

Tema 4

Micobacterias

Sumario:

Micobacterias. Características y clasificación.

Mycobacterium tuberculosis. Mycobacterium leprae:

Características generales. Patogenia. Métodos de laboratorio para el diagnóstico. Interpretación de los resultados de los laboratorios de Bacteriología Médica.

Micobacterias atípicas: nombrar la bacteria, respetando la correcta ortografía y nomenclatura binomial de Linneo. Características generales. Señalar la enfermedad que producen.

Objetivos

- Nombrar según la Nomenclatura Binomial y clasificar según Murray a los microorganismos objetos de estudio.
- Describir las características generales que permitan diferenciarlos unos de otros.
- Explicar los mecanismos patogénicos capaces de producir enfermedad en el hombre y nombrar las enfermedades que ocasionan.
- Establecer una conducta diagnóstica que lleve a la identificación del microorganismo.

Principales especies patógenas del género *Mycobacterium*

- *M. tuberculosis*
 - *M. africanum*
 - *M. bovis*
 - *M. leprae*
 - Algunas especies de micobacterias atípicas (MNT)
- } Complejo *M. tuberculosis*

Patógenos

Mycobacterium tuberculosis
(Bacilo de Koch)

Mycobacterium leprae
(Bacilo de Hansen)

Mycobacterium tuberculosis

TUBERCULOSIS

Enfermedad infectocontagiosa aguda, subaguda o crónica que puede afectar distintos órganos, pero preferentemente a los pulmones.

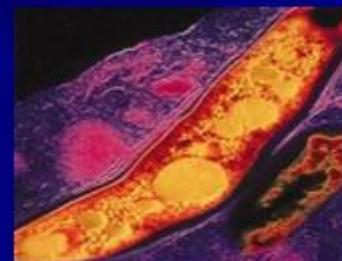


Es un patógeno intracelular capaz de producir infecciones de por vida.

Robert Koch, 1843-1910

24 DE MARZO DIA MUNDIAL DE LA TB

- 1882 Robert Koch descubre el bacilo
- 1905 Premio Nobel
- 1993 OMS Decreta en Emergencia Global
- 2009 a 127 años del descubrimiento de la dolencia prevenible y curable, la 3era parte de la población mundial está infectada.



Sigue siendo, en el inicio de este nuevo milenio, la enfermedad infecciosa humana más importante que existe en el mundo, a pesar de los esfuerzos que se han invertido para su control en la última década.



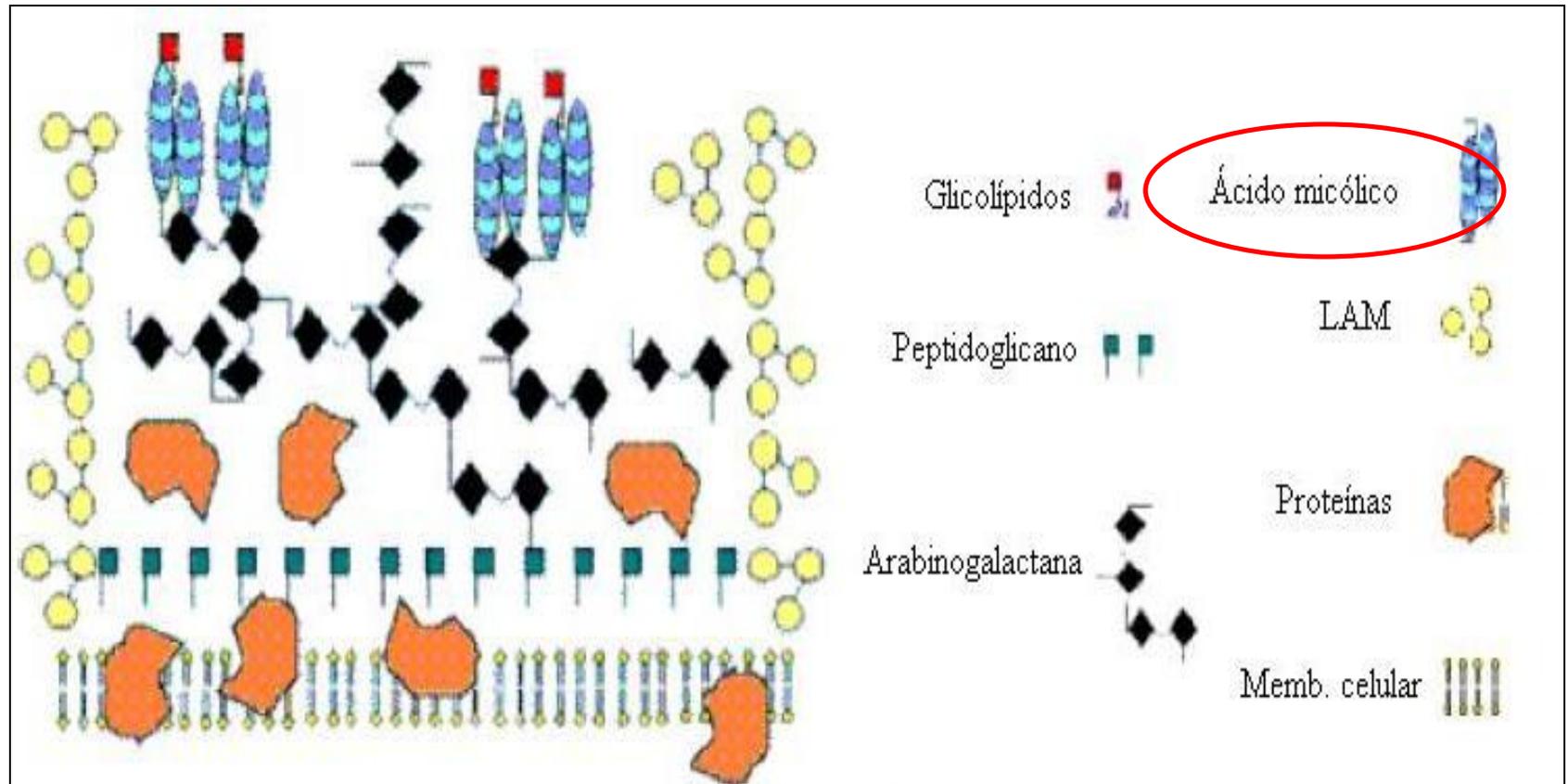
Cada segundo en el planeta una persona se infecta con bacilo TB

■ Es una enfermedad reemergente por los siguientes factores:

1. La coinfección SIDA/TB
2. Perdida de la prioridad y deterioro de los programas de control
3. Condiciones higiénico sanitarias desfavorables, sobre todo en países del tercer mundo
4. Aumento de las cepas multiresistentes



