánea.
IV. Fotocromógenos crecimiento rápido. <i>M. marinum</i> .....	Cutánea, articular.
V. Escotocromógenos crecimiento rápido. No atribuida ninguna patología.	
VI. No cromógenos cre- cimiento rápido. <i>M. fortuitum</i> .....	Cutánea, pulmonar, os- teoarticular, ocular, etc.
<i>M. chelonae</i> .....	Cutánea, pulmonar, os- teoarticular, meníngea, etc.

\* A excepción de *M. leprae*. Sólo se reseña la patología más frecuente.

En cualquiera de estas dos situaciones, de las que sin duda la primera es la frecuente y la segunda más rara el diagnóstico de la tuberculosis podría hacerse hoy técnicamente por métodos directos o indirectos.

## Métodos de diagnóstico

## Métodos directos de diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis

1. Métodos clásicos.
2. Métodos modernos.

## 1. Métodos clásicos de diagnóstico

Estos métodos son los de todos conocidos sobradamente pero que lamentablemente en España en pocos laboratorios se llevan a cabo de manera rutinaria y bien estandarizada, lo que hace que no todos los clínicos puedan tener a su alcance la ayuda de la bacteriología de la tuberculosis con lo que se establece el círculo vicioso de la no puesta a punto y no utilización de este tipo de bacteriología. Hecho éste que constituye un grave problema de Salud Pública en nuestro país y al que nuestras autoridades sanitarias, a pesar de dictar normas sanitarias al respecto y publicarlas en el BOE, aún no han conseguido hacer rutinario y de utilidad pública.

Estos métodos consisten en: a) toma de muestra, b) visualización, c) cultivo y aislamiento, y d) identificación y clasificación<sup>1,9</sup>.

En gran cantidad de casos el diagnóstico se realiza clínicamente y ayudado de la reacción de la tuberculina con las posibilidades de error que todos sabemos ellos conlleva. Si se quiere confirmar, lo más que se realiza en la mayoría de los casos es una baciloscopia.

Pensamos que hoy no basta la utilización de la radiología, la prueba de la tuberculina y la simple baciloscopia. Ya que la radiología no es definitiva, la prueba de tuberculina tampoco, y diremos aún más, y es que la baciloscopia, aún siendo de los tres el mejor, tiene sus detalles a tener en cuenta.

El principal de ellos es que hay muchos casos de baciloscopias que se informan como «negativas» y el enfermo es tuberculoso. Es fundamental, pues, aparte de la correcta utilización de la técnica y la buena preparación del personal, el realizar, a ser posible, un cultivo de las muestras, pues de hecho hay un porcentaje no desestimable en nuestra situación actual de baciloscopias «negativas» que dan cultivos positivos si realizamos una «correcta» siembra con todos los pasos que para ello se requieren, bien tenidos en cuenta y eligiendo los medios adecuados para ello. Así en nuestra casuística un 10 % de esputos con baciloscopia negativa resultan positivos en el cultivo.

También queremos resaltar aquí un hecho cual es que la baciloscopia «positiva» sólo nos indica que estamos en presencia de una bacteria del género *mycobacterium*, pero no nos diagnóstica jamás que estamos ante una tuberculosis, pues sabemos cómo cualquier micobacteria, bien sea el *M. tuberculosis*, una micobacteria patógena o una micobacteria saprofita, va a tener las mismas propiedades tintoriales características del género y, por lo tanto, van a ser ácido-alcohol resistentes a la visión microscópica. Es, pues, éste otro hecho que refuerza nuestra teoría de que para llevar a cabo un diagnóstico exacto de tuberculosis hemos de recurrir sin género de dudas al cultivo de los productos patológicos, que nos aclarará si estamos ante una tuberculosis, una probable micobacteriosis o sólo an-

te una micobacteria saprofita contaminante de dicha muestra, con las consiguientes repercusiones muy distintas, que es obvio señalar va a tener cada tipo de diagnóstico.

