



SALUD

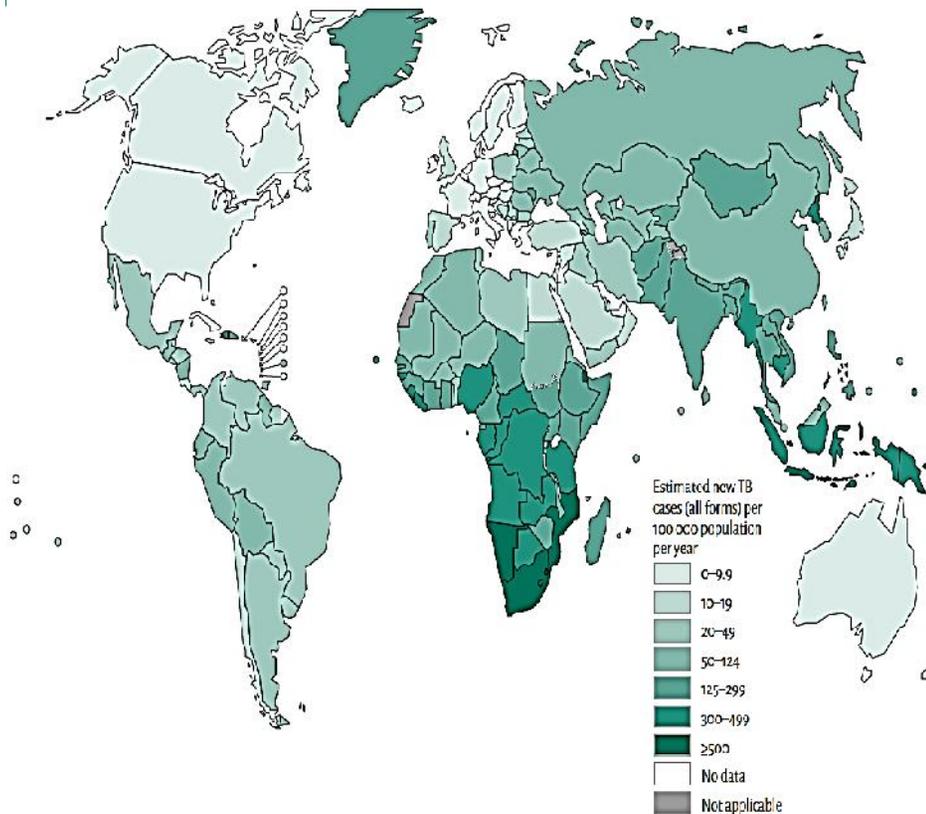
SECRETARÍA DE SALUD

INDICACIONES PARA EL CULTIVO Y PRUEBAS DE FÁRMACOSENSIBILIDAD DE PRIMERA Y SEGUNDA LÍNEA

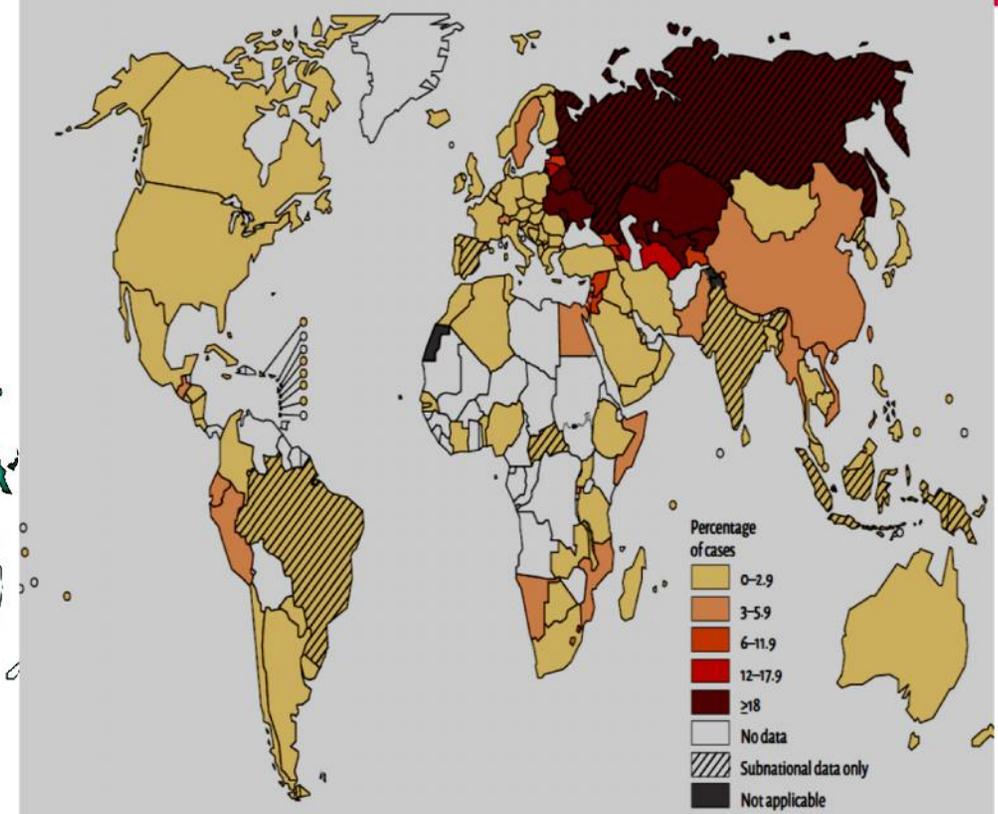


Tuberculosis

Estimated TB incidence rates, 2014



Percentage of new TB cases with MDR-TB^a



Se considera que la tercera parte de la población está infectada con TB; se estimaron que en el 2015, 9.6 millones de personas desarrollaron TB y 1.5 murieron.