Representación esquemática pared celular Micobacterias



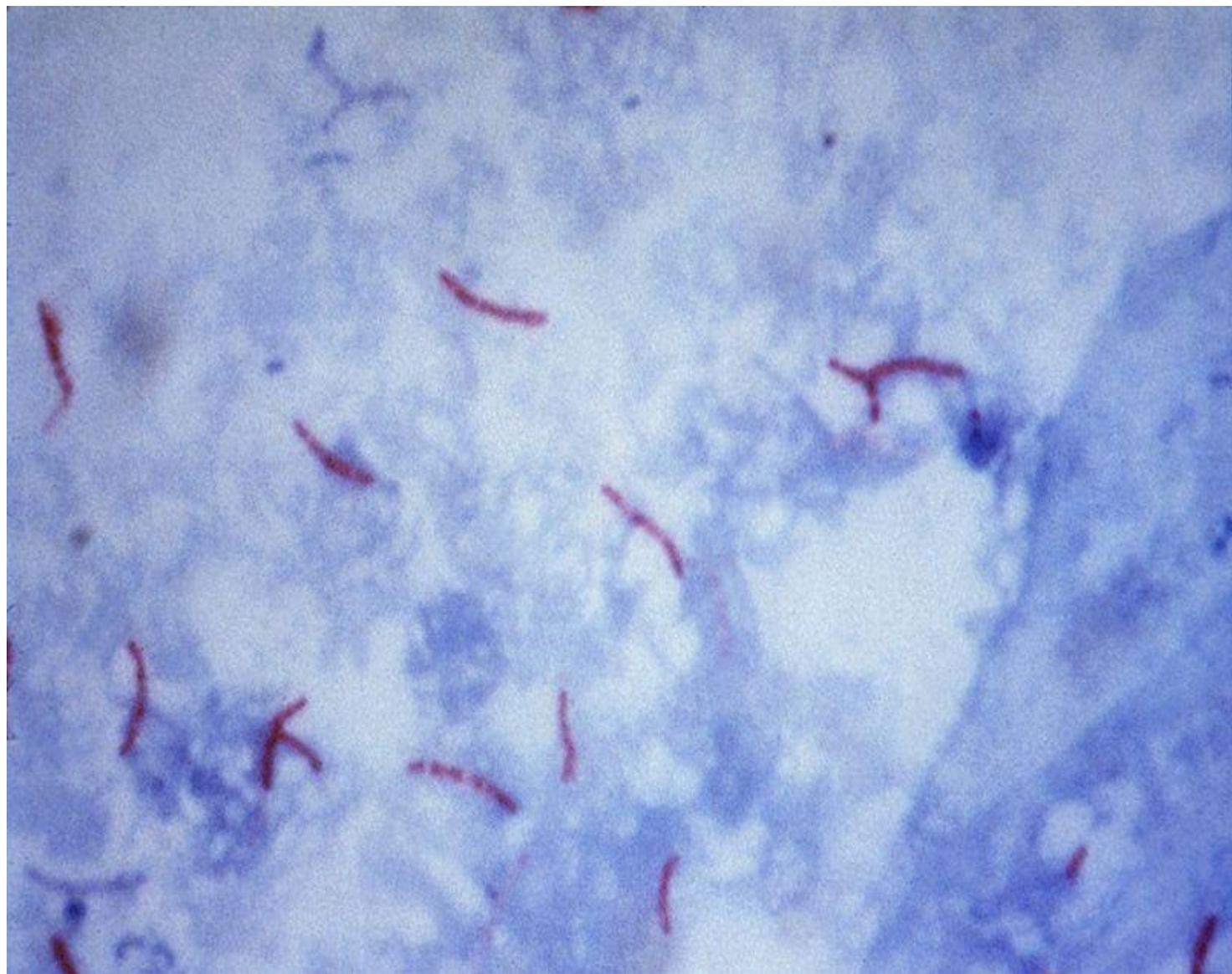
CONSECUENCIAS DEL ALTO CONTENIDO LIPÍDICO DE LA PARED DE LAS MICOBACTERIAS:

- Hidrofobicidad
- Lento crecimiento
- Ácido alcohol resistencia
- Dificultad para teñirse con colorantes bacterianos usuales
- Tolerancia a álcalis, ácidos, luz solar y a la desecación
- Resistencia a los efectos bactericidas de anticuerpos y fagocitos

- Pared bacteriana más compleja estructuralmente, dos veces más gruesa que la de bacterias Gram –
- Alto contenido lipídico (40-60% del peso seco de la pared)
- Constituida por péptidoglicanos y lípidos
- **Péptidoglicanos:** arabinogalactanos y glucopéptido
- **Lípidos:** Fosfátidos, ceras, sulfátidos, glucolípidos y ácidos micólicos

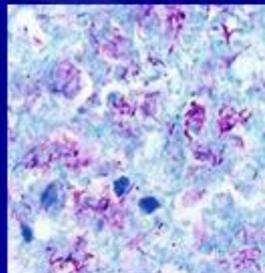
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICO-TINTORIALES DE *M. tuberculosis*

- Bacilos pequeños delgados y rectos o ligeramente curvos
- No esporulados
- No móviles
- No capsulados
- Pueden tener apariencia de cuentas en rosarios
- Débilmente Gram positivos
- No permeables a colorantes bacterianos habituales
- Se tiñen con los métodos de Ziehl- Neelsen y Kinyoun



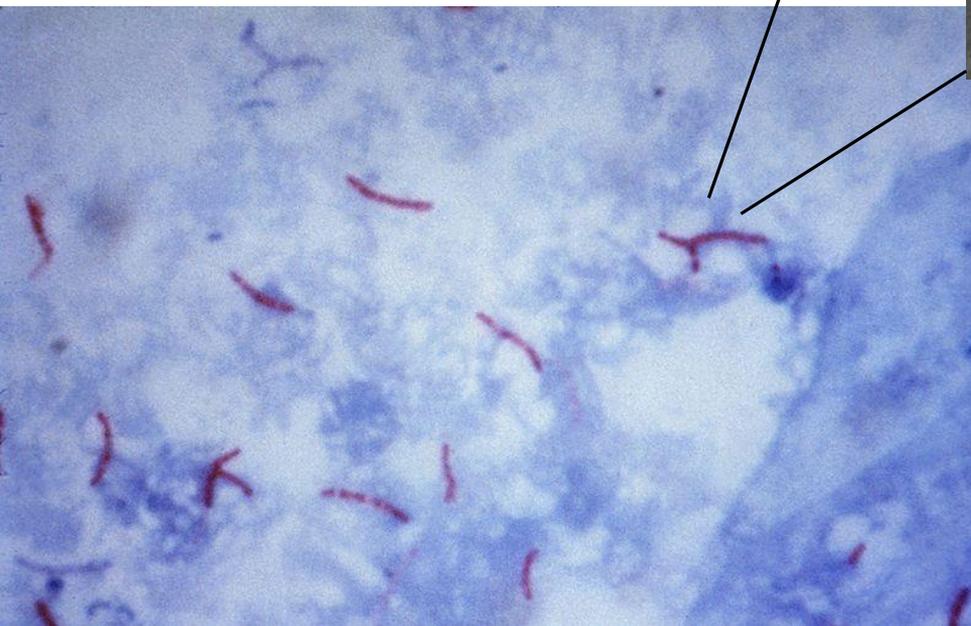
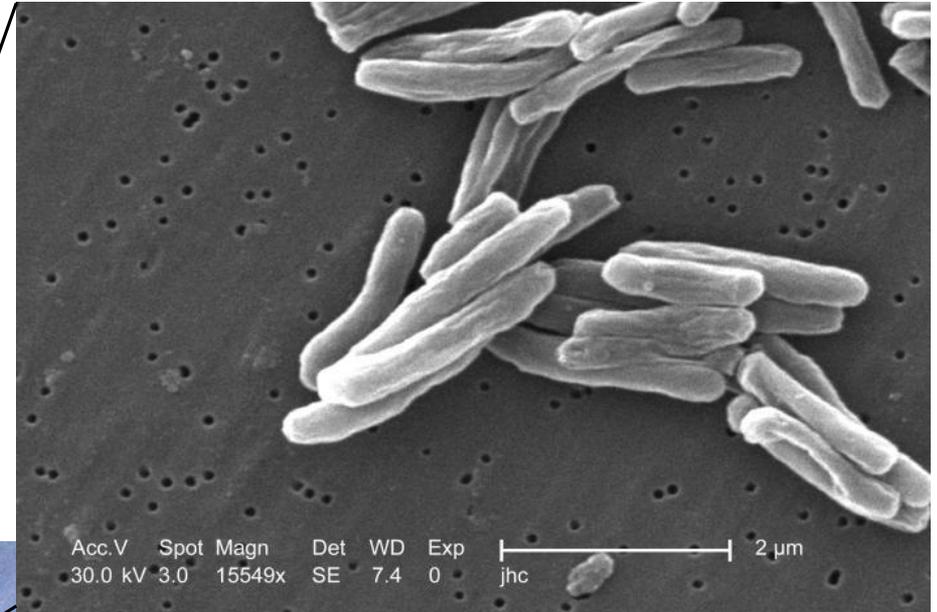
Características generales:

- Las micobacterias poseen una pared celular compleja y rica en lípidos . Esta pared celular es la responsable de muchas de las propiedades características de las bacterias(p. ej., su acidorresistencia, crecimiento lento, resistencia a detergentes, resistencia a los antibióticos antibacterianos frecuentes, antigenicidad, formación de agregados).
- El hombre es el único reservorio natural



Mycobacterium tuberculosis

- Bacilo ácido alcohol-resistente
- Aerobio estricto
- Crecimiento lento (tiempo de generación 15-20 horas)



Tinción de Ziehl
Neelsen o para bacilo
ácido-alcohol
resistente

Factores de virulencia

- Mecanismos especiales de entrada a la célula
- Crecimiento intracelular
- Detoxificantes del oxígeno
- Crecimiento lento
- Alta concentración de lípidos en la pared celular

