

DETECCION DE ESPECIES DE *Nocardia* AISLADAS DE PACIENTES CON COMPROMISO PULMONAR CRONICO EN TUCUMAN (ARGENTINA)

Detection of Nocardia species isolated from patients with chronic pulmonary compromise in Tucuman (Argentina)

Rosa Runco de Laborda y Raquel Salim*

Laboratorio de Micología

Hospital Centro de Salud "Dr. Zenón Santillán

Av. Avellaneda 750 - (4000) San Miguel de Tucumán - Argentina

*Cátedra de Micología

Instituto de Microbiología "Dr. Luis C. Verna"

Facultad de Bioquímica, Química y farmacia

Universidad Nacional de Tucumán

Ayacucho 491, (4000) San Miguel de Tucumán - Argentina.

Palabras Clave: Especies de *Nocardia* patología pulmonar crónica

Key Word: *Nocardia* species, chronic pulmonary pathology

RESUMEN

Conociendo la escasa información médica sobre las Nocardiosis broncopulmonares, nos abocamos a la detección de especies de *Nocardia* en muestras enviadas para análisis bacteriológico de rutina.

Se analizaron 250 muestras de esputo y lavado bronquial de pacientes con compromiso pulmonar crónico: bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Epoc), asma bronquial y tuberculosis.

Se aislaron 19 cepas de *Nocardia*, las cuales se identificaron mediante características morfofisiológicas como: *Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis* y *Nocardia* spp.

Los resultados del presente estudio permiten alertar al clínico sobre la incidencia de *Nocardia* en afecciones pulmonares en pacientes de nuestro medio.

SUMMARY

Aware of the limited medical information about bronchopulmonary Nocardiosis we began the detection of *Nocardia* in clinical samples sent only for routine bacteriological examination.

250 samples including sputum and bronchial washings from patient suffering from chronic pulmonary compromise: chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease, bronchial asthma and tuberculosis were analyzed.

19 strains of *Nocardia* were isolated. They were identified by means of morphophysiological characteristics as *N. asteroides*, *N. brasiliensis* and *Nocardia* spp.

Results from the present study alerts the clinician on the incidence of *Nocardia* in pulmonary disease in patients of Tucumán.

INTRODUCCION

La Nocardiosis es una afección pulmonar primaria, aguda o crónica, supurada, que a menudo simula tuberculosis, neumonía o cáncer de pulmón, producida principalmente por *Nocardia asteroides* y menos frecuentemente por *N. brasiliensis*, *N. otitidiscaviarum* y *N.*

transvalensis (1) (5) (10) (14) (17).

La diseminación hematogena es frecuente, con invasión de riñones, meninges, cerebro y otros órganos, siendo su evolución generalmente fatal (4) (5) (12) (13) (20) (21) (22). La incidencia de esta afección es limitada y se ha encontrado una frecuencia de 2 a 5% de pacientes con tuberculosis, afectados de Nocardiosis

broncopulmonar (7) (10) (16) (18) (19) (20) (24).

Aproximadamente la mitad de los pacientes que padecen de Nocardiosis tienen disminuidos sus mecanismos de defensas, por tratamientos inmunosupresores. También las afecciones pulmonares crónicas, el cáncer y el SIDA, proporcionan una base para la Nocardiosis oportunista (3) (6) (9) (11) (22).

Los casos clínicos, pueden no ser diagnosticados, ya sea: porque responden a la antibioticoterapia empírica administrada para muchas infecciones sin un cultivo adecuado, porque las especies de *Nocardia* requieren condiciones especiales de cultivo y aislamiento, no comunes en la rutina del laboratorio, o porque equivocadamente son descartadas como contaminantes (13).

En nuestro país se han informado casos de Nocardiosis pulmonar, cerebral, hepática y diseminada (3) (9) (16) (23). Negroni (16), obtuvo 12 cepas de *Nocardia asteroides* aisladas de materiales del aparato respiratorio, encontrando que el 42% de las mismas eran responsables de patologías pulmonares.

En Tucumán, *N. brasiliensis* es el principal agente etiológico de micetomas humanos y se encontró ampliamente distribuida en el suelo tucumano en mayor proporción que *N. asteroides* (23).

Este trabajo informa el aislamiento, en el laboratorio de Micología, de especies de *Nocardia* a partir de muestras clínicas seriadas de pacientes con compromiso pulmonar crónico (Bronquitis crónica, Enfermedad pulmonar obstructiva (Epoc), Asma bronquial y Tuberculosis), enviadas para análisis bacteriológico de rutina.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 250 muestras de esputo y lavado bronquial, procesándose muestras seriadas de esputo. Cada muestra fue sembrada en medio de Czapeck líquido sin sacarosa con anzuelo parafinado estéril, por duplicado, y se incubaron a 37°C durante 30 a 60 días.

