

EVALUACIÓN DE MYCOBACTERIUM IMMUNO- GENUM EN FLUIDOS DE CORTE USADOS

JOURNAL OF OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL HYGIENE - Estados Unidos

La contaminación bacteriana de los fluidos de corte es uno de los factores que contribuyen a la aparición de problemas de salud en trabajadores de la industria de mecanizado de metal.

La mayor parte de los biocidas que se añaden a los fluidos de corte no previenen la colonización ni la proliferación de bacterias resistentes o menos sensibles, lo que conduce a una

pérdida de la eficacia del sistema y **reduce el rendimiento de los fluidos en las operaciones de mecanizado.**

Los fluidos de corte solubles son propicios para el crecimiento microbiano e incluyen emulsiones acuosas con mayor o menor contenido en aceite. Los productos concentrados contienen generalmente numerosos aditivos tales como biocidas, emulsionantes, antiespumantes e inhibidores de la corrosión.

Estos fluidos solubles están normalmente colonizados por *Pseudomonas* spp. Sin embargo, varios estudios han asociado la colonización micobacteriana con pneumonitis hipersensitiva en operarios de máquinas.

Las micobacterias están omnipresentes en los ambientes acuosos (agua de bebida, piscinas, torres de enfriamiento) y pueden crecer en sistemas que contienen fluidos de corte, particularmente cuando los biocidas inhiben el crecimiento de otros microorganismos competidores.

Recientemente algunos autores han demostrado que las operaciones de vaciado, limpieza y recarga de los sistemas contaminados con micobacterias son poco eficaces para eliminar la contaminación debida a dichos microorganismos.

Los métodos de cultivo bacteriano no pueden demostrar, de manera fiable, la presencia de micobacterias en fluidos de corte debido a su capacidad de crecimiento lento y a los requisitos complejos que se precisan para el mismo. Además son inapropiados para estimar el riesgo de desarrollo de la enfermedad en trabajadores expuestos.

Por lo tanto, se requieren métodos alternativos capaces de detectar, identificar y cuantificar la carga total micobacteriana, incluida la población no cultivable en fluidos de corte.

La principal especie micobacteriana implicada en los fluidos de corte y asociada a la pneu-

monitis hipersensitiva es *M. immunogenum* (previamente identificada como *M. chelonae* o *M. abscessus*).

En el presente trabajo se describe un procedimiento para la detección y cuantificación de *Mycobacterium immunogenum* en fluidos de corte usados utilizando método de extracción DNA y ensayo a tiempo real PCR (qPCR) (reacción en cadena de la polimerasa).

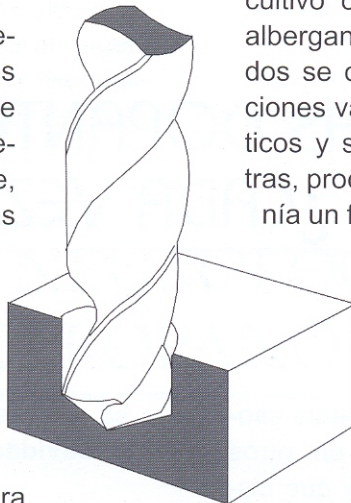
Para este trabajo se utilizaron 11 muestras de fluidos de corte solubles usados, procedentes de varias plantas de mecanizado ubicadas en Estados Unidos y Canadá.

Se ha comprobado mediante métodos de cultivo o recuento directo que estos fluidos albergan micobacterias. Seis muestras de fluidos se obtuvieron de sistemas con composiciones variables de productos químicos (sintéticos y semisintéticos). El resto, cinco muestras, procedían de un único sistema que contenía un fluido soluble semisintético. Este sistema se muestreó durante un año.

El trabajo presente sugiere que el procedimiento **qPCR tiene una mayor sensibilidad analítica en la detección de mycobacterium que el método de cultivo** y, debido a ello, se muestra como un procedimiento prometedor para la detección precoz de la concentración micobacteriana en fluidos de corte.

Debido a los bajos límites de detección y al procedimiento de extracción DNA que conduce a bajas concentraciones de inhibidor, **el método a tiempo real qPCR podría ser una alternativa apropiada para la evaluación de la contaminación por *M. immunogenum*.**

*Los ensayos comparativos realizados muestran que el procedimiento qPCR tiene una mayor sensibilidad que los métodos de cultivo bacterianos y suministra asimismo un recuento bacteriano más alto. Los resultados muestran que *M. immunogenum* presenta estados de cultivo variables y que la pneumonitis hipersensitiva puede ser causada por micobacterias no cul-*





tivables, asimismo, el procedimiento qPCR es eficiente y proporciona resultados precisos, mientras que los métodos de cultivo fracasan.

La mayor sensibilidad analítica y la mayor velocidad de análisis del método qPCR hacen de esta técnica una buena herramienta para la detección de una supuesta contaminación micobacteriana en fluidos de corte. **El límite de detección del ensayo qPCR es aproximadamente de 165 genomas/ml**, considerando una eficacia del 40 % en el método de extracción DNA.

La utilización del procedimiento a tiempo real qPCR para la detección de *M. immonogenum* en sistemas que manipulan fluidos de corte

debería incluirse en los programas rutinarios de control de calidad, ya que es rápido y conduce a resultados definitivos con respecto a la presencia de antígenos de pneumonitis hipersensitiva, que pueden surgir a partir de microorganismos no cultivables.

El recuento total micobacteriano debería aplicarse a las muestras de aire personales y ser utilizado para evaluar el riesgo en personal inmunológicamente sensibilizado, permitiendo determinar bajas concentraciones de bacterias en los puestos de trabajo, así como establecer el momento en que dichos trabajadores pueden volver al trabajo. Otros experimentos se están diseñando para evaluar la viabilidad de un protocolo qPCR para muestras de aire ambientales.