Determinantes de patogenicidad

- **Factor cuerda (Cordones serpentinados microscópicos, glucolípidos):**
 - Inhibe la migración de leucocitos
 - Estimula la formación de granulomas crónicos
 - Es un adyuvante inmunológico
- **Lípidos (ácidos micólicos, ceras y fosfátidos):**
 - Responsable de la mayoría de las reacciones de los tejidos
 - Explican la impermeabilidad relativa a los ácidos y los álcalis
 - Explican la impermeabilidad relativa a los colorantes
 - Resistencia a la digestión intracelular de los macrófagos
- **Tuberculoproteínas y ceras:**
 - Inducen reacción a la tuberculina

Tuberculosis

1/3 de la población mundial
está infectado con el bacilo



- Trasmisión de persona a persona (vía respiratoria)
- Altamente contagiosa (el acto de hablar es suficiente para su trasmisión)

Patogenia de la tuberculosis

Fenómeno
multifactorial



Virulencia de
la cepa

Resistencia o
susceptibilidad
del hospedero

Patogenia de la tuberculosis

Puerta de entrada: Fosas nasales y boca. Inhalación de bacterias viables virulentas

```
graph TD; A[Puerta de entrada: Fosas nasales y boca. Inhalación de bacterias viables virulentas] --> B[Multiplicación en tejidos pulmonares (alvéolos)]; A --> C[Multiplicación en el interior de macrófagos (baja resistencia)]; A --> D[Reacción de hipersensibilidad retardada]; B --> E[Lesión primaria: Tubérculo (nódulo)]; C --> E; D --> E;
```

Multiplicación en tejidos pulmonares (alvéolos)

Multiplicación en el interior de macrófagos (baja resistencia)

Reacción de hipersensibilidad retardada

Lesión primaria: Tubérculo (nódulo)

Patogenia

- Exposición a un enfermo bacilífero
- Inhalación bacilos
- Fagocitosis macrófago alveolar

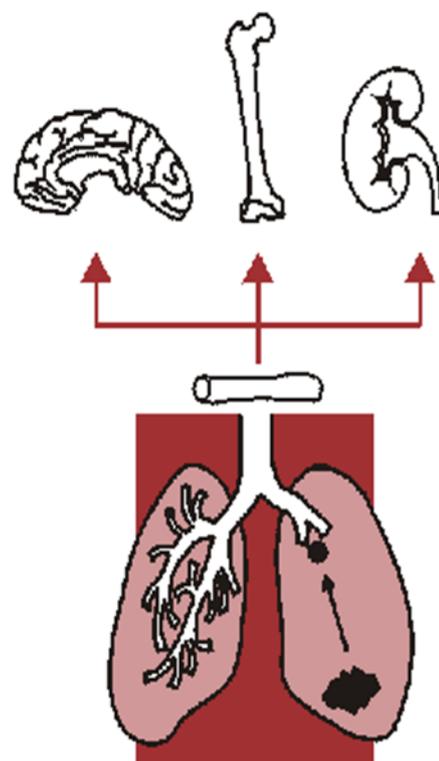
Inflamación local

- Diseminación local

Adenopatía regional

- Diseminación hematológica

Focos metastásicos múltiples

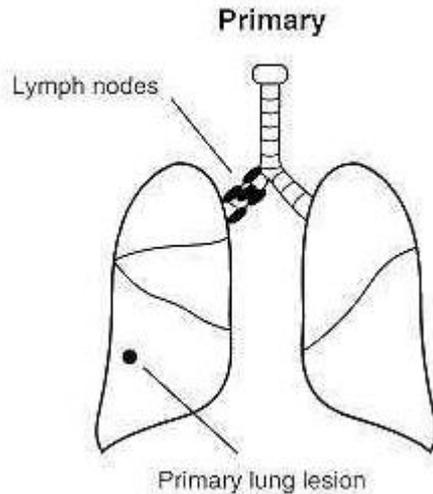


Inmunidad específica: Linfocitos → linfoquinas → M. activados

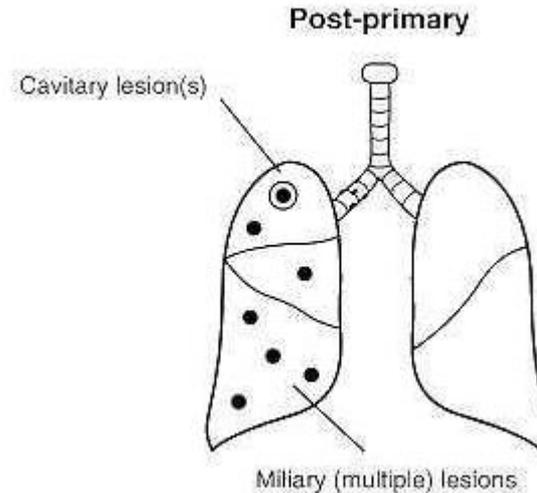


Tuberculosis pulmonar

Infección Primaria



Reinfección



- 95 % permanecen asintomáticos
- 5 % desarrolla enfermedad aparente

Se producen dos lesiones principales:

1. Tipo exudativo: es una reacción inflamatoria aguda con líquido de edema, PMN y monocitos que rodean a *M. tb*, se observa principalmente en tejido pulmonar, donde asemeja a una neumonía bacteriana. Puede cicatrizar de manera que todo el exudado se absorbe, puede dar lugar a una necrosis masiva del tejido, o puede evolucionar hacia el 2do tipo de lesión (productiva). Durante la fase productiva la prueba de la tuberculina es +.

2. Tipo productivo: Cuando esta completamente desarrollada la lesión, que es un granuloma crónico, consta de tres zonas: una zona central de células gigantes multinucleares, grandes, que contienen *M. tb*, una zona media de células epitelioides palidas y una zona periférica de fibroblastos, linfocitos y monocitos. Después se desarrolla tejido fibroso periférico y la zona central sufre necrosis caseosa. Esta lesión se denomina tubérculo. Un tubérculo caseoso puede romperse en el interior de los bronquios, vaciar allí su contenido y formar la cavidad. Subsecuentemente puede cicatrizar por fibrosis o calcificación.

Mycobacterium tuberculosis

Diagnóstico:

- Presuntivo: Síntomas clínicos
- Radiología de tórax (muestra lesión pulmonar en casos activos)
- Prueba de TUBERCULINA o Mantoux (intradermo-reacción que denota la infección previa y existencia de respuesta inmune)
- Bacteriológico

Prueba de Tuberculina

La prueba de tuberculina se utiliza con criterio epidemiológico en los controles de foco y con fines diagnósticos en casos muy particulares. Esta prueba requiere la máxima exactitud y estandarización de la técnica, a fin de obtener resultados confiables, reproducibles y comparables, y *deben ser realizadas por personal de enfermería entrenado y estandarizado*.

La prueba de tuberculina es prioritaria en los controles de foco de casos de TBp BAAR+ y CU+, para identificar a los pacientes de alto riesgo de contraer la TB y administrar la quimiopprofilaxis, así como para estudios con fines epidemiológicos y para pruebas de aproximación diagnóstica fundamentalmente en la TB infantil.