Los cultivos, a su vez, deberán ser perfectamente identificados, como luego comentaremos, y lo que es también importante resaltar, se deberá excluir en ellos la posibilidad de que exista una mezcla de micobacterias que nos pueda interferir los resultados diagnósticos de tipificación de la micobacteria o, lo que es más importante, las pruebas de resistencia, dándonos un espectro equivocado, con las perjudiciales consecuencias que esto acarrearía. Hecho éste que apoya el que estos diagnósticos exactos y las pruebas de resistencia se realicen sólo en centros de marcada especialización que obvien todos estos posibles errores.

Asimismo es fundamental la repetición de los cultivos, pues el no hacerlo también puede ser motivo de error diagnóstico<sup>10</sup>.

## 2. Métodos modernos de diagnóstico

Estos métodos tratan de utilizar una tecnología que posibilite el diagnóstico más rápidamente que los métodos clásicos de cultivo que son muy lentos para las necesidades clínicas que requieren un informe lo más rápido posible, ya que por los sistemas clásicos se requieren unos 15-20 días para el cultivo y algunas semanas más para una identificación exacta.

Todos ellos no son todavía aplicables de manera rutinaria y sólo son líneas de investigación realizadas en centros especializados en la materia pero puede ser que de alguno de ellos o sus variantes se consiga alguna metódica que sea aplicable a gran escala de manera rutinaria por laboratorios clínicos.

Una de las ideas básicas que se han intentado llevar a cabo desde hace tiempo, y ha sido la base para los modernos métodos de diagnóstico que se ensayan, es buscar métodos de cultivo más rápidos que los tradicionales con medios de cultivo a base de huevo (Lowenstein, Ogawa, etc.). En este sentido el principal problema existente consiste en la lenta velocidad de replicación del *Mycobacterium tuberculosis*, que si bien en un *E. coli* puede ser de 15-20 minutos en *M. tuberculosis* puede necesitar 15-20 horas para empezar su replicación, que parece estar genéticamente controlada por una RNA polimerasa DNA dependiente.

Sobre esta idea se buscan medios de cultivo que permitan la detección e identificación de *M. tuberculosis* después de pocos ciclos de replicación. Así los medios sólidos transparentes a base de agar proporcionan mejores resultados ya que las pequeñas colonias en crecimiento pueden ser reconocidas microscópicamente de manera diferencial. Un efecto similar puede obtenerse mediante cultivo sobre portaobjetos o en papel de filtro en medio

sólido, detectándose rápidamente las microcolonias en pocos días. No obstante, cualquiera de estos sistemas (que no son nuevos sino ya conocidos, pero que se hicieron en la línea de la idea en que se basan los modernos y por ello los recordamos aquí) necesita una identificación posterior definitiva de la especie de micobacteria lo que requiere una mayor cantidad de masa de microorganismos que la obtenida en tan breve tiempo, para realizar los numerosos test de identificación que hoy poseemos a nuestro alcance y que lamentablemente no están adaptados para poder ser llevados a cabo con pocos bacilos.

Con estas premisas actualmente y basándose en la moderna tecnología hoy a nuestro alcance, se pretende reconocer pequeñas cantidades de componentes que sean específicos de *M. tuberculosis* en el curso de su crecimiento en las primeras fases antes de que tengamos ni siquiera las primeras colonias iniciales. En este sentido se investiga la posible utilidad de la aplicación de pirolisis de muy pequeña cantidad de bacilos (microgramos) seguida de espectrometría de masas que nos daría un patrón que analizado mediante computadoras nos podría identificar la especie en cuestión. Este proceder está actualmente en desarrollo investigándose sobre todo el *M. tuberculosis complex*, es decir, *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. africanum*.

También se ha intentado detectar en cultivos en medio líquido de una semana de crecimiento una «tuberculo proteína» que se encontró mediante radioinmunoensayo en aquellos casos que eran fuertemente positivos a la baciloscopia y que posteriormente daban cultivos positivos en medios tradicionales. Esta técnica presenta de momento los inconvenientes de que no es totalmente selectiva para los miembros del «complejo tuberculoso» y que además en aquellos casos débilmente positivos a la baciloscopia no se ha conseguido detectar esta proteína.

