

Identificación de micobacterias no tuberculosas en red de agua potable domiciliar en la Región Metropolitana de Chile

Identification of nontuberculous mycobacteria in domestic drinking water network in the Metropolitan Region of Chile

Marco Vásquez¹, María Elvira Balcells², Patricia García³, Andrea I. Moreno-Switt⁴, Diego Fredes-García⁴, Claudia Castillo⁵ y Elías Pizarro⁵

¹Magíster en Investigación en Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

²Departamento de Enfermedades Infecciosas del Adulto, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

³Departamento de Laboratorios Clínicos, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

⁴Escuela Medicina Veterinaria, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

⁵Laboratorios de Microbiología, Red de Salud UC CHRISTUS, Santiago, Chile.

Este artículo es un compendio de la TESIS para optar al grado de Magíster en Investigación en Ciencias de la Salud del autor principal.

Declaramos que no existen conflictos de interés en el presente estudio. Los resultados y las conclusiones se presentan de manera objetiva y sin influencia de intereses externos.

Recibido: 20 de agosto de 2024 / Aceptado: 27 de mayo de 2025

Resumen

Introducción: Las micobacterias no tuberculosas (MNT) están ampliamente presentes en el medioambiente y algunas especies son patógenos oportunistas. La incidencia de la enfermedad por MNT ha tenido una tendencia creciente, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. **Objetivo:** Identificar la presencia de MNT en la red de agua potable de la Región Metropolitana (RM) de Chile. **Métodos:** Se recolectaron 110 muestras de agua potable domiciliar provenientes de 33 comunas, se procesaron para búsqueda de MNT. Tras un protocolo de filtración y descontaminación, las muestras fueron cultivadas en medio Middlebrook 7H11. La identificación de especies fue realizada mediante MALDI-TOF y secuenciación de ARN 16S. **Resultados:** Un 30,9% (34/110) de las muestras de agua analizadas resultaron positivas para MNT, identificándose un total de 45 aislados. *Mycobacterium* del grupo *mucogenicum* fueron los más frecuentes con 51,1% (23/45), seguido por *Mycobacterium frederiksbergense* 15,6% (7/45) y *M. fluoranthenorans* 11,1% (5/45). También se identificaron MNT de potencial patógeno como *M. chelonae* ($n = 3$), *M. fortuitum* ($n = 1$) y *M. kansasii* ($n = 1$). **Conclusiones:** Este estudio evidencia que el aislamiento de MNT es frecuente en agua potable de la RM. Algunas especies encontradas son raramente causales de enfermedad, pero es importante considerar la presencia MNT de potencial oportunista en huéspedes inmunocomprometidos.

Palabras clave: micobacterias no tuberculosas; agua potable; micobacterias ambientales; MALDI-TOF MS.

Abstract

Background: Nontuberculous mycobacteria (NTM) are widely distributed in the environment and some species are opportunistic pathogens. The incidence of NTM disease has shown an upward trend, particularly among immunocompromised patients. **Aim:** To identify the presence of NTM in the drinking water system in Chile's Metropolitan Region (MR). **Methods:** 110 home drinking water samples from 33 communes were collected and analyzed for NTM. After a filtration and decontamination protocol, the samples were cultured in Middlebrook 7H11 medium. Species were identified by MALDI-TOF and 16S RNA sequencing. **Results:** 30.9% (34/110) of the water samples tested positive for NTM, resulting in the identification of 45 isolates. *Mycobacterium* from the *mucogenicum* group constituted the majority with 51.1% (23/45), followed by *Mycobacterium frederiksbergense* with 15.6% (7/45) and *M. fluoranthenorans* with 11.1% (5/45). NTM with pathogenic potential were also identified, such as *M. chelonae* ($n = 3$), *M. fortuitum* ($n = 1$), and *M. kansasii* ($n = 1$). **Conclusions:** This study shows that NTM isolation is prevalent in drinking water in the MR. Some species encountered are rarely pathogenic; however, it is important to consider the presence of NTM with opportunistic potential in immunocompromised hosts.

Keywords: non-tuberculous mycobacteria, drinking water; environmental mycobacteria; MALDI-TOF MS.

Correspondencia a:

María Elvira Balcells Marty
eбалcells@uc.cl

Introducción

Las micobacterias son un grupo complejo y único de microorganismos que incluyen más de 200 especies y subespecies, con rasgos fenotípicos y genotípicos característicos, gran capacidad de adaptación y capaces de colonizar en condiciones desfavorables. Su relevancia epidemiológica es variada, e incluye varias especies con potencial patogénico en humanos y animales¹. Las especies de *Mycobacterium* se puede clasificar en tres grupos: micobacterias que causan tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*), micobacterias que causan lepra (*Mycobacterium leprae*) y micobacterias no tuberculosas (MNT), que representa al grupo más amplio de especies, también llamadas micobacterias atípicas o ambientales².

Las MNT son un grupo de bacterias ambientales de amplia distribución, de vida libre, que ocupan sistemas de agua, suelo y vegetación.³ Pueden soportar un rango amplio de temperaturas ambientales, no crecen fácilmente en los medios de cultivo bacterianos estándares, y gracias a su capa lipídica externa, son resistentes a antimicrobianos y desinfectantes. No se consideran contaminantes del agua potable, sino que colonizantes, que han sido capaces de adaptarse a crecer y persistir en aguas naturales⁴.

La exposición a estas micobacterias atípicas a través del contacto, la inhalación, o la ingesta de agua contaminada puede causar una variedad de enfermedades en el ser humano que involucran los ganglios linfáticos, la piel, tejidos blandos, así como las vías respiratoria, gastrointestinal y genitourinaria⁵. La enfermedad pulmonar por MNT es la manifestación clínica más frecuente dentro de las enfermedades por MNT en personas inmunocompetentes. Existen dos presentaciones principales, la forma nodular bronquiectásica que progresa lentamente, y la forma fibrocavitaria, de progresión más rápida y que está asociado con fumadores de mediana edad con antecedentes mórbidos. Numerosos artículos reportan aumento en la incidencia de enfermedad pulmonar por MNT en personas con enfermedades pulmonares subyacentes, como la fibrosis quística o el enfisema pulmonar^{6,7}. El consumo excesivo de alcohol, la exposición a polvo (agricultura y minería), la deficiencia de α -1-antitripsina y deficiencias en la producción de ciertas proteínas de señalización inmune, son otros factores de riesgo mencionados en la literatura médica⁸.