Vía de administración y dosis

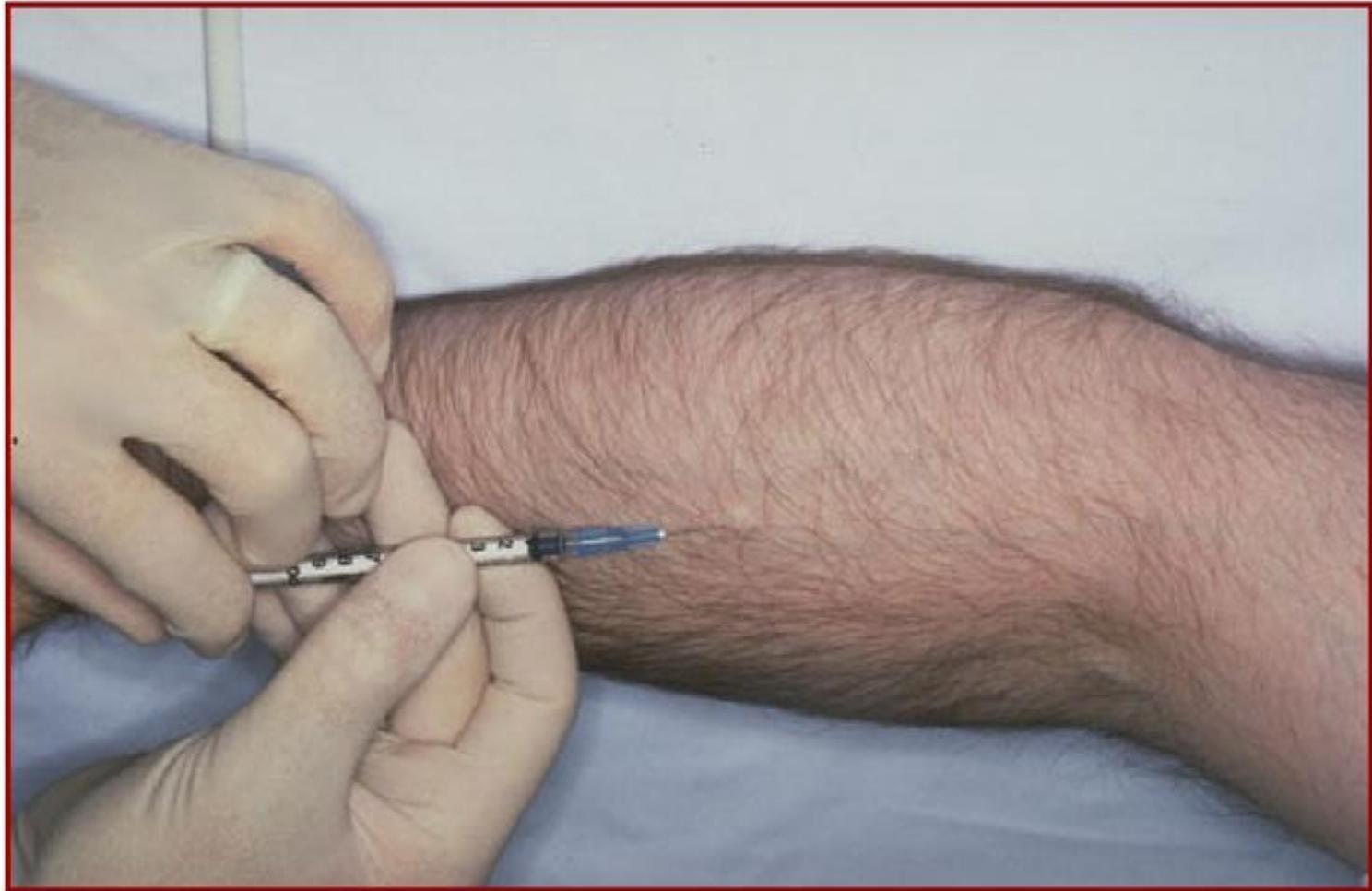
La tuberculina será administrada por vía intradérmica, en el plano dorsal del antebrazo izquierdo, en la unión del tercio superior con los dos tercios inferiores, hacia el borde externo. La dosis será de 0,1 mL de tuberculina RT-23 (2 UT). En caso de ser necesaria una segunda prueba, se realizará en el antebrazo derecho.

Lectura de la Prueba de Tuberculina

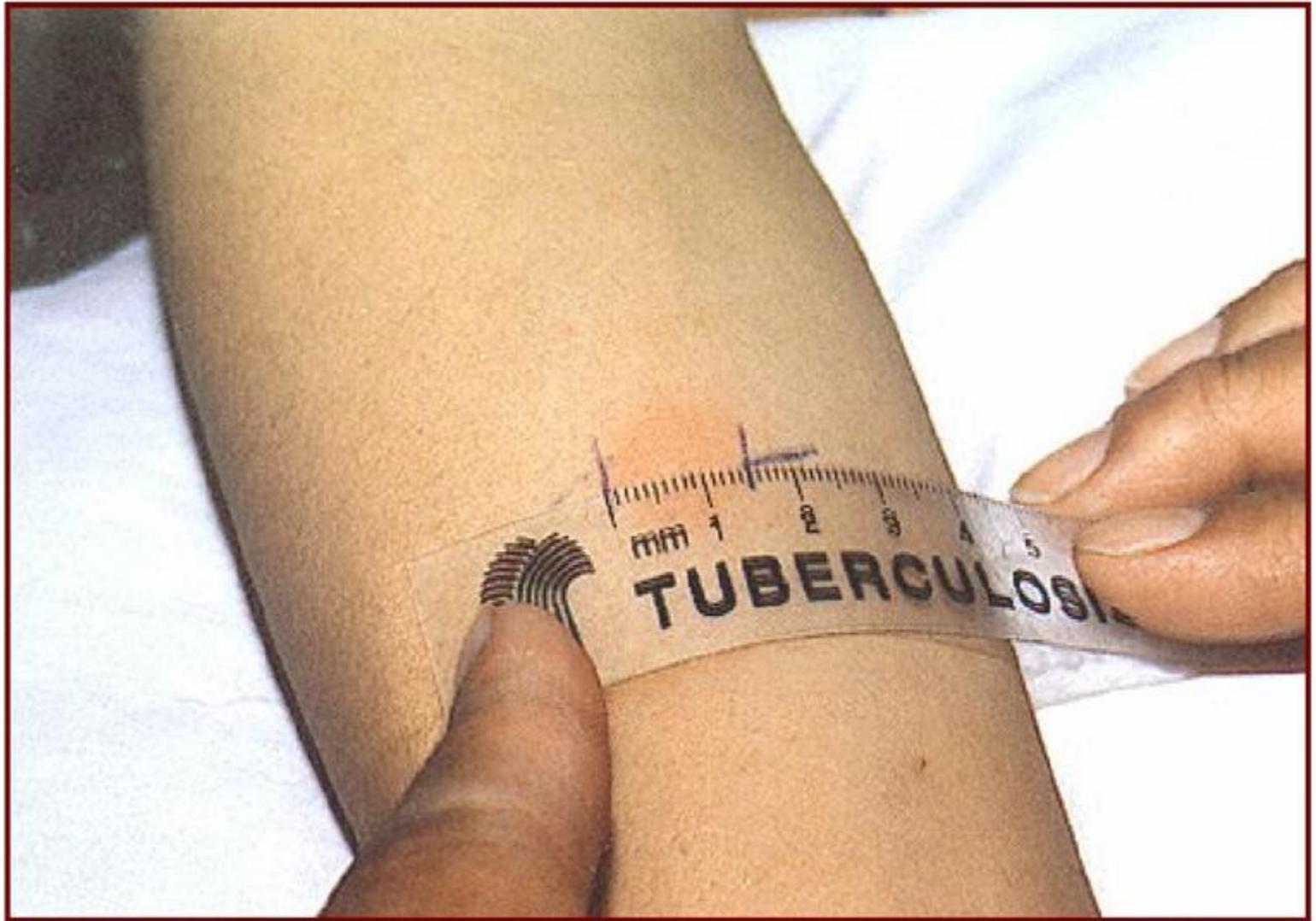
La lectura se realiza a las 72 h, mediante palpación suave y minuciosa para delimitar con exactitud los bordes de la induración en la zona infiltrada (no se mide la reacción sino la induración). Se mide en milímetros la induración obtenida, por el diámetro transversal al eje longitudinal del antebrazo, con una regla transparente graduada en milímetros.