De estos casos nuevos 480 000 desarrollaron TB MDR

Tuberculosis

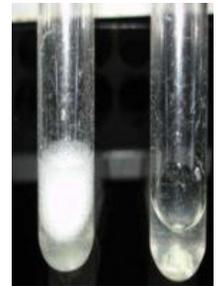
PROGRAMA NACIONAL DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA TUBERCULOSIS (PNCTB)



OBJETIVO

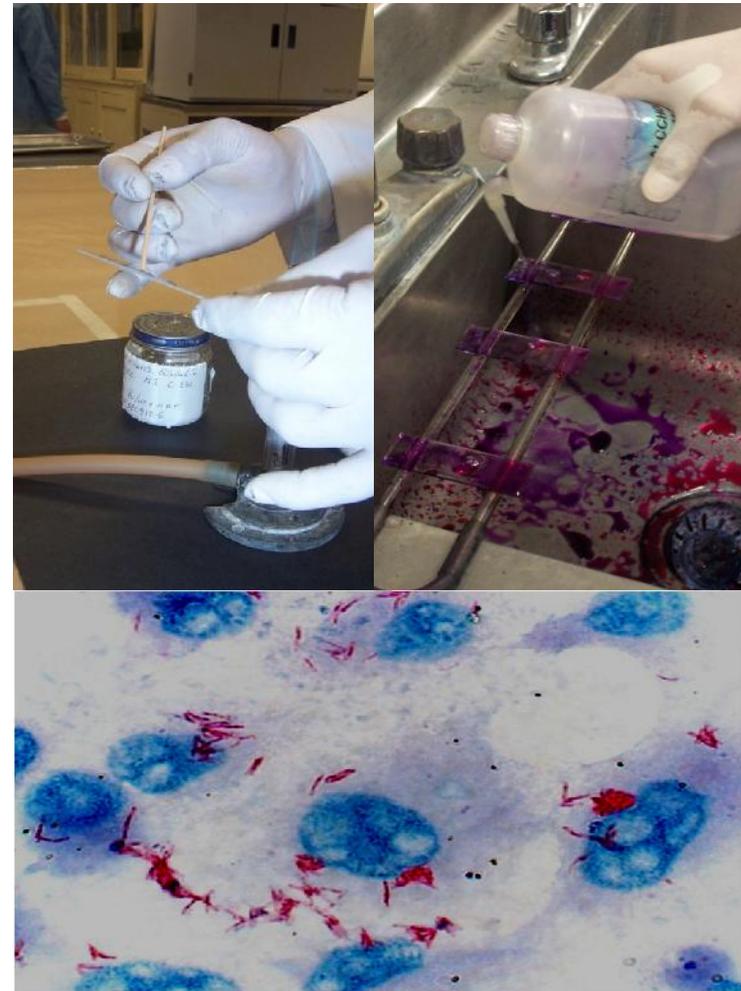
CORTAR LA CADENA DE TRANSMISIÓN DE LA TB

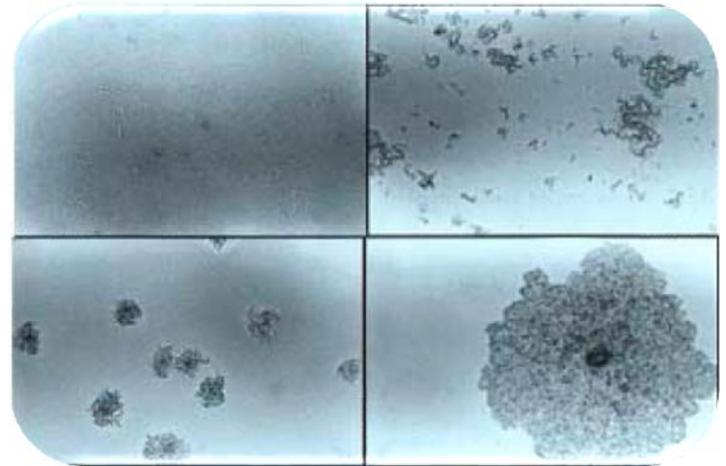
EL LABORATORIO FORMA PARTE INTEGRAL DEL PNCTB