El Laboratorio de Referencia de Tuberculosis del Instituto de Salud Pública (ISP) reportó en el año 2011, de un total de 585 cepas enviadas a estudio, todas de procedencia humana, 8,4% (51/585) identificadas como MNT. De estas, 31,3% (n: 15) correspondieron a *Mycobacterium kansasii*, 18,8% (n: 9) a *Mycobacterium avium* (complejo MAI), 12,5% (n: 6) a *Mycobacterium chelonae* y 10,4% (n: 5) a *Mycobacterium fortuitum* y *Mycobacterium*

gordonae, respectivamente⁹. Posteriormente, el Boletín de Micobacterias No Tuberculosas del ISP, recopilando los resultados obtenidos en el periodo 2015-2020 a nivel nacional, informó de 16.127 cultivos positivos para micobacterias provenientes de muestras clínicas en el periodo, de los cuales 17,0% (2.739/16.127) fueron identificados como MNT. De acuerdo con la localización de origen de las muestras clínicas, 89,6% correspondió a muestras de origen pulmonar y 10,4% a extrapulmonares. El 63,4% de las especies de MNT identificadas fueron de crecimiento lento, 28,1% de crecimiento rápido y 0,1% de crecimiento intermedio. En el 8,5% restante no fue posible clasificar según su velocidad de crecimiento. Los principales grupos taxonómicos identificados correspondieron a complejo *M. avium* (39,8%), complejo *Mycobacterium abscessus-chelonae* (16,2%) y *M. fortuitum* (8,3%)¹⁰.

Actualmente, no existen reportes sobre micobacterias ambientales en muestras de agua potable en Chile; la literatura científica disponible se limita a publicaciones sobre aislados clínicos en pacientes. En los últimos años, se ha presentado un aumento preocupante en la incidencia de infecciones causadas por MNT¹¹. Estas infecciones, han emergido como causa significativa de enfermedad pulmonar, y uno de los factores relevantes en la propagación de estas infecciones es su presencia en el agua potable¹². Múltiples estudios en distintas latitudes han revelado la presencia de MNT en las redes de agua potable domiciliaria¹³⁻¹⁵. Estos hallazgos destacan la importancia del monitoreo para conocer las especies de MNT existentes, y así evaluar riesgos asociados y diseñar estrategias de prevención más efectivas¹⁶.

El propósito de este estudio es identificar la presencia de MNT en la red de agua potable de la Región Metropolitana (RM) de Chile.

Materiales y Métodos

Recolección de las muestras

El muestreo de agua potable domiciliaria fue llevado a cabo en los meses de marzo, agosto, octubre y noviembre de 2023. Las muestras de agua fueron obtenidas a partir de hogares colaboradores voluntarios de 33 diferentes comunas pertenecientes a cinco provincias de la RM de Chile. Un total de 104 (94,5%) muestras fueron obtenidas en comunas de la conurbación del Gran Santiago, subdividido en siete sectores: Norte, Sur, Centro, Nororiente, Norponiente, Surponiente y Suroriente. Las restantes seis muestras (5,5%) fueron obtenidas de comunas satélites del Gran Santiago (Figura 1).

Los colaboradores voluntarios fueron capacitados mediante una instrucción previa, indicándoles el procedimiento de recolección de la muestra y posteriormente se les hizo entrega del material *ad-hoc*. La recolección