Tabla: Interpretación de la PT

Lectura (mm)	Resultado
0-4 (no reactivos)	No infectados Falsos negativos
5-9 (reactivos débiles)	Infectados por <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Reacciones cruzadas Vacunados con BCG
10-14 (reactivos francos)	Infectados por <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Enfermos de TB Reacciones cruzadas Vacunados con BCG
15 o más (hiperérgicos)	Infectados Enfermos de TB



Realización de la prueba de tuberculina



Lectura de la prueba de tuberculina

Pasos para el diagnóstico bacteriológico

- Descontaminación del esputo
- Tinción para BAAR
- Observación microscópica. Codificación
- Siembra en IUT
- Incubación y prueba de clasificación en grupos (Runyon)
- Para crecedores lentos (+ de 8 semanas), pruebas de Niacina y catalasa 68°C

Diagnóstico de laboratorio

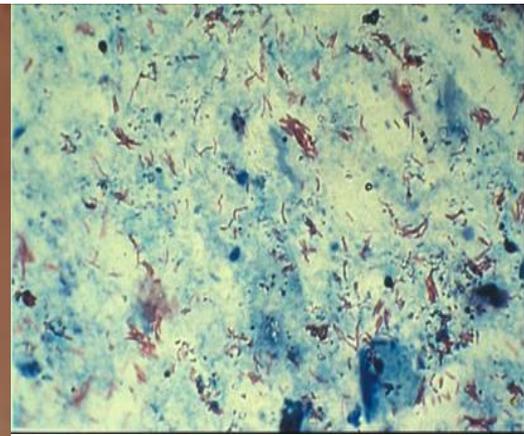
Muestras:

- Esputo
- Fluidos corporales
- Contenido gástrico
- Tejidos
- LCR

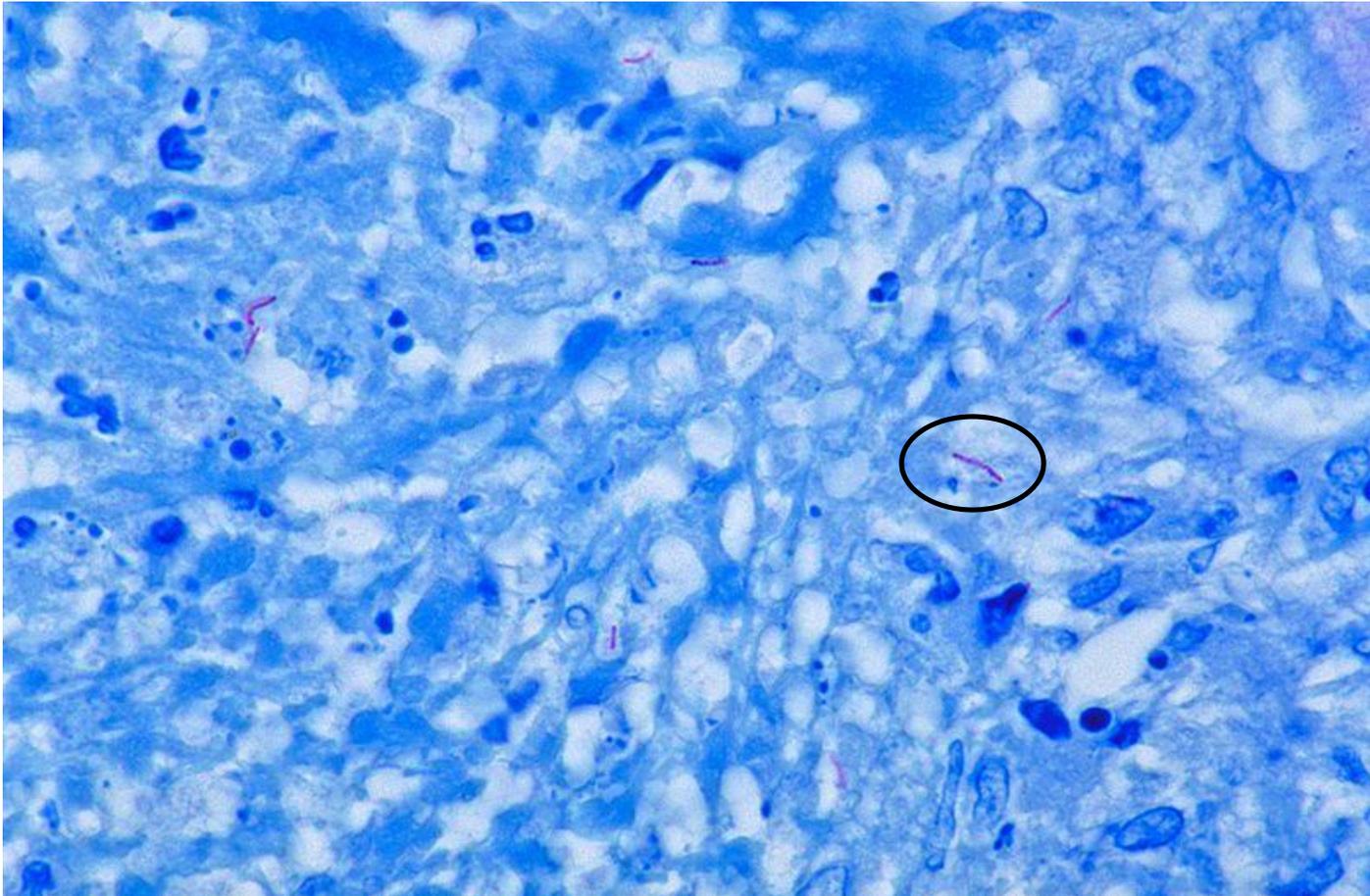


Baciloscopía.

Tinción de Ziehl-Neelsen



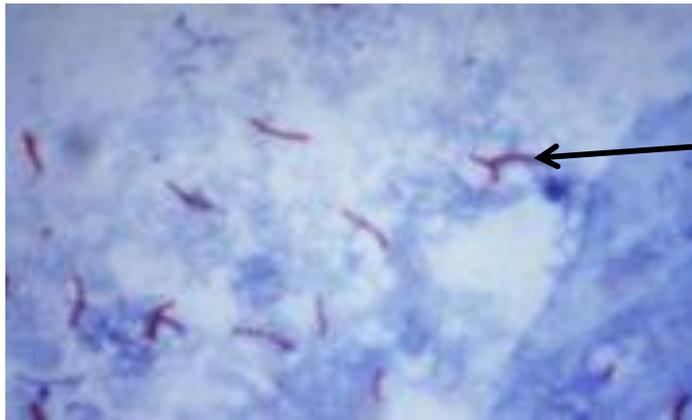
Coloración de Ziehl-Neelsen
o tinción para bacilos ácido alcohol resistentes
(BAAR)



Tinción de Ziehl-Neelsen (BAAR)

La **tinción de Ziehl-Neelsen (BAAR)** es una técnica de tinción diferencial, que se basa en que las paredes celulares de ciertas bacterias y parásitos contienen ácidos grasos que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos.

Las micobacterias como *Mycobacterium tuberculosis* y *M. leprae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Nocardia asteroides* y los parásitos coccídeos como *Cryptosporidium* se caracterizan por sus propiedades de ácido-alcohol resistencia.



Mycobacterium tuberculosis

Coloración de Ziehl-Neelsen

1. Cubrir frotis con fucsina básica
 2. Se calienta hasta que emita vapores
 3. Se decolora con alcohol-ácido (ácido clorhídrico al 3% en etanol)
 4. Aplicar colorante de contraste (azul de metileno o verde de malaquita)
- Microorganismos ácido-alcohol-resistentes (retienen el **color rojo** del primer colorante)
 - Microorganismos no ácido-alcohol-resistentes (toman el color del colorante de contraste)

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LA CODIFICACIÓN DEL FROTIS

	CODIFICACIÓN
Ningún bacilo en las 4 líneas	0
De 1 a 5 bacilos en las 4 líneas	el propio número
De 6 a 24 bacilos en las 4 líneas	6
25 o más bacilos en las 4 líneas	7
25 o más bacilos en una sola línea	8
Bacilos en la mayoría de los campos	9

Nos permite:

- El diagnóstico del grado de infecciosidad y peligrosidad
- Rompe la cadena de transmisión
- Valorar el estado clínico del paciente (seguimiento, recaídas)
- Evaluar la efectividad del tratamiento (si responde o no)
- Es un examen sencillo, rápido, poco costoso
- Aplicable a todos los niveles de salud
- codifica la muestra en dependencia del número de bacilos desde el código 0-9.