Las colonias desarrolladas sobre el anzuelo parafinado fueron pasadas a Sabouraud glucosado sólido sin antibióticos y en Agar glicerinado al 5%. Todos los tubos fueron incubados a 37°C durante 10 a 15 días y hasta un mes (2) (23).

Por su simplicidad, economía y estar al alcance de nuestras posibilidades y nuestra experiencia en trabajos previos (23), se utilizó la técnica de Gordon & Mihm para la identificación de las cepas aisladas (8).

Se analizaron:

- Acido resistencia
- Utilización de la parafina
- Hidrólisis de caseína
- Crecimiento en gelatina al 0,4% y determinación del pH
- Descomposición de L-tirosina

- Utilización de xantina e hipoxantina
- Hidrólisis de gelatina
- Hidrólisis de almidón
- Producción de ureasa
- Producción de ácido a partir de: DL-inositol, D-galactosa, lactosa y maltosa.

Fueron consideradas positivas las muestras que al examen directo incluyeron la visualización del microorganismo en las preparaciones coloreadas, el cultivo puro o predominante y el aislamiento repetido en muestras clínicas seriadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Fue posible aislar 19 cepas de *Nocardia* (7.6%) de todas las muestras clínicas procesadas.

La Tabla 1 muestra las características fisiológicas y bioquímicas de las especies aisladas.

De los 19 aislamientos se identificaron 8 *N. asteroides* 6 *N. brasiliensis* y 5 *Nocardia* spp.

Las cinco cepas sin identificar, muestran las siguientes características: descomponen la L-tirosina, pero son incapaces de hidrolizar la caseína, por lo que serán analizadas posteriormente con pruebas adicionales que permitan su identificación.

La relación de las especies aisladas con las condiciones de base de los pacientes se muestran en la Tabla 2. Todas las muestras provenían de adultos de ambos sexos con patología pulmonar crónica y en ningún caso hubo sospecha clínica de Nocardiosis. Llama la atención la prevalencia de *N. asteroides* en las muestras de pacientes con tuberculosis (75%) y el hallazgo de *N. brasiliensis* en el 50% de las muestras de pacientes con Epoc.

Es dificultoso el aislamiento de especies de *Nocardia* en cultivos puros, especialmente cuando las muestras están contaminadas con otros microorganismos, como los presentes en el esputo o secreciones bronquiales. Las especies de *Nocardia* en cultivo de materiales clínicos crecen lentamente y se necesitan hasta 4 semanas para el desarrollo de colonias características. Además, la descontaminación y los procesos de digestión de las muestras clínicas pueden matar a estas bacterias (15). Este hecho sumado al largo tiempo necesario para el desarrollo de las colonias y su posterior identificación, impide descubrir la infección tempranamente.

El hallazgo de un 7,6% de cultivos positivos en pacientes con enfermedades pulmonares crónicas debe alertar al clínico ya que estas infecciones no son tan raras como se piensa. Cabe destacar la importancia del laboratorio en la búsqueda rutinaria de estos microorganismos.

CONCLUSIONES

La incidencia de *Nocardia* en pacientes con compromiso pulmonar crónico es relativamente frecuente. El diagnóstico presuntivo deberá realizarse en todos los casos en que se observen formas celulares típicas del microorganismo que, junto a los hallazgos clínicos

permitan iniciar una terapéutica tentativa hasta obtener la confirmación de los cultivos.

La búsqueda rutinaria de estos *Actinomycetales* en las muestras clínicas, resulta importante para descubrir la infección lo más tempranamente posible.

Tabla 1. Pruebas Bioquímicas para la identificación de especies de *Nocardia*.

MUESTRA	UTILIZ. PARAFINA	ACIDO RESISTENCIA	CREC. GELATINA	L - TIROXINA	CASEINA	XANTINA	HIPOXANTINA	GELATINA	ALMIDON	UREASA	MALTOSA	D-GALACTOSA	INOSITOL	LACTOSA	ESPECIE
1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	<i>N. asteroides</i>
2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>N. asteroides</i>
3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>N. asteroides</i>
6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>N. asteroides</i>
12	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>N. asteroides</i>
15	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	<i>N. asteroides</i>
16	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	<i>N. asteroides</i>
18	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	<i>N. asteroides</i>
4	+	+	+++	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	<i>N. brasiliensis</i>
5	+	+	+++	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>N. brasiliensis</i>
7	+	+	+++	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	<i>N. brasiliensis</i>
9	+	+	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>N. brasiliensis</i>
10	+	+	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>N. brasiliensis</i>
14	+	+	+++	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	<i>N. brasiliensis</i>
8	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>Nocardia spp.</i>
11	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Nocardia spp.</i>
13	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Nocardia spp.</i>
17	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	<i>Nocardia spp.</i>
19	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	<i>Nocardia spp.</i>

Tabla 2. Relación de las especies aisladas con las condiciones de base de los pacientes.