También se está ensayando la utilización de metanólisis y cromatografía de gases seguida de espectrometría de masas para detectar componentes que puedan ser diferenciales. En este sentido se ha podido detectar en el esputo de pacientes o en cultivos de menos de una semana de incubación el ácido tuberculo-esteárico que tiene el inconveniente de que no es exclusivo del *M. tuberculosis* sino que puede encontrarse en otras micobacterias e incluso nocardias. Por ello se intenta actualmente por el mismo sistema buscar otros compuestos más específicos como el metil-micocerosato que sí sería exclusivo de *M. tuberculosis* y *M. bovis* aunque el principal problema con que se encuentra esta investigación es el bajo peso molecular de este compuesto que haría difícil su detección por este sistema.

También se están utilizando métodos radiométricos que detectan rápidamente en 6 a 10 días el crecimiento micobacteriano a partir de un cultivo

en medio líquido de una muestra clínica como puede ser un esputo previamente descontaminado para que sólo crezcan micobacterias, lo que se confirma al detectarse el crecimiento mediante visualización microscópica. Este sistema tiene la ventaja de la rapidez y de que es un sistema automatizado que también nos sirve para estudios de resistencia a las drogas como luego veremos. Tiene el inconveniente de que en la visualización no podemos afirmar que aquello sea un *M. tuberculosis* y no una *M. atípica*. De todos modos esto se comprueba con un cultivo que se realiza en paralelo en medio sólido clásico. Hasta ese momento hemos de servirnos de la orientación clínica y epidemiológica según la zona donde estemos trabajando y la incidencia de *M. atípicas* que allí suela haber.

No obstante, los inconvenientes citados pensamos que de los sistemas actualmente en desarrollo dada la experiencia ya existente y la automatización y comercialización ya conseguida en este método pensamos que es el más válido de los modernos en el momento presente.

Como vemos aún nada definitivo pero sí interesantes líneas de investigación de las que puede salir en el futuro una ayuda diagnóstica que nos permita ser más rápidos en esta importante confirmación diagnóstica al clínico.

#### *Métodos indirectos de diagnóstico bacteriológico*

En este apartado sólo podemos reseñar que teóricamente la serología sería el método ideal de diagnóstico, pero hasta el momento a pesar de los numerosos intentos realizados en este aspecto no se ha conseguido poner a punto una técnica lo suficientemente sensible y específica como para conseguir un diagnóstico serológico de la tuberculosis como podemos tener de la fiebre tifoidea o brucelosis.

Se han ensayado una gran cantidad de reacciones inmunológicas del tipo de la aglutinación, de la inmunoprecipitación en gel y últimamente se han estudiado los nuevos procedimientos de utilización de anticuerpos marcados con iodo 131, radioinmunoensayo o técnicas de Elisa con los que parece podrá llegar a conseguirse una aceptable sensibilidad en la técnica si bien el problema que resta aún por solucionar es el conseguir antígenos purificados que sean específicos como para que la reacción sea válida, en cuanto a sensibilidad y especificidad. Últimamente también se están ensayando reacciones que usarían anticuerpos monoclonales, que se han conseguido muy específicos. En este sistema se usaría un Ag purificado inserto en una matriz inerte que se haría reaccionar con el suero del paciente, que si lleva anticuerpos específicos contra estos antígenos bloquearán los sitios de reacción y al añadir a la reacción in vitro los anticuerpos monoclonales no podrían reaccionar. Si esta técnica llega a estandarizarse podría ser la clave futura en serología de la tuberculosis

para tener un eficaz método indirecto de diagnóstico.

Otro método indirecto de diagnóstico consistirá en el uso de *tuberculinas o sensitinas* de diferentes micobacterias.

#### *La tuberculina*

La tuberculina antigua de Koch es un filtrado concentrado de bacilos tuberculosos que crecían en medio líquido y fue inactivado por el calor para perder su poder sensibilizante pero no su actividad para revelar la hipersensibilidad cutánea (sin producir la formación de anticuerpos circulantes que den hipersensibilidad de tipo inmediato).