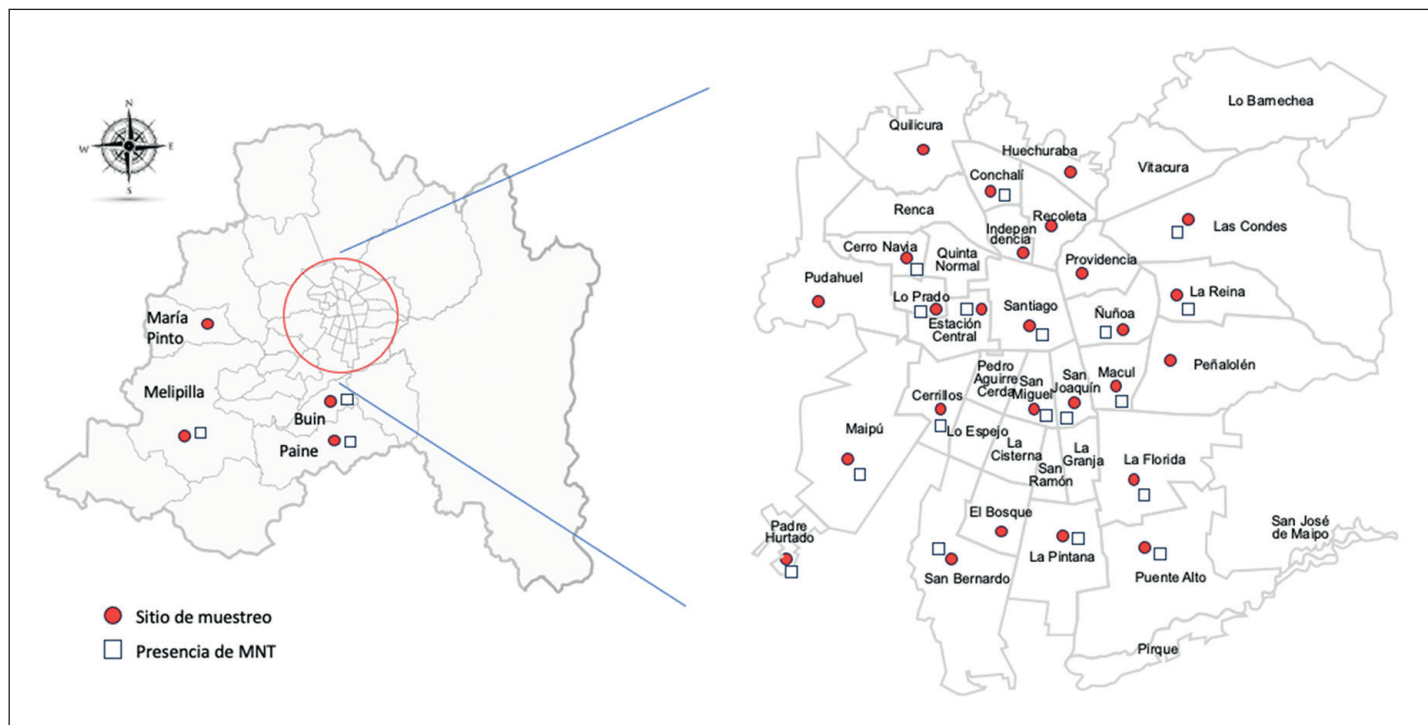


Figura 1. Ubicación de puntos de muestreo de agua, y comunas de la Región Metropolitana con identificación positiva de MNT.

de agua potable fue realizada en recipientes de vidrio estériles de 1 litro, durante la mañana, a partir de agua potable desde el lavamanos, transportadas a temperatura ambiente al Laboratorio de Microbiología de la Red de Salud UC-CHRISTUS (comuna de San Joaquín), y procesadas dentro de un período menor a seis horas.

Protocolo de procesamiento de las muestras y cultivo

En una primera etapa, realizamos un estudio piloto para comparar la eficacia de tres descontaminantes –cloruro de cetilpiridinio (CPC), sulfato dodecil de sodio (SDS) e hidróxido de sodio (NaOH)– en diferentes concentraciones, con el objetivo de optimizar la recuperación de cepas de MNT. Para ello, preparamos una mezcla de muestras de tres especies de micobacterias: *M. fortuitum*, *M. goodii* y *M. immunogenum*, previamente aisladas en estudios de rutina en el laboratorio clínico. A partir de un standard McFarland 0,5 y mediante diluciones seriadas, determinamos que el uso de CPC (Merck) a la concentración de 0,005% ofreció la mejor recuperación de las tres especies de MNT.

Tras múltiples ensayos, el protocolo con mejor rendimiento para recuperación de MNT consistió en comenzar con un proceso de descontaminación inicial de las muestras de agua potable con CPC al 0,005% durante

30 minutos. Posteriormente, cada muestra de 1 litro de agua fue filtrada al vacío utilizando filtros de nitrocelulosa de tamaño de poro 0,45 μM (Millipore 0,45 μM) en gabinete de bioseguridad.¹⁷ A continuación, los filtros fueron transferidos a placas de medio de cultivo Middlebrook 7H11 (Merck), las cuales fueron selladas y depositadas en bolsas plásticas para su incubación a 35°C. Las placas fueron observadas semanalmente, durante seis semanas. Aquellos cultivos que presentaron desarrollo bacteriano, fueron analizados microscópicamente mediante tinción de Ziehl-Neelsen, para la detección de bacterias ácido-alcohol resistente (BAAR). Las colonias identificadas como BAAR (+), fueron aisladas y procesadas mediante espectrometría de masas con desorción/ionización láser asistida por una matriz asociada a tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS). Aquellas muestras que no lograron ser identificadas por MALDI-TOF, fueron sometidas a secuenciación de ARN 16S.

Confirmación e identificación de especie con MALDI-TOF MS

MALDI-TOF es una técnica analítica avanzada utilizada para la identificación rápida y precisa de microorganismos, incluida las MNT. Se basa en la espectrometría de masas para analizar el perfil de proteínas de los microorganismos, proporcionando un método eficiente para la iden-

tificación de especies¹⁸. Esta técnica consta de un proceso de extracción de proteínas a partir de las cepas en estudio, para luego realizar una adquisición y procesamiento del espectro. Nuestra metodología fue realizada de acuerdo al protocolo establecido previamente en el estudio llevado a cabo por Contreras y cols.¹⁹. Este ensayo se realizó en el año 2020, en el Laboratorio de Microbiología de la Red de Salud UC-CHRISTUS, usando un espectrómetro de masas *Microflex LT/SH benchtop* (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania).

Confirmación e identificación de especie con secuenciación.

Un total de seis cepas fueron identificadas a nivel de especie, mediante la amplificación selectiva del gen que codifica para el ARN 16S del ribosoma bacteriano del género *Mycobacterium* (reacción de polimerasa en cadena-RPC panmicobacteriana), utilizando partidores universales previamente reportados²⁰. La RPC incluyó una denaturación inicial por cinco minutos a 95°C, seguido de 30 ciclos de denaturación durante 30 segundos a 95°C, *annealing* por 45 segundos a 58°C y una extensión durante 45 segundos a 72°C. Posteriormente el producto obtenido fue purificado, para luego ser secuenciado utilizando la metodología de Sanger, en el Laboratorio de Biología Molecular y Citogenética de la Red de Salud UC CHRISTUS. La secuencia de pares de bases se comparó con la base de datos GenBank (disponible en <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

busca establecer una base de conocimiento sobre la presencia y características de estas micobacterias en el entorno de agua potable en la RM, contribuyendo así a una mejor comprensión de su distribución y posibles implicaciones para la salud pública.

De las 33 comunas estudiadas en la RM, se detectó la presencia de MNT en 21 de ellas, lo que representa 63,6%

Tabla 1. Resumen de resultados de identificación de especies de MNT en muestras de agua potable domiciliaria de la Región Metropolitana.

| Especie identificada | N.º cepas identificadas | % |
|--|-------------------------|---------------|
| <i>Mycobacterium mucogenicum</i> group | 23 | 23/45 (51,1%) |
| <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 7 | 7/45 (15,6%) |
| <i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> | 5 | 5/45 (11,1%) |
| <i>Mycobacterium chelonae</i> | 3 | 3/45 (6,66%) |
| <i>Mycobacterium aubagnense</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |
| <i>Mycobacterium fortuitum</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |
| <i>Mycobacterium gilvum</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |
| <i>Mycobacterium kansasii</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |
| <i>Mycobacterium llatzerense</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |
| <i>Mycobacterium murale_tokaiense</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |
| <i>Mycobacterium stephanolepidis</i> | 1 | 1/45 (2,22%) |

MNT: Micobacterias no tuberculosas.