MUESTRAS	CONDICION DE BASE	AISLAMIENTOS
1,2,3,6, 15, 16	Tuberculosis	<i>N. asteroides</i>
12	Asma bronquial	<i>N. asteroides</i>
18	Epoc	<i>N. asteroides</i>
4,9,14	Epoc	<i>N. brasiliensis</i>
5	Asma	<i>N. brasiliensis</i>
7,10	Bronquitis crónica	<i>N. brasiliensis</i>
8, 11	Asma	<i>Nocardia spp.</i>
13	Epoc	<i>Nocardia spp.</i>
17	Bronquitis crónica	<i>Nocardia spp.</i>
19	Tuberculosis	<i>Nocardia spp.</i>

REFERENCIAS

1. Beaman, B. et. al. (1976). Nocardial infections in the United States. 1972-1974. J. Infect. Dis. 134:266-269.
2. Bojalil, L. & Cerbon, J.(1959). Scheme for the differentiation of *N. asteroides* and *N. brasiliensis*. J. of Bact. 78:852-857.
3. Borghi, A.;Mujica, M.; Ponesa, A.(1992). Nocardiosis cerebral debida a *N. asteroides*. Rev. Arg. Micología 15:3-6.
4. Braun, T. & Eisenberg, F.(1991). Nocardial brain abscesses in a pregnant woman. Rev. Infect. Dis. 13:630-632.
5. Brian, S.; Brown, A.; Armetrong, D. (1992). Disseminated *N. brasiliensis* infection with septic arthritis. Clin. Infect. Dis. 15:469-472.
6. Coker, R. et. al. (1992). Nocardial infections in AIDS: A clinical and microbiological challenge. J. Clin. Path. 45:821-822.
7. Curry, W.A. (1980). Human Nocardiosis: A clinical review with selected case reports. Archives of Int. Medicine 140:818-826.
8. Gordon, R. & Mihm, J. (1958). A comparative study of some strains received as *Nocardia*. J. of Bact. 73:15-27.
9. Guerra, L.; Negroni, R.; Rodríguez, Z. (1975). Estudios sobre *Nocardia* aisladas del aparato respiratorio. Rev. de Asoc. Arg. Microbiol. 7:1-7.
10. Harris, G. K.(1979). Nocardiosis: A literature review and a case report of *N. asteroides* infection. Am. J. of Med. Tech. 46:44-48.
11. Kim, J. & Grieco, M.(1991). Nocardial infection as a complication of AIDS: Report of six cases and review. Rev. Infect. Dis. 13:624-629.
12. Kulkarni, S. & Kulkarni, A. (1991). Disseminated Nocardiosis. J. Asoc. Physicians India. 39:779-789.
13. Mc.Neil, M. & Brown, J. (1994). The medically important aerobic *Actinomycetes*: Epidemiology and Microbiology. Clin. Microbiol. Rev. 7:359-417.
14. Mc. Neil, M.; Brown, J.;Georghiou, P. (1992). Infections due to *N. transvalensis*: Clinical spectrum and antimicrobial therapy. Clin. Infect. Dis. 15:453-463.
15. Murray, P. et. al. (1987). Effect of decontamination procedures on recovery of *Nocardia* species J. Clin. Microbiol 26:2010-2011.
16. Negroni, R.; Masini, R.; Malliolo, E.(1991). Nocardiosis sistémica por *Nocardia* con sintomatología preponderantemente hepática. Rev. Arg. de Micología. 14:24-30.
17. Osoagbaka, O. U. (1984). Bacteriological evidence of the occurrence of *Nocardia* species in pulmonary infections in Nsukka, Nigeria. West African J. of Med. 3:185-194.
18. Rodríguez, J. & Barrio, J. (1986). Pulmonary Nocardiosis in AIDS: diagnosis with bronchoalveolar lavage and treatment with non-sulphur containing drugs. Chest 90:912-914.
19. Rubin E. & Shin, M. (1984). Pleural and extrapleural disease in *Nocardia* infections. J. Can. Assoc. Radiol 35:189-191.
20. Stevens, D. (1983). Clinical and clinical laboratory aspects of nocardial infection. J. Hyg. 91:377-384.
21. Schreiner, D.;DeCastro, P.;Jorizo, J.;Holder, W.R.(1986). Disseminated *N. brasiliensis* infection following cryptococcal disease. Arch. Dermatol. 122:1186-90.
22. Uttanchandani, R. et al.(1994). Nocardiosis in 30 patients with advanced HIV infection: clinical features and outcome. Clin. Infect. Dis. 18:348-353.
23. Van Gelderen de Komaid, A.; Runco de Laborde, R.; Salim, R. (1987). Natural occurrence of *Nocardia* in soil of Tucumán: Physiological characteristics. Mycopathologia 99:15-19.
24. Venugopal, P.;Venugopal, T.;Aruguman, S. (1980). *Nocardia* species from bronchopulmonary infections and mycetoma. Sabouraudia