Las tuberculinas más usadas en el diagnóstico indirecto en medicina o veterinaria son: la old tuberculin (tuberculina vieja de Koch), la PPD, RT23 y IP48.

Las actuales tuberculinas son purificadas y constan de proteínas (PPD = purified protein derivatives) extraídas de un cultivo de bacilos habiéndose desechado lo que no son proteínas para que no de reacciones no específicas e intentar aumentar su actividad.

De todas maneras la tuberculina incluso purificada tiene una mezcla de antígenos micobacterianos que son comunes a *M. tuberculosis* y las micobacterias atípicas.

La potencia de las tuberculinas se expresa en unidades, entendiéndose por una unidad la que produce la misma acción, que una unidad de PPD-S (standard tuberculin) que contiene 0'00002 mg de proteína y está depositada en el Statens Serum Institut de Copenhague (Dinamarca).

Con esta tuberculina se puede realizar el test intradérmico de Mantoux que realizado en buenas condiciones nos puede dar una orientación de diagnóstico indirecto, sobre todo en niños donde otro tipo de diagnóstico directo a veces es difícil.

Esta técnica, no obstante, tropieza con el mismo problema de la falta de un antígeno específico que le ocurría a las técnicas serológicas por lo que no es definitiva en el diagnóstico exacto de tuberculosis.

En este sentido sabemos hoy que se está ensayando parece que con unos resultados prometedoros un antígeno denominado n.º 5 del citoplasma de la cepa H<sub>37</sub>Ra de *M. tuberculosis* que podría ser un antígeno válidamente específico contra esta enfermedad. En el futuro está la respuesta, pero sin duda éste puede ser el camino.

Al igual que la tuberculina tenemos también las denominadas «sensitinas» que son productos específicos preparados a partir de cultivos de micobacterias atípicas capaces de provocar una reacción mediada por células igual que la de la tuberculina; también en estos casos la especificidad no es absoluta y puede haber cierto grado de reacciones cruzadas entre ellas.

Estas sensitinas pueden usarse, pues para comprobar la infección humana o animal por las dife-

rentes micobacterias (o bien como ayuda para la taxonomía micobacteriana dentro de los métodos inmunológicos de diagnóstico de las micobacterias ya tratados a la hora de la identificación y clasificación, que es lo que se denomina CRIS = comparative reciprocal intradermal sensitin) que no detallamos por no ser objeto de esta publicación y también para descartar la infección por un bacilo tuberculoso con las limitaciones que hemos comentado de la inespecificidad.

De estas sensitinas o tuberculinas específicas se han preparado una gran variedad de ellas que se han usado en investigaciones en poblaciones humanas de diferentes zonas geográficas, edades... etc., para medir el diferente grado de reacción. Cada una de ellas recibe el nombre derivado de la especie que se elaboró, así: kansasina, escrofulina, gordonina, flavescina, xenopina, ariumina, chelonina, etc.

Desde el punto de vista individual y en relación al tratamiento de la enfermedad, pensamos que la bacteriología de la tuberculosis tiene hoy un papel clave que desempeñar en cuanto a tres aspectos concretos, a saber: *a)* Control bacteriológico de la evolución del tratamiento y de la curación del proceso. *b)* Conocimiento del tipo de bacilos existentes en cada tipo de lesión para saber con qué drogas podemos combatirlo, y *c)* Conocimiento de la sensibilidad o resistencia a las drogas antituberculosas para orientación del tratamiento.

En relación al estudio de resistencias del *M. tuberculosis* que sin duda es el más útil e interesante, disponemos hoy de una serie de métodos clásicos y otros métodos modernos.

En relación a los métodos clásicos sobre medio sólido y de los múltiples métodos que se pueden utilizar, los más aceptados universalmente son: *a)* el de las concentraciones absolutas de Meissner, que es un método cualitativo; *b)* el de la relación de resistencias de Mitchison, que es semicuantitativo y, *c)* el de Canetti, Rist y Grosset, que es cuantitativo y, por lo tanto, es el más exacto. De ellos existen variantes múltiples adaptadas a las necesidades de cada país.