Resultados

En total, 30,9% de todas las muestras de agua analizadas (34/110) arrojaron cultivos positivos para MNT. La diversidad de especies aisladas e identificadas en este estudio, se muestra en Tabla 1. A partir de las 34 muestras analizadas y con cultivos positivos, se identificaron 45 cepas de MNT, correspondientes a 11 especies diferentes (24 muestras con una especie única de MNT [70,6%], nueve muestras con dos especies [26,5%] y una muestra con tres especies [2,9%]). El porcentaje de positividad, de acuerdo con la fecha de recolección de las muestras se indica en la Figura 2. En la Figura 3 se indican adicionalmente las muestras positivas según los sectores geográficos de la RM (Tablas 2 y 3 en Anexos).

Discusión

Este estudio exploratorio representa la primera iniciativa de búsqueda sistemática, aislamiento e identificación de MNT en muestras de agua potable domiciliaria en Chile. Mediante esta investigación, se

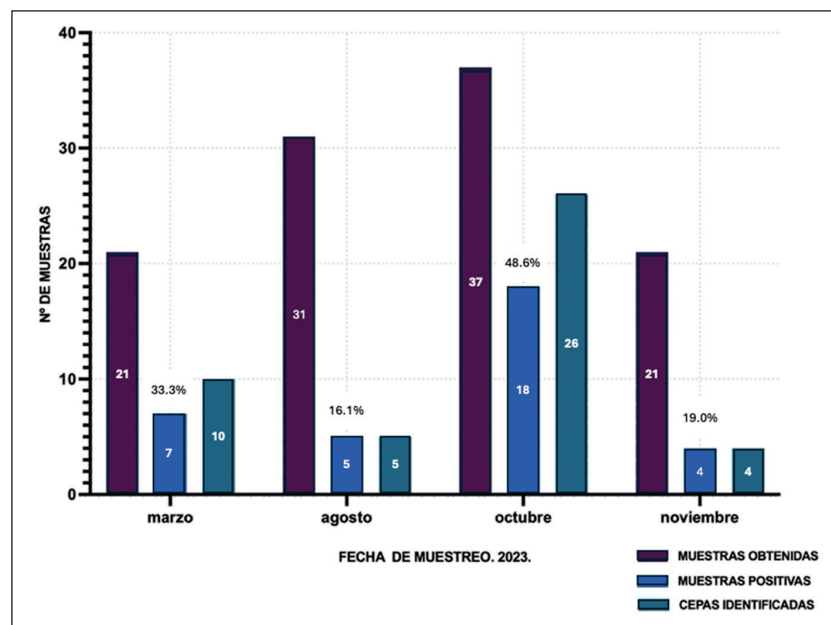


Figura 2. Positividad para MNT del muestreo de agua potable domiciliaria según mes del año (año 2023).

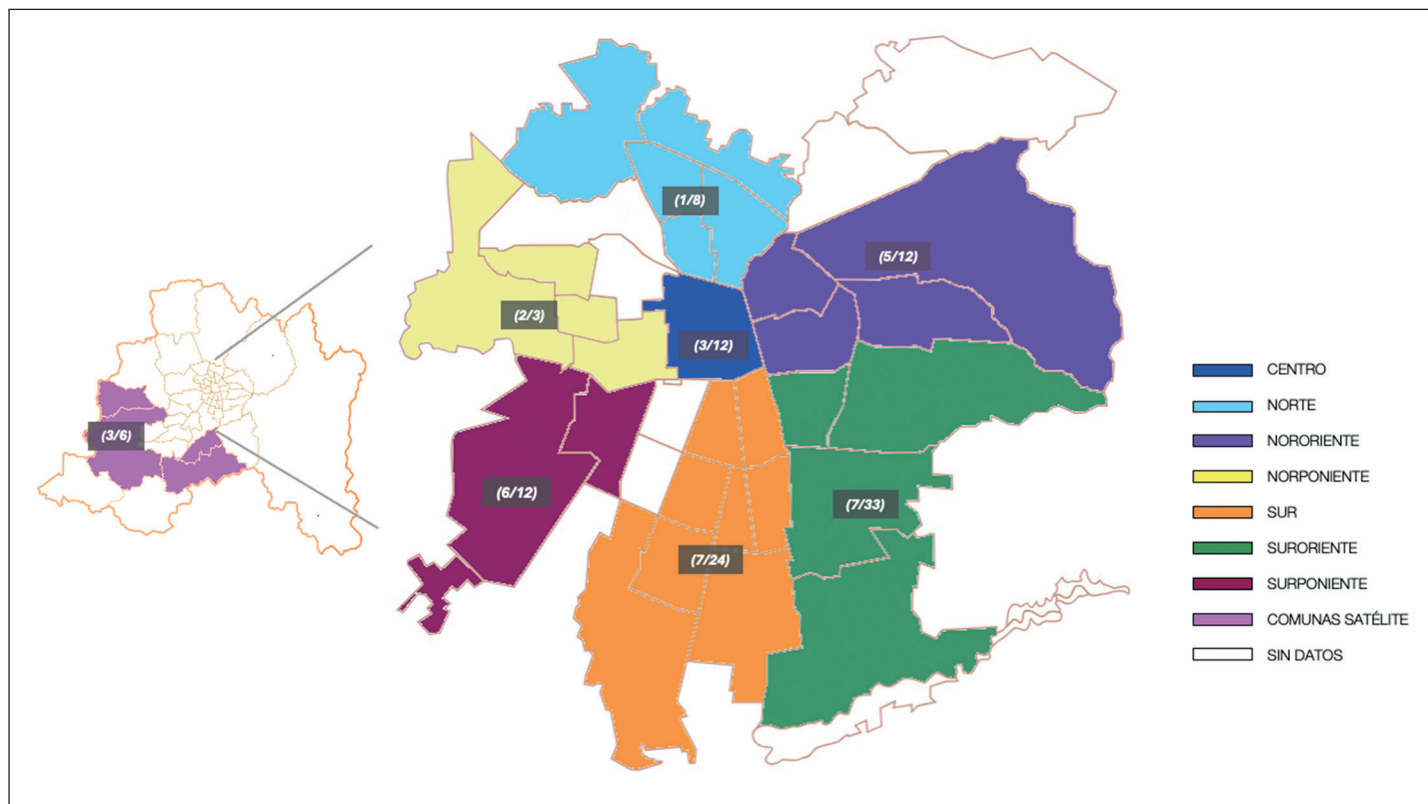


Figura 3. Muestras de agua potable positivas para MNT según sectores geográficos de la Región Metropolitana de Chile.