Cultivo de *M. tuberculosis*

Medios:

- Medio UIT (Lowenstein-Jensen) (huevos, sales minerales y verde malaquita)
- Middlebroock (agarizado)
- Caldo Souton

M. tuberculosis:

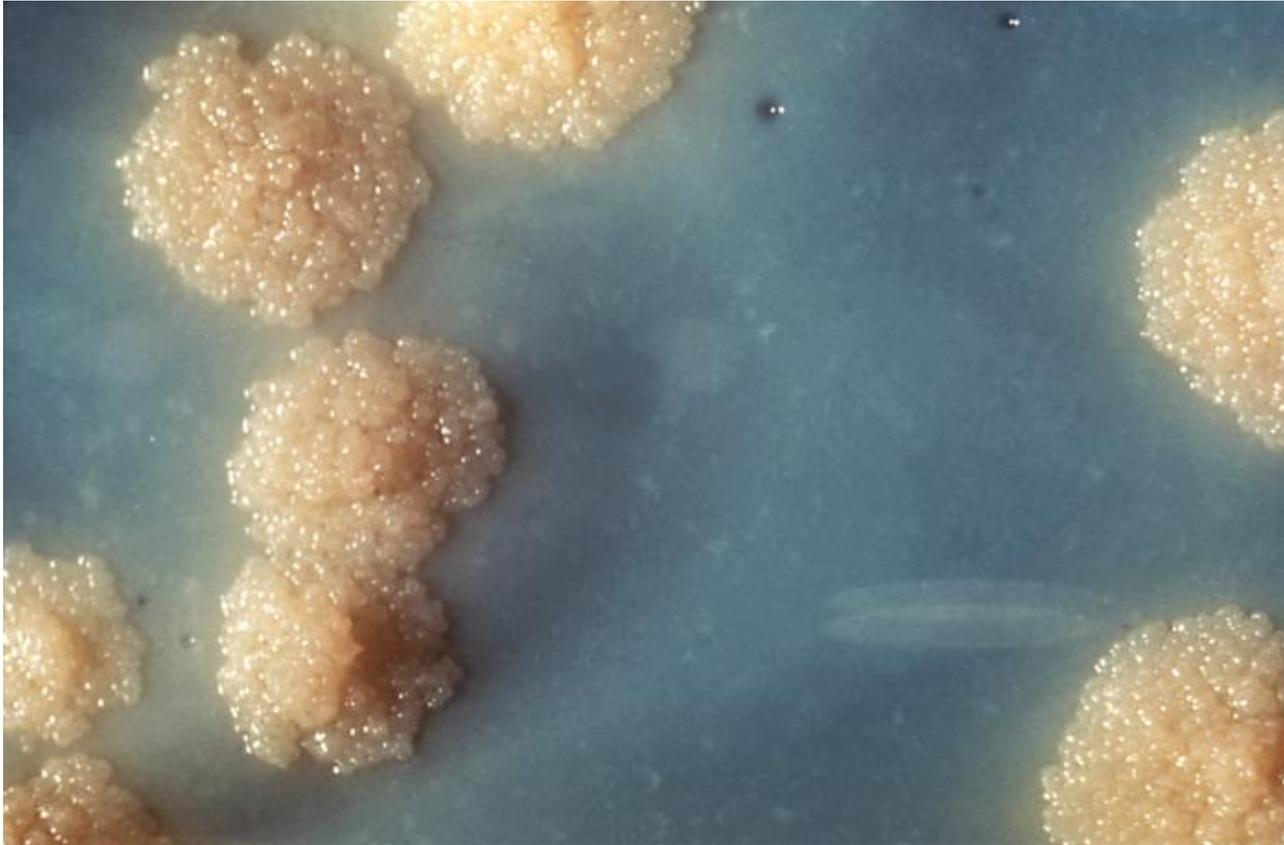
Niacina +

Catalasa 68 ° C -

Mycobacterium tuberculosis en medio de Löwenstein-Jensen



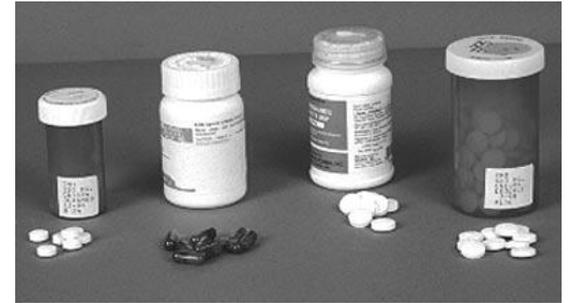
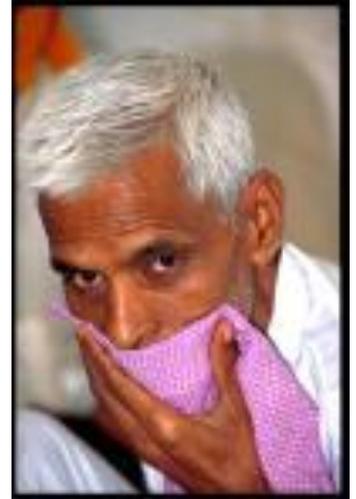
Cultivo de *M. tuberculosis*



Medio IUT, A 37°C, por un tiempo de hasta ocho semanas

Prevención y control

- Localización temprana de enfermos y fuentes de infección
- Tratamiento (combinado)
- Inmunización con el BCG (Bacillus Calmette-Guerin) (60-80% de efectividad)



Mycobacterium leprae

- Bacilio ácido alcohol-resistente
- Aerobio estricto
- Crecimiento lento

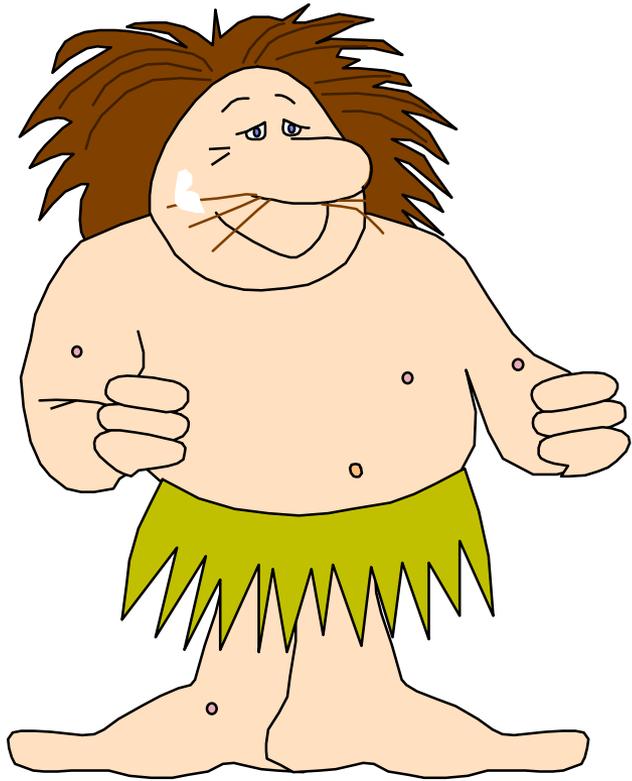


Mycobacterium no tuberculosis (Micobacteriosis atipicas)

- Produce enfermedad igual a la tuberculosis pero muy resistente a las drogas.
- Runyon la clasificó en 4 grupos basadas en la velocidad de crecimiento y la producción de pigmentos en presencia o ausencia de la luz.
- Ampliamente distribuidas en medio ambiente.
- Oportunistas.
- Las mas sfrecuentes son:
M. Avium complex, M kansassi, M fortuiton,
M chelonae etc.

Mycobacterium no tuberculosis (Micobacteriosis atipicas)

- Produce enfermedad igual a la tuberculosis pero muy resistente a las drogas.
- Runyon la clasificó en 4 grupos basadas en la velocidad de crecimiento y la producción de pigmentos en presencia o ausencia de la luz.
- Ampliamente distribuidas en medio ambiente.
- Oportunistas.
- Las mas sfrecuentes son:
M. Avium complex, M kansassi, M fortuiton,
M chelonae etc.



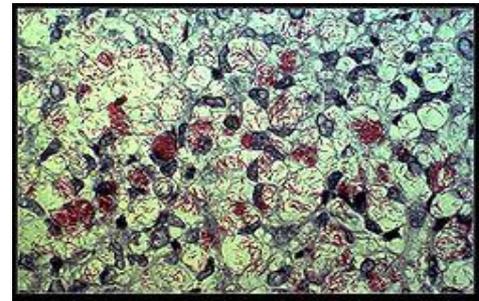
**Es una de las
enfermedades más
antiguas que recuerda la
humanidad**

MYCOBACTERIUM LEPRAE

La micobacteria en cuestion fue descrita por Hansen en 1873.

El microorganismo aún no ha sido cultivado in Vitro; casi un siglo después se logra la multiplicación en la almohadilla plantar del ratón, y años más tarde la diseminación de la infección en el armadillo de nueve bandas. El tiempo de multiplicación de este bacilo es lento, entre 11 y 16 días.

Es un organismo intracelular con afinidad por las células de Schwann y las células del sistema reticuloendotelial.