La Baciloscopia

**La baciloscopia
sigue siendo la
técnica de
elección para
confirmar los
casos infecciosos
(pulmonares).**





Cultivo



CULTIVO

Medio Sólido

- Base de huevo: Löwenstein-Jensen, Stonebrink
- Base de Agar: Middlebrook 7H10, 7H11



Cultivo En Medio Sólido

Ventajas

Costo bajo

Observar Morfología

Técnica más sensible que provee un Dx definitivo

Aumenta el número de casos confirmados (15-30%).

Puede detectar casos tempranamente, aún antes de llegar a ser infecciosos



Desventajas

Mayor tiempo para obtener resultados

Lectura es manual

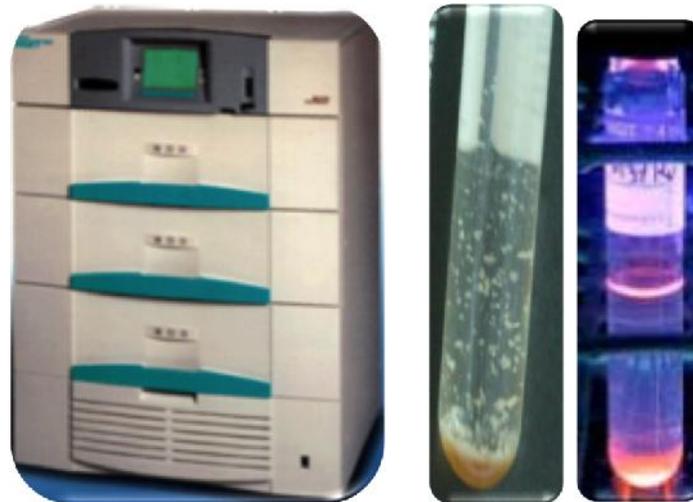
Mas costoso

Mayor preparación de personal

Bioseguridad y equipo especial

Medio Líquido

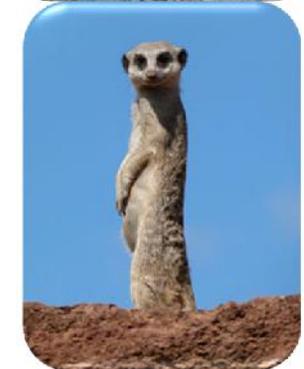
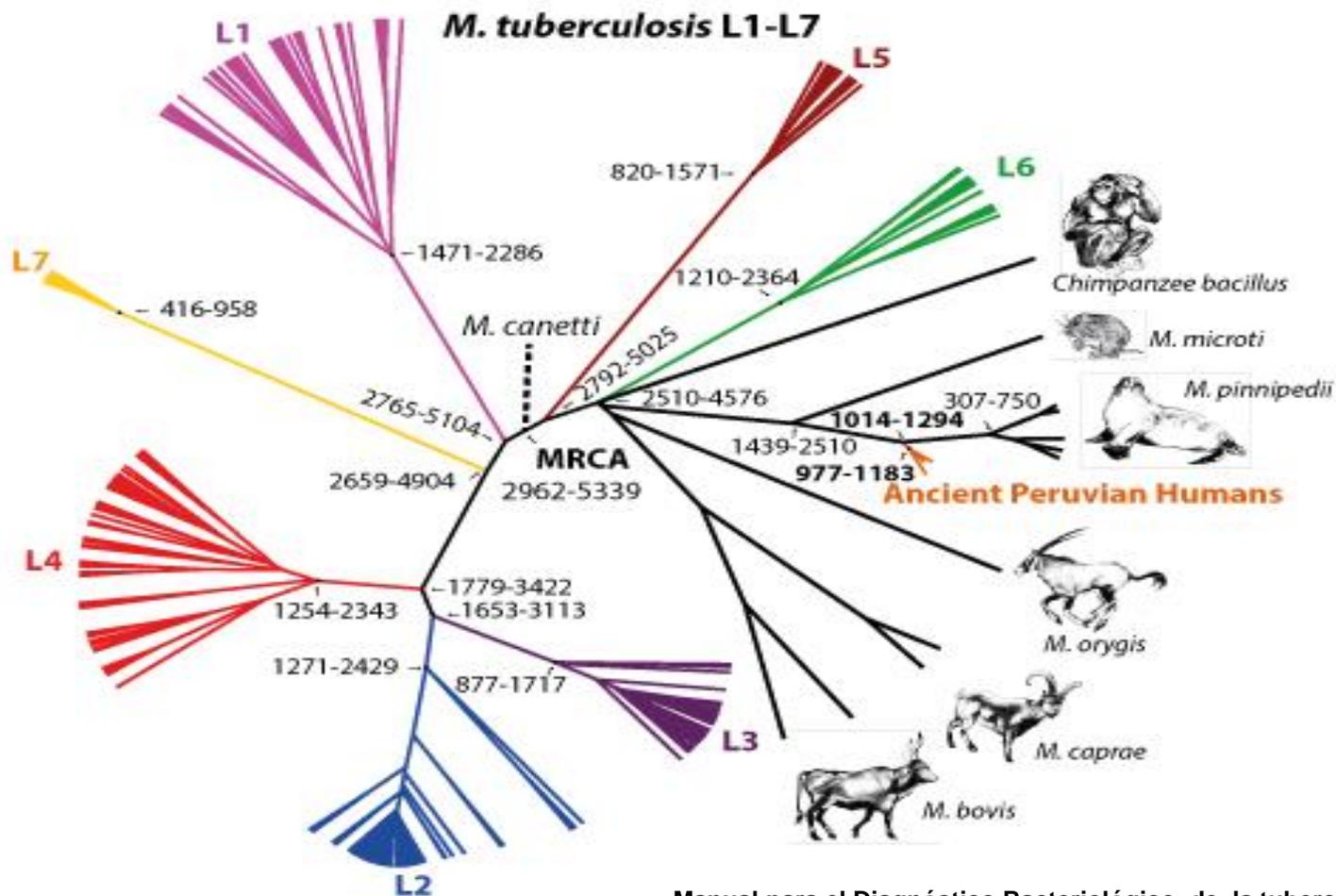
- Métodos manuales: Turbidez del medio
- Métodos automatizados: sensores incorporados en el medio líquido que cambian de color o emiten fluorescencia cuando los bacilos consumen O_2 o liberan CO_2