del total. El 31% de las muestras analizadas (34/110) resultaron positivas para MNT, identificándose un total de 45 cepas. Aunque existen pocos estudios sobre MNT en agua potable en Latinoamérica, nuestros hallazgos son consistentes con los reportados en investigaciones previas, resaltando la relevancia de nuestros resultados en el contexto regional. En un estudio llevado a cabo en la ciudad de Cali, Colombia, se obtuvo 50% (9/18) de muestras de agua positivas, en las cuales se identificaron 16 aislados, siendo la especie más frecuente *M. mucogenicum*, detectada en ocho aislados (50%) y *M. phocaicum* en tres (18,7%)²¹. En otro estudio realizado en Ciudad de México, se obtuvo un total de 16% (19/120) de muestras positivas, siendo las principales especies *M. mucogenicum* n = 9 (47%) y *M. porcinum* n = 3 (16%)²². Resultados obtenidos en Bahía Blanca, Argentina, mostraron a su vez 51,6% (64/124) de positividad para MNT del total las muestras de agua analizadas. *Mycobacterium gordonae* fue el microorganismo aislado con mayor frecuencia (15/64), seguido de *M. peregrinum* y *M. frederiksbergense*²³.

Diferentes estudios han señalado que la densidad de población y el tamaño de la fuente de abastecimiento de las aguas, están relacionados en la incidencia de MNT^{24,25}. La temperatura y la humedad también son factores que

también influyen en la prevalencia de las MNT. Se ha descrito que, en climas cálidos y húmedos, se favorece el crecimiento del complejo *M. avium* y *M. abscessus*, mientras que *M. kansasii* es más común en regiones templadas²⁶. En los países tropicales, las altas temperaturas y la humedad pueden favorecer la proliferación de ciertos tipos de MNT; en un estudio realizado en Hawaii, se aislaron MNT en 44% de las muestras de obtenidas desde biopelículas (cabezales de duchas, grifos de cocina, lavamanos) y suelo. Aquellas bacterias encontradas con mayor frecuencia fueron, *M. chimaera*, *M. chelonae* y *M. porcinum*²⁷. En otro estudio realizado en 55 condados de Estados Unidos de Norteamérica, pertenecientes a ocho estados, los dos condados con el mayor riesgo de enfermedad por MNT estaban ubicados en Louisiana y Hawaii. Ambos estados se correlacionan con factores geográficos que proporcionan condiciones favorables para la presencia de MNT: temperaturas promedio anuales sobre 20°C, mayores tasas de evapotranspiración, mayor porcentaje de tierra cubierta por agua y la proximidad de los hogares al agua²⁸.

El cambio climático es un factor que sin duda podría afectar la distribución y la dinámica de los MNT en el agua potable. El aumento de las temperaturas globales puede

alterar los ecosistemas acuáticos y, en consecuencia, la presencia de ciertos microorganismos²⁹. Durante ciertos desastres naturales, el agua del océano se mezcla a gran escala con agua dulce y suelo. Esto puede producir aerosoles que contienen MNT y aumentar la concentración de estas bacterias, tanto en agua potable como en agua no potable^{30,31}.

Por último, los distintos materiales con que se construyen las cañerías para el agua en los procesos de urbanización –policloruro de vinilo (PVC), acero, cobre, hierro fundido– pueden influir en la formación de biopelículas, que son comunidades de microorganismos adheridas a superficies. La presencia de biopelículas de MNT puede variar según el tipo de material de las cañerías y el mantenimiento de la infraestructura³². En el marco de esta investigación, se llevó a cabo un análisis de las muestras de agua potable provenientes de dos empresas sanitarias en la RM de Santiago: Aguas Andinas y SMAPA. El proceso de tratamiento de agua potable se lleva a cabo, habitualmente, mediante una serie de etapas críticas diseñadas para garantizar la calidad y seguridad del agua. Se realizan procesos de decantación, filtración y finalmente, se procede a la cloración, un proceso de desinfección que asegura la eliminación de patógenos microbiológicos, garantizando así que el agua cumpla con los estándares de potabilidad (<https://www.aguasandinas.cl/web/aguasandinas/aprende-mas>). Diferentes métodos de tratamiento de agua –filtración, cloración, ozonización– pueden tener impactos variados en la presencia de MNT³³. En un estudio comparativo, al testear diversas métodos físicos para reducir las MNT se demostró que tanto la filtración de agua con filtros Pall como la irradiación con UV-C fueron efectivos para reducir el número de *M. smegmatis* (filtros Pall) así como *M. abscessus*, *M. avium* y *M. chimaera* (UV-C) en el agua potable. Junto con eso se encontró que los filtros de carbón activado (GAC) no impedían el paso de las MNT e, incluso, favorecían su desarrollo dentro del filtro³⁴. Considerando que algunas de estas micobacterias son patógenas u oportunistas para el ser humano, es relevante destacar que puede lograrse una reducción de la exposición a MNT en el agua domiciliar mediante el uso de filtros de 0,22 µm, que impiden el paso de las células de MNT. Se ha comprobado su efectividad tanto en lavamanos como en cabezales de ducha³⁴.