CARACTERÍSTICAS DE *M. leprae*

- Bacilos finos de similares dimensiones y morfología al bacilo tuberculoso
- Menos ácido-alcohol-resistentes.
- Se tiñen con la tinción de Zielh- Neelsen modificada
- No se han podido cultivar en medios artificiales ni en cultivos celulares
- Crecimiento en plantas palmares de Armadillos de nueve bandas(?)
- Crecimiento en plantas palmares de ratón timectomizado (?)

FACTORES DE VIRULENCIA DEL BACILO DE HANSEN

- Glicolípido fenólico (inmunosupresor)
 - Antígenos proteicos
 - 2L65 y IL70(proteínas de choque térmico)
 - 4L28 (superóxidodismutasa)
- Consecuencias:
- Sobrevivencia intracelular en macrófagos
 - Liberación de antígenos

 - Liberación de enzimas lisosomales

Características clínicas de la lepra

- Enfermedad transmisible, crónica, de alta contagiosidad y baja patogenicidad.
- Lenta evolución (crecimiento intracelular en los macrófagos).
- Tejidos afectados: piel, mucosas de las vías respiratorias y nervios periféricos.
- Lesiones mutilantes y desfigurantes.
- Lesión primaria: leproma.
- Causa granulomas, nódulos y máculas.
- Incubación de 2 a 10 años.
- Componente inmunológico y predisposición de los individuos.

PATOGENIA

- Penetra por contacto prolongado con los enfermos, los bacilos pasan a la piel y se multiplican en los macrófagos de la piel (histiocitos), y en los nervios periféricos (células de Schwann). Son parásitos intracelulares obligados de estas células.
- Produce lesiones granulomatosas. Se extienden principalmente a la piel y los nervios periféricos. La destrucción de estos últimos produce lesiones tanto motoras (parálisis) como sensitivas (anestesia, pérdida de sensibilidad especialmente al frío y calor).

PATOGENIA

- Afecta generalmente las partes más frías del cuerpo: nariz, lóbulo de la oreja, así como los nervios periféricos.
- Enfermedad de comienzo insidioso y lento, y el curso de ella esta en dependencia del compromiso inmunológico de cada paciente, a menor deficiencia de linfocitos T mayor la probabilidad de evolución a la lepra mas severa (lepromatosa).

Epidemiología

- Reservorio: desconocido, probablemente el hombre enfermo
- Vía de entrada: desconocida, se supone sea el contacto íntimo y prolongado con un enfermo
- Período de incubación: largo (entre 3 meses y 40 años)
- Período de transmisión: mientras haya bacilos morfológicamente normales. Después de comenzado el tratamiento desaparece antes de los 3 meses. La forma lepromatosa es mas contagiosa que las demás.
- Grupo de riesgo: mas susceptibles los niños, mientras la enfermedad se desarrolla durante la adultez
- Distribución: endémica

Formas Clínicas

Lepra dimorfa (Multibacilar)

Lepra Lepromatosa (Multibacilar)

Lepra Indeterminada (Multibacilar)

Lepra Indeterminada (Paucibacilar)

Lepra Tuberculoide (Paucibacilar)

CLASIFICACIÓN DE MADRID (1953)

Lepra lepromatosa (LL)

Lepra dimorfa (LD)

Lepra indeterminada (LI)

Lepra tuberculoide (LT)

- **Operacional / OMS (1982)**

Lepra paucibacilar - hasta 5 lesiones, apenas un tronco nervioso comprometido, baciloscopia negativa.

Lepra Multibacilar - Más de 5 lesiones, más de un tronco nervioso comprometido y baciloscopia positiva.