Identificación

Todo cultivo positivo tiene que ser identificado

Es indispensable que todo laboratorio que realice PFS identifique previamente el cultivo, para diferenciar *M. tuberculosis* de MNT



Especie	Descrito por	Cepas tipo	Especie	Descrito por	Cepas tipo
<i>M. abscessus</i>	Kusunoky y Ezaki (1992)	ATCC 19977	<i>M. lepraemurium</i>	Marchoux y Sorel (1912)	No designada
<i>M. africanum</i>	Castets, Rist y Boisvert (1969)	ATCC 25420	<i>M. madagascariense</i>	Kazda et al (1992)	ATCC 49865
<i>M. agri</i>	Tsukamura (1981)	ATCC 27406	<i>M. mageritense</i>	Doménech et al (1997)	En trámite
<i>M. aichiense</i>	Tsukamura, Mizuno y Tsukamura (1981)	ATCC 27280	<i>M. malmoense</i>	Schröder y Juhlin (1977)	ATCC 29571
<i>M. alvei</i>	Ausina et al (1992)	CIP 103464	<i>M. marinum</i>	Aronson (1926)	ATCC 927
<i>M. asiaticum</i>	Weiszfeiler, Karasseva y Karczag (1971)	ATCC 25276	<i>M. microti</i>	Reed, Breed et al (1957)	NCTC 8710
<i>M. aurum</i>	Tsukamura (1966)	ATCC 23366	<i>M. moriokaense</i>	Tsukamura, Yano e Imaeda (1987)	ATCC 43059
<i>M. austroafricanum</i>	Tsukamura, Van der Muelen y Grabow (1983)	ATCC 33464	<i>M. mucogenicum</i>	Springer et al (1995)	ATCC 49650
<i>M. avium</i>	Chester (1901)	ATCC 25291	<i>M. neoaurum</i>	Tsukamura (1972)	ATCC 25795
<i>M. bovis</i>	Karlsion y Lessel (1970)	ATCC 19210	<i>M. nonchromogenicum</i>	Tsukamura (1965)	ATCC 19530
<i>M. branderi</i>	Koukila-Kähkölä et al (1995)	ATCC 51789	<i>M. novocastrense</i>	Shojaei et al (1997)	DSM 44203
<i>M. brumae</i>	Luqun et al (1993)	CIP 103465	<i>M. obuense</i>	Tsukamura, Mizuno y Tsukamura (1981)	ATCC 27023
<i>M. celatum</i>	Butler et al (1993)	ATCC 51131	<i>M. parafortuitum</i>	Tsukamura (1966)	ATCC 19686
<i>M. chelonae</i>	Bergey et al (1923)	NCTC 946	<i>M. paratuberculosis</i>	Bergey et al (1923)	ATCC 19698
<i>M. chitae</i>	Tsukamura (1967)	ATCC 19627	<i>M. peregrinum</i>	Kusunoky and Ezaki (1992)	ATCC 14467
<i>M. chlorophenolicum</i>	Hägglöf et al (1994)	DSM 43826	<i>M. phlei</i>	Lehmann y Neumann (1899)	ATCC 11758
<i>M. chubuense</i>	Tsukamura, Mizuno y Tsukamura (1981)	ATCC 27278	<i>M. porcinum</i>	Tsukamura, Nemoto y Yugi (1983)	ATCC 33776
<i>M. confluentis</i>	Kirschner et al (1992)	DSM 44017	<i>M. poriferae</i>	Paagit y Moshier (1987)	ATCC 35087
<i>M. conspicuum</i>	Springer et al (1995)	DSM 44136	<i>M. pulveris</i>	Tsukamura, Nemoto y Yugi (1983)	ATCC 33776
<i>M. cookii</i>	Kazda et al (1990)	ATCC 49103	<i>M. poriferae</i>	Paagit y Moshier (1987)	ATCC 35087