Las drogas que se deben usar normalmente por su utilidad y uso más frecuente serán la estreptomina, el PAS, la isoniacida, la rifampicina, el ethambutol, reservándose para centros de referencia y casos de multiresistencias a las anteriores otras drogas, como la cicloserina, capreomicina, kanamicina, viomicina, pirazinamida, tioacetazona, tiocarbanilida, ethionamida.

De ellos sólo el tercero sería el más exacto y valorable ya que mide la proporción de mutantes resistentes, que se ha visto que es el fenómeno importante a la hora del tratamiento y que se descubrió hace muchos años al ver como al tratar a los enfermos con estreptomina aunque al principio mejoraban a la larga podían empeorar por la aparición de mutantes resistentes.

Estas mutantes resistentes no son medidas por los otros dos procedimientos señalados.

El problema de estos métodos es su lentitud ya que necesitan 28-30 días para su lectura normalmente después de otros tantos de incubación hasta tener un cultivo suficiente para poder realizarlo. Si bien es cierto que en caso de esputos muy positivos se puede hacer lo que se llama el antibiograma directo sin necesidad de cultivo previo con lo que ahorraremos la mitad del tiempo antes comentado. Este problema del tiempo se agrava aún más en el caso de *M. bovis* o *M. africanum* que demorarían esos 28-30 días a casi el doble.

También hay que reseñar que aparte de este inconveniente existe otro para una droga como es la pirazinamida que necesita un pH ácido para actuar y en estas condiciones el *M. tuberculosis* no va a crecer bien por lo que el test no va a ser fiable.

También por sistemas clásicos se ha utilizado el medio líquido con lo que conseguimos un crecimiento más rápido en 10-15 días lo que sería interesante, si bien hay que recordar que aquí tampoco podemos llegar a medir los mutantes resistentes por lo que el método tampoco sería el ideal.

Por todo ello las investigaciones actuales van dirigidas a obtener nuevos sistemas que conservando su exactitud reduzcan el tiempo de lectura con lo que se ha llegado a la etapa de los métodos modernos de estudios de resistencias a las drogas antituberculosas. Estos pueden ser los siguientes: *a)* Métodos radiométricos, y *b)* Métodos nefelométricos.

*a)* Los métodos radiométricos utilizan un medio líquido y obtienen los resultados en una semana aproximadamente. Se han ensayado a su vez dos tipos de indicadores de la acción de las drogas sobre *M. tuberculosis*, bien la inhibición del catabolismo de los carbohidratos marcado con C<sub>14</sub> y sus productos intermediarios, midiendo la evolución del CO<sub>2</sub> marcado. Estos métodos tienen la ventaja de estar comercializados, pero el inconveniente de que la interpretación de los resultados dado el diferente modo de actuar cada droga puede ser confusa ya que pueden existir vías metabólicas secundarias que permitan la supervivencia o bien aún deteniendo el crecimiento permitir siga existiendo cierto grado de metabolismo. En este sentido las drogas bacteriostáticas darán más problemas en su interpretación. O bien viendo la inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos midiendo la captación de uracilo marcado. En este sistema habrá que tener en cuenta que los trabajos realizados miden sólo la síntesis del RNA, pero el uracilo aparte de incorporarse al RNA puede convertirse en timina e incorporarse al DNA.

En los futuros métodos quizá fuese lo ideal intentar la medición del DNA, no sólo del RNA que nos daría un sistema más exacto para conocer la inhibición y muerte de la micobacterias. Ya que la replicación no podrá llevarse a cabo en ausencia de síntesis de ácidos nucleicos.

Estos métodos ofrecerán, pues, una medida del efecto de cada droga estudiada independientemente del sistema enzimático sobre el que actúe cada una.

b) Los métodos nefelométricos ensayados hasta el momento consisten en una variante del «auto-bac» para sensibilidad de otros microorganismos en el que se investiga el porcentaje de inhibición de los cultivos con drogas frente al crecimiento de los cultivos patrones sin droga. También utiliza medios líquidos como el radiométrico.