Gran parte de los estudios publicados que buscan fuentes ambientales de MNT, han logrado identificar la presencia de estos microorganismos en diversas fuentes hídricas, tales como el agua potable, máquinas de hielo y en sistemas de enfriamiento, tanto en lugares públicos como centros hospitalarios³⁵. Los sistemas de agua hospitalarios actúan como reservorios de MNT, lo que lleva a la contaminación de los equipos y, posteriormente, a la transmisión a los pacientes³⁶. Es

así como ha sido ampliamente reportado el brote de infecciones por *M. chimaera* en pacientes de cirugía cardíaca secundaria a contaminación de los sistemas de enfriamiento y calentamiento de los circuitos de circulación extracorpórea³⁷.

Es importante mencionar que el principal mecanismo de transmisión de las MNT es la infección por vía aérea, a través de la inhalación de aerosoles, lo que puede provocar enfermedades pulmonares asociadas a estas micobacterias. Además, la contaminación accidental o iatrogénica de heridas, cirugías y procedimientos cosméticos, representan otra fuente importante por la cual las micobacterias pueden ingresar al cuerpo humano y producir enfermedad³⁸.

Limitaciones del estudio

Dentro de las limitaciones del diseño del presente estudio, se encuentra el no haber realizado un cálculo de tamaño muestral formal, por ser este un estudio piloto y no disponer de estimaciones previas respecto a la prevalencia de MNT en el agua potable en Chile. Adicionalmente, el diseño del muestreo no fue aleatorio, sino que, efectuado por conveniencia, debido a que las muestras fueron proporcionadas por colaboradores voluntarios, correspondiente a trabajadores y estudiantes de postgrado de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Debido a esta metodología de muestreo, la proporción de positividad y tipo de especies detectadas pueden no ser representativas de todas las zonas estudiadas, ya que algunas comunas de alta población, como Maipú y San Bernardo, están subrepresentadas en el análisis (Figura 4).

Respecto a otras potenciales limitaciones metodológicas, el haber realizado los cultivos a diferentes temperaturas de incubación (temperatura ambiente, 30°C, 35°C, 42°C), podría haber aumentado el rendimiento de estos para pesquisar micobacterias de crecimiento lento y rápido³⁹. En nuestro estudio, la incubación se hizo únicamente a 35°C, lo que podría haber restringido nuestra capacidad para detectar una gama más amplia de micobacterias, subestimando posiblemente la verdadera diversidad y abundancia de estas especies en nuestras muestras de agua potable.

Otro de los factores que puede haber influido en los resultados, es la selección del tipo de descontaminante utilizado en la preparación de las muestras. Como mencionamos anteriormente, en nuestro caso empleamos CPC al 0,005%, luego de validarlo en protocolo inicial. Aunque otros estudios han demostrado una eficacia similar utilizando SDS y NaOH a diferentes concentraciones^{40,41}; cabe resaltar que ningún descontaminante es completamente eficaz en la recuperación de todas las especies de MNT. Esto significa que es posible que algunas especies hayan sido desplazadas durante el proceso de descontaminación.