<i>M. diernhoferi</i>	Tsukamura, Grabow y Van der Muelen (1983)	ATCC 19340	<i>M. pulveris</i>	Tsukamura, Mizuno y Toyama (1983)	ATCC 35154
<i>M. duvalii</i>	Stanford y Gunthorpe (1971)	NCTC 358	<i>M. rhodesiae</i>	Tsukamura, Mizuno y Tsukamura (1981)	ATCC 27024
<i>M. fallax</i>	Lévy-Frébault et al (1983)	CIP 8139	<i>M. scrofulaceum</i>	Prissick y Masson (1956)	ATCC 19981
<i>M. farcinogenes</i>	Chamoiseau (1979)	NCTC 10955	<i>M. senegalense</i>	Chamoiseau (1973)	NCTC 10956
<i>M. flavescens</i>	Bojalil, Cerbón y Trujillo (1962)	ATCC 14474	<i>M. simiae</i>	Chamoiseau (1979) Karasseva, Weiszfeiler y Krasznay (1965)	ATCC 25275
<i>M. fortuitum</i>	Da Costa Cruz (1938)	ATCC 6841	<i>M. shimoidei</i>	Tsukamura (1982)	ATCC 27962
<i>M. gadium</i>	Casal y Calero (1974)	ATCC 27726	<i>M. smegmatis</i>	Trevisan (1889) Lehmann y Neumann (1899)	ATCC 19420
<i>M. gastri</i>	Wayne (1966)	ATCC 15754	<i>M. sphagni</i>	Kazda (1980)	ATCC 33027
<i>M. genavense</i>	Böttger et al (1993)	ATCC 51234	<i>M. szulgai</i>	Marks, Jenkins y Tsukamura (1972)	NCTC 10831
<i>M. gilvum</i>	Stanford y Gunthorpe (1971)	NCTC 10742	<i>M. terrae</i>	Wayne (1996)	ATCC 15755
<i>M. gordonae</i>	Bojalil, Cerbón y Trujillo (1962)	ATCC 14470	<i>M. thermoresistibile</i>	Tsukamura (1966)	ATCC 19527
<i>M. hassiacum</i>	Schröder et al (1997)	DSM 44199	<i>M. tokaiense</i>	Tsukamura, Mizuno y Tsukamura (1981)	ATCC 27282
<i>M. haemophilum</i>	Sompolinsky et al (1978)	ATCC 29548	<i>M. triplex</i>	Floyd et al (1997)	ATCC 70071
<i>M. hiberniae</i>	Kazda et al (1993)	ATCC 49874	<i>M. triviale</i>	Kubica et al (1970)	ATCC 23292
<i>M. hodleri</i>	Kleespies et al (1996)	DSM 44183	<i>M. tuberculosis</i>	Zopf (1883) Lehman y Neumann (1896)	ATCC 27294
<i>M. interjectum</i>	Springer et al (1993)	DSM 44064	<i>M. ulcerans</i>	Mac Callum, Tolhurst y Buckle (1950)	ATCC 19423
<i>M. intermedium</i>	Kirschner et al (1993)	DSM 44049	<i>M. vaccae</i>	Bönicke y Juhasz (1964)	ATCC 15483
<i>M. intracellulare</i>	Cuttino y McCabe (1949) Runyon (1965)	ATCC 13950	<i>M. xenopi</i>	Schwabacher (1959)	NCTC 10042
<i>M. kansaii</i>	Hauduroy (1955)	ATCC 12478			
<i>M. komossense</i>	Kazda y Müller (1979)	ATCC 33013			
<i>M. lentiflavum</i>	Springer et al (1996)	ATCC 51985			
<i>M. leprae</i>	Hansen (1880) Lehman y Neumann (1896)	No cultivada			

Indicaciones para el cultivo

Diagnóstico

- **Pacientes con tres BKs (-) y sospecha clínica y radiológica de TB**
- **TB extrapulmonar**
- **TB renal o genitourinaria**
- **TB en niños**
- **Sospecha de TB en pacientes VIH / SIDA y/o diabetes descompensada**