En general ambos sistemas aparte de no estar totalmente a punto no son utilizados con todas las drogas antituberculosas, sino sólo con las más usuales: isoniacidas, PAS, estreptomycin, rifampicina y ethambutol.

Como conclusión podemos decir que estos métodos tienen la gran ventaja para el clínico de su rapidez, pero por el contrario tienen las desventajas de su elevado coste económico y la falta aún de amplios estudios que los contrasten con la eficacia clínica en grupos amplios de pacientes y con un método tradicional válido como puede ser el de las proporciones. El futuro próximo nos dará sin duda la validez o no de estos métodos modernos que por el bien de nuestros pacientes esperamos sea satisfactoria.

Desde el punto de vista colectivo de la comunidad el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis nos puede ser útil para: a) hacer un diagnóstico de masas; b) conocer las tasas de nuevos casos bacilíferos y la tasa de nuevos casos bacteriológicamente positivos; c) llegar a establecer un mapa epidemiológico de la incidencia de micobacterias atípicas y de *M. bovis* o *M. africanum* y mediante el uso de la reacción tuberculínica conocerla; d) prevalencia, y e) incidencia de la enfermedad o tasa de infección anual.

Desde el punto de vista colectivo y en relación al tratamiento de la enfermedad, la bacteriología nos va a ser útil para:

1. Mediante el ya comentado anteriormente en otro apartado estudio de las resistencias primarias a las drogas y desde el punto de vista de comunidad podemos conocer si éstas son de más de un 5 o 10 % a qué droga habrá que realizar antibiograma o cuál no deberemos de utilizar en una programación a gran escala de tratamientos. Con lo que podremos orientar la posibilidad de tratamientos. Debe de existir un programa continuo de vigilancia epidemiológica de esta farmacoresistencia.

2. Mediante el conocimiento de las resistencias secundarias o adquiridas a las drogas podremos tener un permanente sistema de control de calidad de cómo se desarrolla la terapéutica de esta enfermedad en toda su amplitud en cada momento y con las drogas en ese tiempo utilizadas. Igualmente habrá que establecer un programa continuo o cada cierto tiempo de seguimiento de los valores que alcanzan estas resistencias.

3. Por último también recordar como gracias a la bacteriología tenemos un método de prevención de la enfermedad como es la vacuna BCG compuesta por bacilos tuberculosos bovinos que han sido atenuados por numerosos pases.

No vamos a entrar aquí en discusión sobre su eficacia mayor o menor o su recomendación o no sobre su aplicación y tan sólo considerar como actualmente desde el punto de vista epidemiológico parece considerarse en países desarrollados que para la lucha antituberculosa deberá aplicarse la detección exhaustiva de casos mediante un diagnóstico precoz clínico bacteriológico y la quimioterapia correcta e individualizada, usando la vacunación BCG sólo para la protección personal en las situaciones particulares de riesgo. Pero bien es cierto también que desde el punto de vista social habrá que seguir considerándola en países subdesarrollados donde pueda evitar muertes en niños, meningitis o formas miliares graves por pocas que sean y aunque su eficacia se sepa no va a ser total en el cien por cien de los casos vacunados. En este mismo sentido hay que considerar, pienso que con bastante optimismo, los estudios que se vienen haciendo en el campo de la inmunología en la búsqueda de una Vacuna o Agentes Inmuno Farmacológicos (IPA) nuevos que permitan bien proteger de la enfermedad o bien colaborar en su tratamiento ante un caso, una quimioterapia no favorable o una recaída. Sin duda los próximos años nos depararán interesantes logros en este campo que vendrá a completar lo ya conseguido en el campo de la quimioterapia para intentar luchar contra esta enfermedad de la que se cumplen ahora los cien años del descubrimiento de su agente causal.

### Conclusiones

Vemos, pues, como la bacteriología de la tuberculosis ha sido y es sin duda de gran utilidad en la lucha contra esta enfermedad.