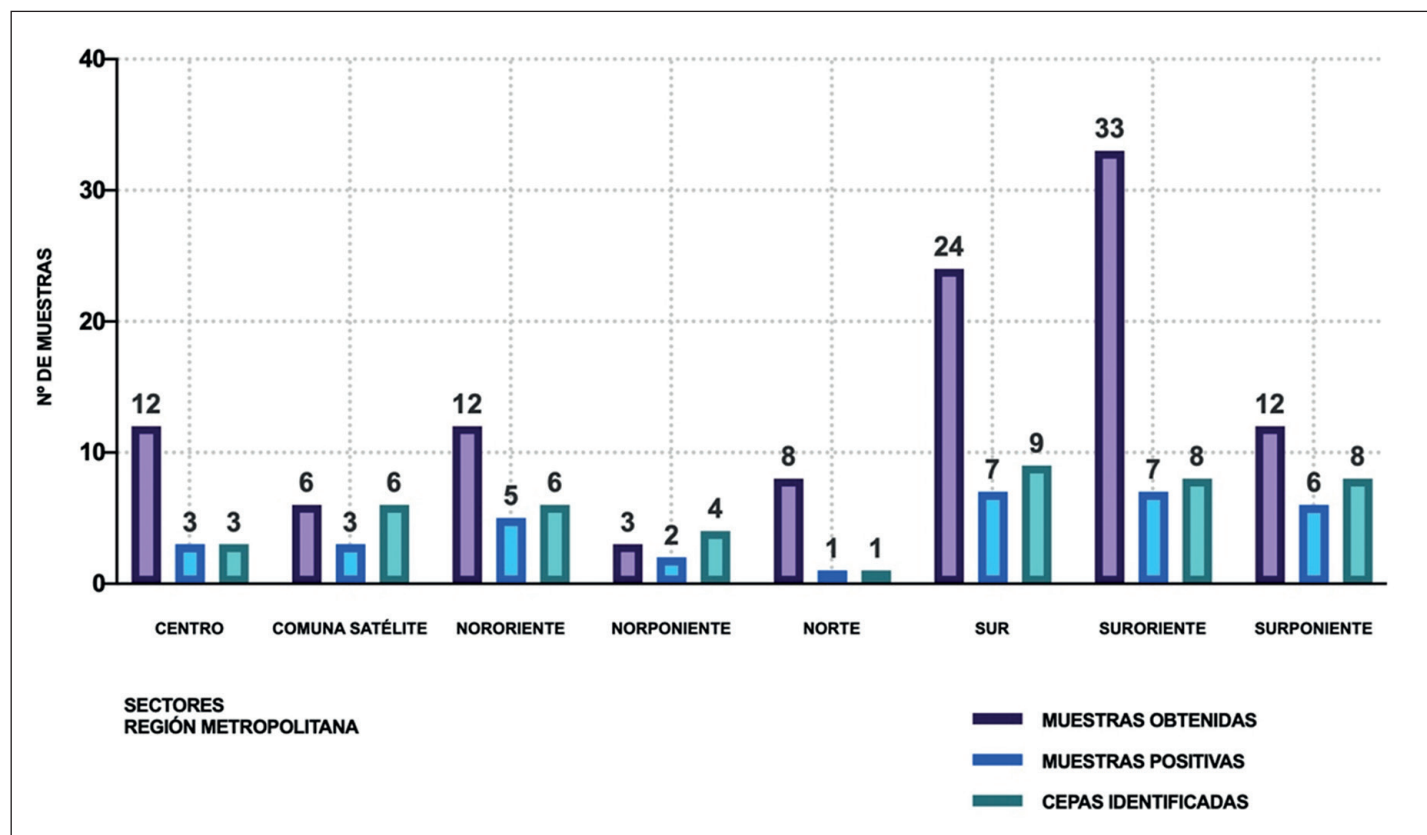


Figura 4. Distribución de resultados obtenidos por sectores de la Región Metropolitana de Santiago. Comunas por Sector en la Región Metropolitana de Santiago. *Centro*: Santiago Centro. *Comunas Satélite*: Buin, María Pinto, Melipilla, Paine. *Nororiente*: La Reina, Las Condes, Ñuñoa, Providencia. *Norponiente*: Cerro Navia, Lo Prado, Pudahuel. *Norte*: Conchalí, Huechuraba, Independencia, Recoleta, Quilicura. *Sur*: El Bosque, La Cisterna, La Granja, La Pintana, San Bernardo, San Joaquín, San Miguel, San Ramón. *Suroriente*: La Florida, Macul, Peñalolén, Puente Alto. *Surponiente*: Cerrillos, Estación Central, Maipú, Padre Hurtado.

Por último, la época del año de muestreo pudo haber influido en los resultados. Estudios similares han comparado la presencia de MNT entre estaciones en los mismos lugares de muestreo, obteniendo que la prevalencia de MNT ambientales está influenciada por factores como la temperatura, la lluvia, las inundaciones y la sequía, con asociaciones identificadas entre estas variables climáticas y la variación en la incidencia de algunas especies^{42,43}. Determinar cómo las diferentes condiciones climáticas, a lo largo del año, afectan la presencia de MNT en la red de agua potable, podría proporcionar una visión más completa y detallada de su comportamiento y distribución. Este tipo de investigación futura, sería de gran aporte para mejorar nuestra comprensión y manejo de estas micobacterias.

Conclusiones

Este estudio representa una contribución al conoci-

miento de las MNT presentes en la red de agua potable domiciliar en Chile. Si bien muchas de las especies encontradas en este estudio son raramente causales de enfermedad, es importante destacar el hallazgo de la presencia de micobacterias oportunistas, tanto de crecimiento rápido, tales como *M. chelonae*, *M. mucogenicum*, *M. fortuitum*, como de crecimiento lento, como *M. kansasii*. La prevalencia de enfermedades asociadas a MNT va en aumento, y es un creciente problema para la salud pública, tanto nacional como mundial. Es necesario comprender mejor la microbiología, patogénesis y epidemiología de estos microorganismos para optimizar la atención al paciente.

Agradecimientos: Al equipo de trabajo del Laboratorio de Microbiología de la Red de Salud UC CHRISTUS. Al equipo de trabajo del Laboratorio de Inocuidad Alimentaria de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

ANEXOS

Los resultados individuales de aislados de Micobacterias analizadas por MALDI-TOF MS y aquellos obtenidos por secuenciación 16S, se presentan en Tabla 2 y Tabla 3, respectivamente.

| Tabla 2. Resultados individuales de aislados de Micobacterias analizadas por MALDI-TOF MS | | | | | |
|---|------------|---------------|-------------------------------|--|-------|
| Muestra positiva | ID Muestra | Procedencia | Características de la colonia | Identificación MALDI-TOF MS | Score |
| 1 | 9A | LA REINA | a) amarilla | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.74 |
| 2 | 11A | C. NAVIA | a) blanca mucosa | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.02 |
| 3 | 11B | C. NAVIA | b) amarilla pequeña | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.72 |
| 4 | 13B | LO PRADO | b) blanca rugosa | <i>Mycobacterium stephanolepidis</i> | 2.03 |
| 5 | 13D | LO PRADO | d) amarilla | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.72 |
| 6 | 16A | E. CENTRAL | a) blanca cremosa | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.05 |
| 7 | 17A | MELIPILLA | a) blanca mucosa | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.83 |
| 8 | 18B | MAIPÚ | b) blanca mucosa | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.94 |
| 9 | 18C | MAIPÚ | c) blanca opaca | <i>Mycobacterium chelonae</i> | 1.83 |
| 10 | 19B | SAN BERNARDO | b) blanca opaca | <i>Mycobacterium chelonae</i> | 2.15 |
| 11 | 22A | SANTIAGO | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.82 |
| 12 | 24B | E. CENTRAL | b) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.03 |
| 13 | 45B | PUENTE ALTO | b) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.87 |
| 14 | 51A | SAN JOAQUIN | a) blanca puntiforme | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.81 |
| 15 | 52A | ÑUÑO A | a) amarilla | <i>Mycobacterium fortuitum</i> | 1.71 |
| 16 | 60A | BUIN | a) damasco | <i>Mycobacterium murale_tokaiense</i> | 1.74 |
| 17 | 60C | BUIN | c) gris | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.75 |
| 18 | 62A | MACUL | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.76 |
| 19 | 63A | PADRE HURTADO | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.81 |
| 20 | 65A | PUENTE ALTO | a) blanca | <i>Mycobacterium chelonae</i> | 1.86 |
| 21 | 65B | PUENTE ALTO | b) gris | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.04 |
| 22 | 67A | PUENTE ALTO | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.74 |
| 23 | 68B | ÑUÑO A | b) amarilla | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.81 |
| 24 | 69D | LAS CONDES | d) gris externa | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.80 |
| 25 | 71A | SANTIAGO | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.77 |
| 26 | 76D | SANTIAGO | d) blanca brillante | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.01 |
| 27 | 79D | SAN MIGUEL | d) blanca puntiforme | <i>Mycobacterium aubagnense</i> | 1.71 |
| 28 | 81A | LAS CONDES | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.17 |
| 29 | 83C | PAINE | c) blanca cremosa brillante | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 2.16 |
| 30 | 83D | PAINE | d) amarilla naranja | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.96 |
| 31 | 84B | CERRILLOS | b) blanca | <i>Mycobacterium flatterense</i> | 2.37 |
| 32 | 86B | LA PINTANA | b) naranja | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.81 |
| 33 | 88C | PUENTE ALTO | c) blanca opaca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.71 |
| 34 | 89B | SAN JOAQUIN | b) amarilla naranja | <i>Mycobacterium frederiksbergense</i> | 1.95 |
| 35 | 89D | SAN JOAQUIN | d) naranja | <i>Mycobacterium kansasii</i> | 1.89 |
| 36 | 100C | LA FLORIDA | c) naranja | <i>Mycobacterium gilvum</i> | 1.83 |
| 37 | 107A | SAN MIGUEL | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.83 |
| 38 | 109A | SAN MIGUEL | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.76 |
| 39 | 110A | CONCHALI | a) blanca | <i>Mycobacterium mucogenicum/phocaicum</i> group | 1.85 |