- **Dx en pacientes previamente tratados**
- **Pacientes que al término de la fase intensiva del Tx tienen Bk +**
- **Para control bacteriológico de los casos TBMFR (BK mensual y cultivo bimensual)**

- **Previo al inicio del TX en pacientes contacto de un caso de TBMFR**
- **En casos de reingreso por recaída o fracaso**
- **En SR con DM descompensada que viven en zonas de alta incidencia de TBFR**
- **Para confirmar y ampliar los estudios de pacientes identificados con nuevas técnicas (Xpert-TB RIF, biología molecular, etc.)**

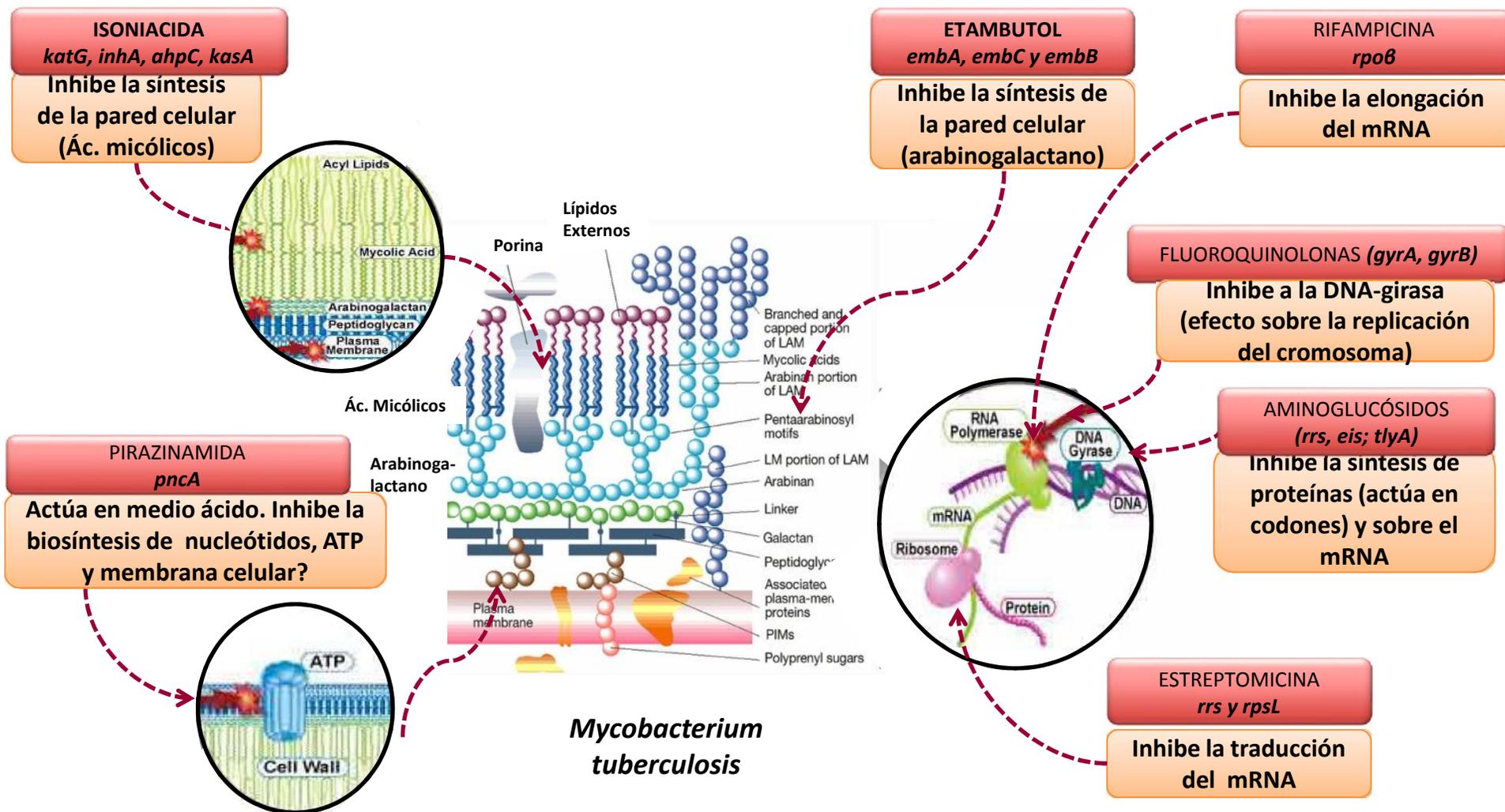
Pruebas de fármacosensibilidad (PFS)

Son los métodos de laboratorio que permiten determinar *in vitro* si el crecimiento de los bacilos de *M. tuberculosis* aislados de un paciente (TB) son inhibidos (**sensibles**) o no (**resistentes**) por un fármaco.