Lo que sí es importante es saber que existe:

a) Una bacteriología básica que debe extenderse al mayor número posible de laboratorios.

b) Otra reservada a centros especiales como la tipificación y estudios de resistencias.

c) Y otra de investigaciones actuales que sólo realizan muy pocos centros en el mundo y que están en vanguardia a la búsqueda de nuevos procedimientos. Esto debe ser bien entendido y no alterar este orden en la incorporación a los sistemas de lucha antituberculosa para que así sea verdaderamente eficaz. Por contra la incorporación anárquica o individualista de esta bacteriología no aportará nada más que errores contraproducentes o en el mejor de los casos testimonios de buen hacer que se pierden el vacío de la falta de sistematización.

**Resumen**

En cualquier plan de lucha antituberculosa en el momento presente en España desde el punto de vista bacteriológico deben realizarse:

- a) El correcto diagnóstico bacteriológico.
- b) El estudio de resistencias a las drogas antituberculosas, en casos indicados.
- c) El control bacteriológico de los tratamientos antituberculosos.

Para llevar a cabo todo esto en nuestro país, es necesaria una organización de nuestros recursos en el sentido de:

- a) Organización de un sistema de laboratorios para este tipo de bacteriología.
- b) Enseñanza de personal técnico a todos los niveles.
- c) Puesta a punto y control permanente de todo este sistema.

Todo ello debería de ir incrustado en lo que debe ser el sistema general de Lucha Antituberculosa que comprende aspectos sanitarios, epidemiológicos, clínicos, terapéuticos, asistenciales... etc. Para sacar el máximo provecho de este «esqueleto base» bacteriológico. Y, a su vez, todo ello dentro del sistema global de Luchas y Campañas Sanitarias de la Dirección General de Sanidad del Ministerio y/o de las respectivas Entidades Autónomas, según la organización sanitaria actualmente existente.

Esto es hoy posible en España, dado el grado de desarrollo tecnológico alcanzado en esta materia y las cifras de tuberculosis que tenemos en estos momentos.

Ello aparte de una trascendencia socioeconómica considerable nos permitiría estar a nivel internacional en el estudio de esta enfermedad, prestigian-do así nuestro sistema de salud. A la vez que

serviría de enseñanza para todo nuestro personal sanitario al que urge dar a conocer y a utilizar todos estos datos y esta tecnología para que puedan luchar de una manera racional y más eficaz contra ese aún no menospreciable problema que tenemos en España de la «tuberculosis». El llevarlo a la práctica consideramos que es factible, y sólo de nosotros depende; el programarlo es el reto de nuestras autoridades sanitarias, que por otra parte y entre otras misiones pensamos que para eso están.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Casal M: Manual de Bacteriología de la Tuberculosis y Micobacteriosis. Editorial AC. Madrid, 1983.
2. Skerman VBD, Mc Govan V, Sneath PHA: Approved list of bacterial names. Int J Syst Bacteriol 1980; 30: 225.
3. Runyon E, Wayne LG, Kubica GP: Family II. Mycobacteriaceae Chester 1897, 63. En Bergey's manual of determinative bacteriology. R E Buchanan ed. Baltimore. The Williams and Wilkins 1974; 682-701.
4. Casal M: Situación taxonómica actual de las distintas especies de micobacterias. Laboratorio 1977; 63: 501.
5. Casal M: Estudio diferencial de las micobacterias escotocromógenas de crecimiento rápido. Rev Lat Amer Microbiol 1977; 19: 199.
6. Casal M: Clasificación de las micobacterias desde el punto de vista clínico. Rev Clin Esp 1977; 147: 251.
7. Casal M: Las micobacteriosis: su importancia en patología humana actual. Med Clin 1977; 69: 326.
8. IUAT/WHO Study Group. Tuberculosis control. Technical Report Series n.º 671. OMS, Geneva 1982.
9. David H, Brander E, Casal M et al: Diagnostic and Public Health. Mycobacteriology. Ed. by European Society for Mycobacteriology (ESM).
10. Casal M, Rey Calero J: *Mycobacterium gadium*: a new species of rapid growing scotocromogenic mycobacteria. Tubercle 1974; 55: 299.