M. leprae

Período de incubación

3-5 años

Infec.
Subclínica

Enfermedad

I

LT

BT

BB

BL

LL

Paucibacilar

Multibacilar

Curación
Espontánea
85-90%

LEPRA INDETERMINADA

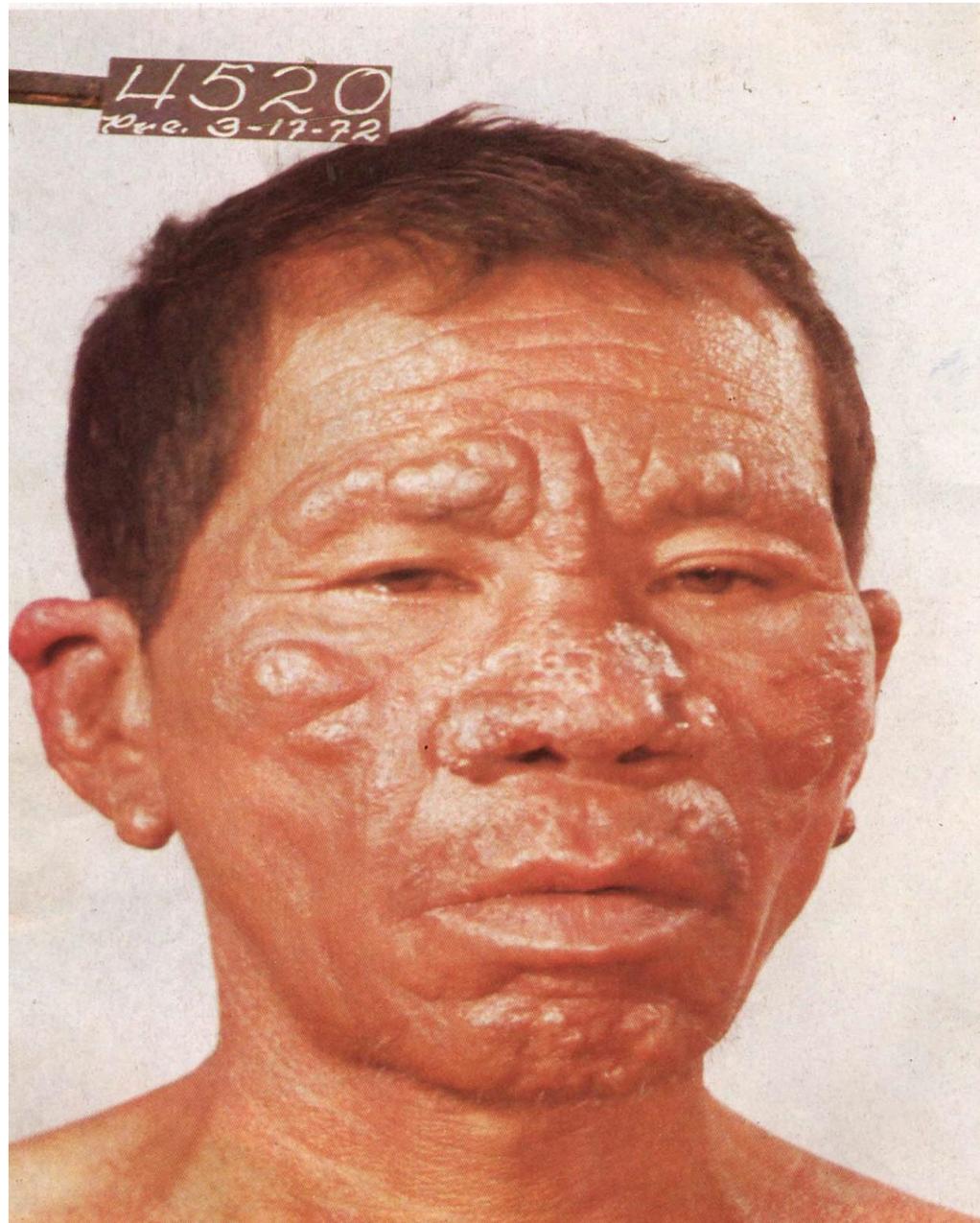


LEPRA TUBERCULOIDE



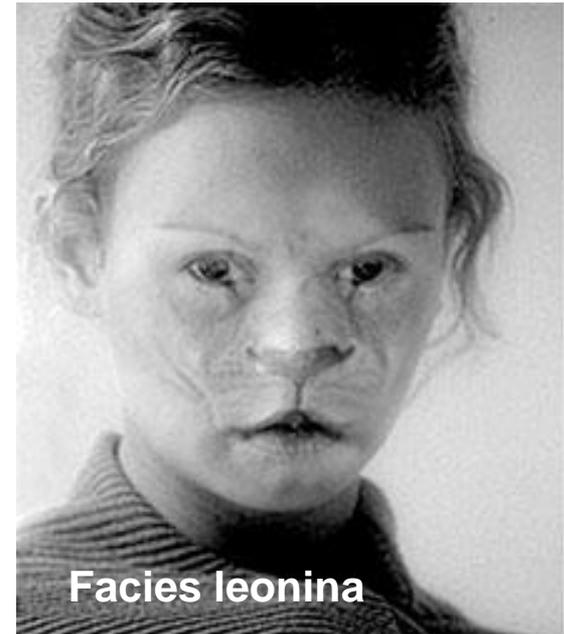
LEPRA LEPROMATOSA





FASCIES LEONINA EN LL

Lepra lepromatosa



Facies leonina



Lepra lepromatosa

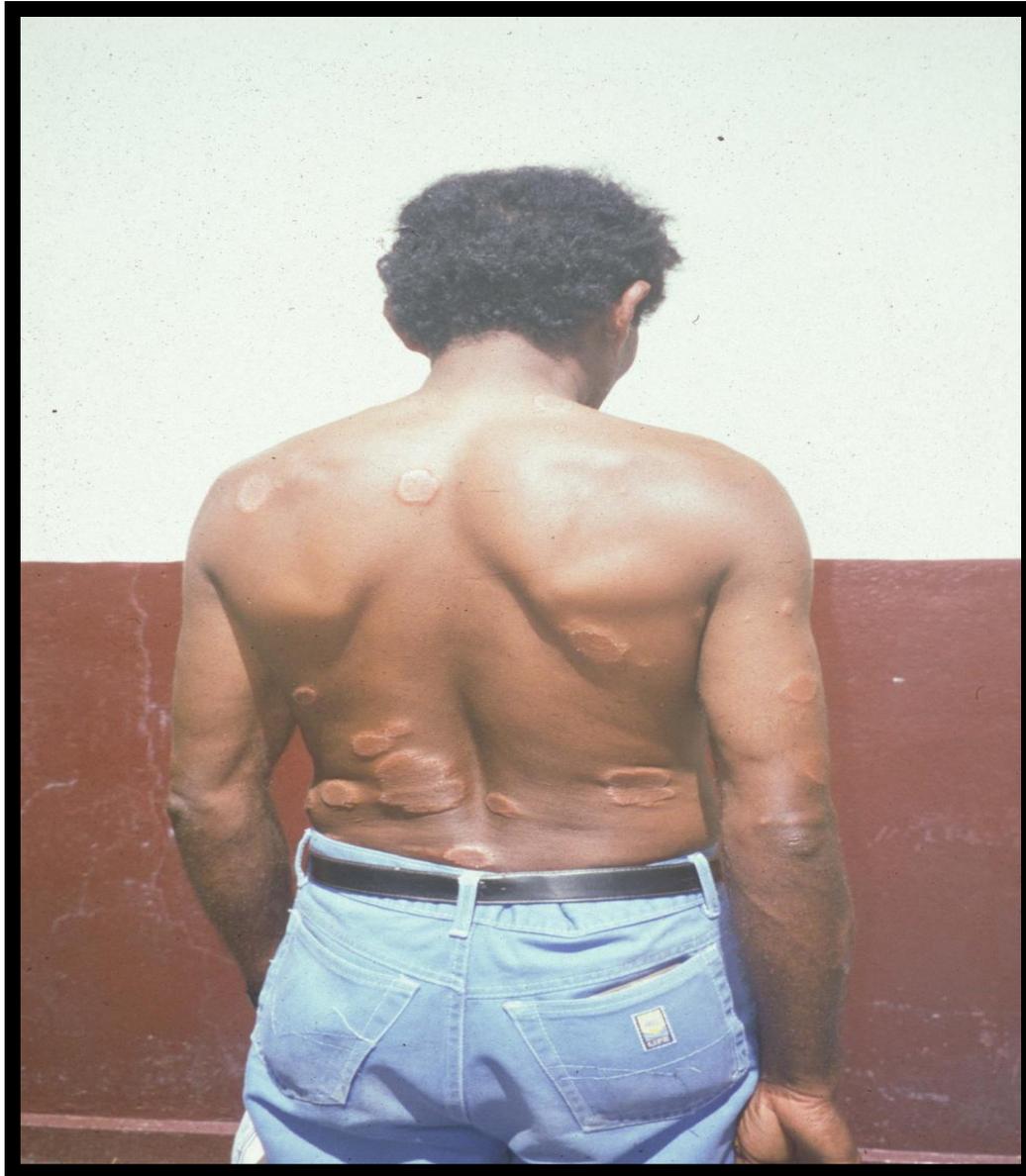




LEPRA BB O DIMORFA



LEPRA BORDENLINE - TUBERCULOIDE



LEPRA BORDENLINE - LEPROMATOSA



DIAGNÓSTICO DE LA LEPRA

Basada en análisis:

- Clínicos (detección de lesiones por el dermatólogo)
- Inmunológico (Prueba de Mitsuda o lepromina: - poca defensa,+ mayor resistencia)
- Histopatológico (células gigantes o de Virchow)
- Bacteriológico: BAAR (aislados o en globi)

Muestras para el diagnóstico bacteriológico:

- Linfa del lóbulo auricular y del pliegue del codo
- Linfa de manchas o lesiones (lepromas)
- Mucus nasal

Diagnóstico bacteriológico

- Tinción de Ziehl Neelsen modificada.
- No ha podido cultivarse en cultivos de células ni en medios artificiales.

Lectura y valoración

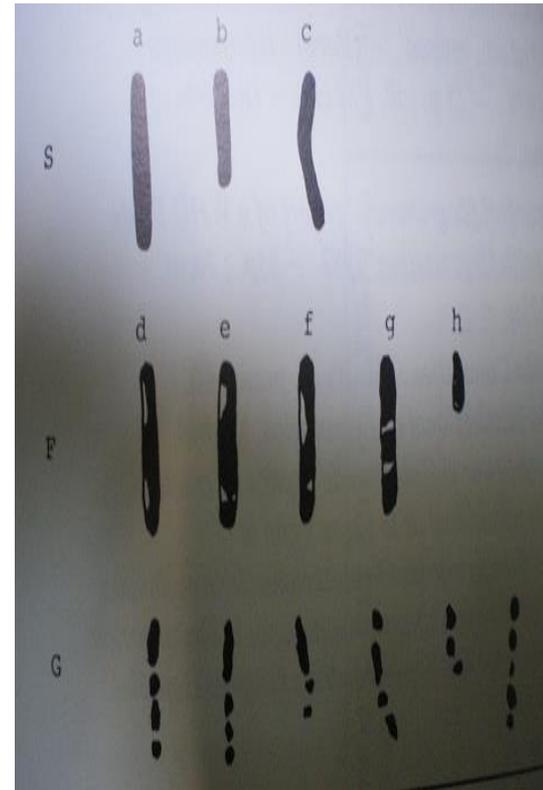
Se realiza , con lente de inmersión 1000X y con filtro azul.

S) Bacilos sólidos: Son bacterias que muestran una tinción uniforme en su totalidad.

(F) Bacilos fragmentados: Coloración irregular, como apolillado, pero se delinean los contornos del bacilo.

(G) Bacilos granulosos: Se observan zonas no teñidas perdiéndose el contorno (se ven como gránulos alineados).

Bacilos en acúmulo o globi: Es típica de las formas MB. No se visualiza la forma celular, sino un paquete apretado desde 25 a 100 bacilos o más.

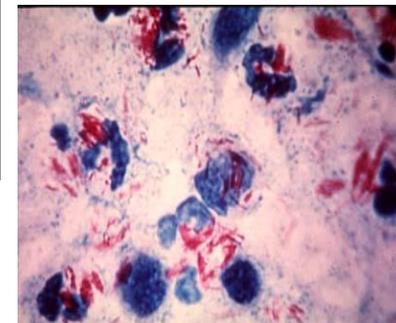


IB: INDICE BACTERIOLÓGICO

Se utiliza la escala logarítmica de Ridley, se basa en el promedio de bacilos (S, F, y G) observados en el la muestra.



IB	BACILOS OBSERVADOS
0	Ningún bacilo en toda la lámina
1	1 a 10 bacilos en la lámina
2	1 a 10 bacilos en cada 10 campos.
3	1 a 10 bacilos por campo
4*	10 a 100 bacilos por campo (globis)
5	100 a 1000 bacilos por campo
6	Más de 1000 bacilos por campo



Prevención y control

- Identificación y tratamiento de los enfermos.
- Tratamiento profiláctico a los niños cuyos padres sean contagiosos.