Resistencia en tuberculosis



Dianas de los Fármacos Anti-tuberculosis de primera y segunda línea



Método de las Proporciones en LJ y sus variantes Medios semi-sintéticos

Middlebrook 7H10 y 7H11

Resultados : 4-6 semanas

MGIT 960: fármacos de 1 y 2da línea

Resultados: 8-15 días



Medio líquido comparado con medio sólido

Ventajas:

- Mas rápido
- Alta calidad del medio
- Sistema totalmente automatizado
- PDS de 1^{ra}, 2^{da}, y nuevas drogas
- Bioseguridad: Tubos de plástico

Desventajas:

- Costo-beneficio
- Alto índice de contaminación
- Dependencia a una compañía



Características de los aislados clínicos

Cultivo puro de
M. tuberculosis en fase de
crecimiento activo

Aislados de
M. tuberculosis de medios de
cultivos primarios o
subcultivos



Características de los aislados clínicos

Cultivos inadecuados

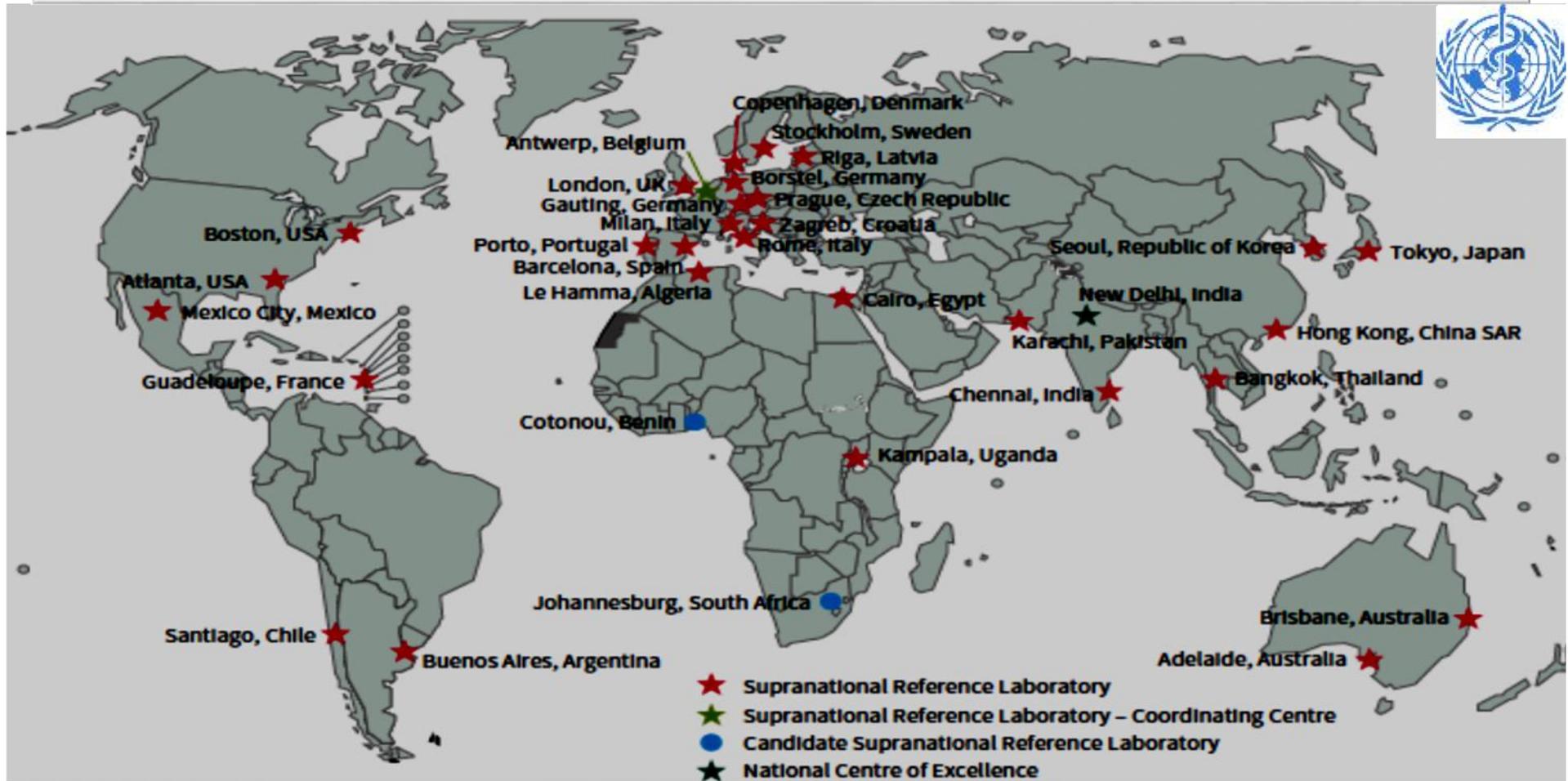
Aislados mezclados
o contaminados

Aislados con más
de 4-5 semanas de
crecimiento

Aislados desecados

Aislados subcultivados
en forma excesiva

TB SUPRANATIONAL REFERENCE LABORATORY NETWORK (SRLN 34)



El CC del Dx por laboratorio en la TBMDR Y TBXDR es crucial; se debe asegurar la exactitud, confiabilidad y reproducibilidad de las PFS

Indicaciones de PFS 1 línea

6 grupos de riesgo para vigilancia obligatoria en FR

1. Fracaso a Retratamiento primario
2. Contactos de un caso con TBMFR
3. Fracaso a Tratamiento primario
4. Recaídas y reingresos por abandonos previos
5. BK+ al 2º o 3er mes del tratamiento primario o retratamiento primario
6. Comorbilidad TB-VIH y TB DM descontrolada

Nunca olvidar →

- 1) Trabajador de salud
- 2) Privados de la libertad

Iniciar con casos nuevos 20%(transmisibilidad) 2014

¿Qué hacer ante la presencia de un grupo de riesgo para TB FR?

✓ Solicitar cultivo y Pruebas de farmacosenibilidad(PFS)

Todo paciente que fracase al tx primario, los que abandonen, recaigan o fracasen a un retratamiento con fármacos de primera línea

Solo única y exclusivamente cuando el GANAFAR en colaboración con el COEFAR evalúen el caso clínico y autoricen la realización de las mismas

Indicaciones de PFS 2da línea (Laboratorio)



Se deberán incluir los aislados que se obtienen con resultados de PFS en el laboratorio los siguientes casos:

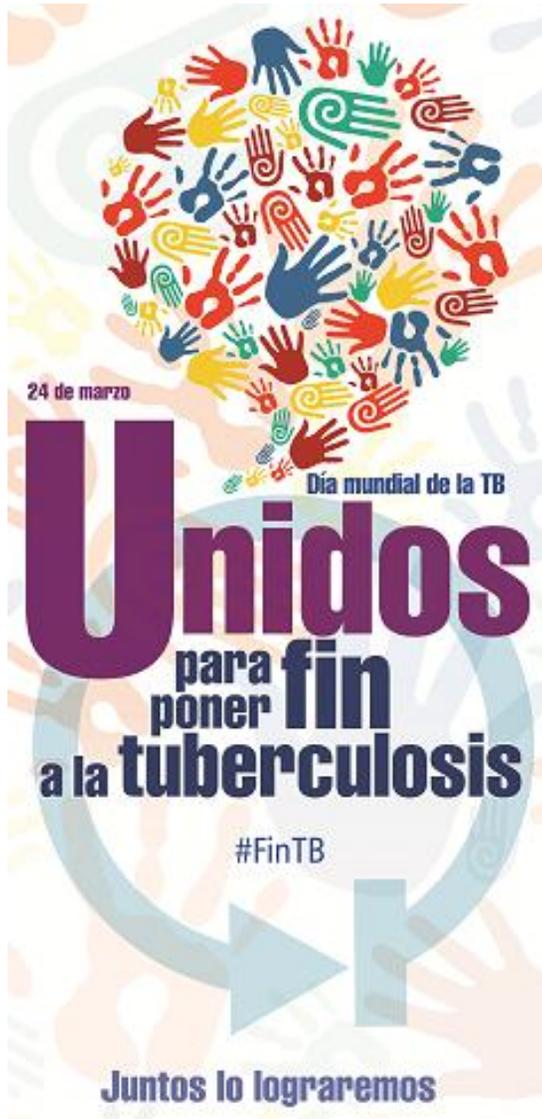


- MDR
- RR (Rif resistentes) 90% de las cepas R también lo son a InH
- **InH resistentes**

La detección de resistencia permite:

- **Identificar casos con TBMFR que requieren readecuación del régimen terapéutico para mejorar su pronóstico**
- **Salvar vidas de pacientes afectados por VIH/SIDA, DM y TB**

- **Interrumpir la transmisión de cepas que originan una forma de la enfermedad difícil de curar**
- **La falsa resistencia puede privar al paciente de lo(s) mejor(es) fármaco (s) disponibles**
- **La falsa sensibilidad podría encubrir la necesidad de hacer correcciones al esquema terapéutico**
- **Ambos errores pueden tener graves consecuencias para el paciente**



SALUD

SECRETARÍA DE SALUD

Dr. José Armando Martínez Guarneros
Responsable del área de pruebas de susceptibilidad
de segunda línea y biología y molecular
Laboratorio de Micobacterias del InDRE
armando.martinez@salud.gob.mx



EPIDEMIOLOGÍA

Epi-centro de la Salud Pública