Tabla 3. Resultados individuales de aislados de Micobacterias analizadas por secuenciación 16S

| Muestra positiva | ID Muestra | Procedencia | Características de la colonia | Identificación Sec. 16S | Per. Identification |
|------------------|------------|---------------|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------|
| 1 | 63B | PADRE HURTADO | Amarilla | <i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> | 99.8 |
| 2 | 66A | MACUL | Amarilla | <i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> | 100 |
| 3 | 68A | ÑUÑO A | Blanca | <i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> | 100 |
| 4 | 83A | PAINE | Blanca | <i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> | 99.8 |
| 5 | 86A | LA PINTANA | Blanca | <i>Mycobacterium fluoranthenorans</i> | 100 |
| 6 | 61A | MAIPÚ | Blanca brillante | <i>Mycobacterium phocaicum</i> | 99.8 |

Anexo 5. Heterogeneidad de especies aisladas e identificadas en la Red de Agua Potable de la Región Metropolitana de Chile.

| Comunas RM | Nº muestras | Muestras positivas | Cepas | Provincia | Sector |
|------------------|-------------|--------------------|-------|------------|-----------------|
| SANTIAGO CENTRO | 12 | 3 | 3 | SANTIAGO | CENTRO |
| BUIN | 2 | 1 | 2 | MAIPO | COMUNA SATÉLITE |
| PAINE | 1 | 1 | 3 | MAIPO | COMUNA SATÉLITE |
| MARIA PINTO | 1 | N/A | N/A | MELIPILLA | COMUNA SATÉLITE |
| MELIPILLA | 2 | 1 | 1 | MELIPILLA | COMUNA SATÉLITE |
| LA REINA | 1 | 1 | 1 | SANTIAGO | NORORIENTE |
| LAS CONDES | 4 | 2 | 2 | SANTIAGO | NORORIENTE |
| ÑUÑO A | 4 | 2 | 3 | SANTIAGO | NORORIENTE |
| PROVIDENCIA | 3 | N/A | N/A | SANTIAGO | NORORIENTE |
| CERRO NAVIA | 1 | 1 | 2 | SANTIAGO | NORPONIENTE |
| LO PRADO | 1 | 1 | 2 | SANTIAGO | NORPONIENTE |
| PUDAHUEL | 1 | N/A | N/A | SANTIAGO | NORPONIENTE |
| CONCHALI | 2 | 1 | 1 | SANTIAGO | NORTE |
| HUECHURABA | 1 | N/A | N/A | SANTIAGO | NORTE |
| INDEPENDENCIA | 2 | N/A | N/A | SANTIAGO | NORTE |
| QUILICURA | 2 | N/A | N/A | SANTIAGO | NORTE |
| RECOLETA | 1 | N/A | N/A | SANTIAGO | NORTE |
| SAN BERNARDO | 3 | 1 | 1 | MAIPO | SUR |
| EL BOSQUE | 2 | N/A | N/A | SANTIAGO | SUR |
| LA CISTERNA | 2 | N/A | N/A | SANTIAGO | SUR |
| LA GRANJA | 1 | N/A | N/A | SANTIAGO | SUR |
| LA PINTANA | 2 | 1 | 2 | SANTIAGO | SUR |
| SAN JOAQUIN | 7 | 2 | 3 | SANTIAGO | SUR |
| SAN MIGUEL | 6 | 3 | 3 | SANTIAGO | SUR |
| SAN RAMON | 1 | N/A | N/A | SANTIAGO | SUR |
| PUENTE ALTO | 12 | 4 | 5 | CORDILLERA | SURORIENTE |
| LA FLORIDA | 12 | 1 | 1 | SANTIAGO | SURORIENTE |
| MACUL | 7 | 2 | 2 | SANTIAGO | SURORIENTE |
| PEÑALOLEN | 2 | N/A | N/A | SANTIAGO | SURORIENTE |
| CERRILLOS | 2 | 1 | 1 | SANTIAGO | SURPONIENTE |
| ESTACION CENTRAL | 4 | 2 | 2 | SANTIAGO | SURPONIENTE |
| MAIPU | 5 | 2 | 3 | SANTIAGO | SURPONIENTE |
| PADRE HURTADO | 1 | 1 | 2 | TALAGANTE | SURPONIENTE |
| TOTAL | 110 | 34 | 45 | | |

Referencias bibliográficas

- Pavlik I, Ulmann V, Hubelova D, Weston RT. Nontuberculous mycobacteria as saprozoites: a review. *Microorganisms*. 2022; 10(7). doi: 10.3390/MICROORGANISMS10071345
- Pereira AC, Ramos B, Reis AC, Cunha M V. Non-tuberculous mycobacteria: molecular and physiological bases of virulence and adaptation to ecological niches. *Microorganisms*. 2020; 8(9): 1-49. doi: 10.3390/microorganisms8091380
- Ratnatunga CN, Lutzky VP, Kupz A, Doolan DN, Reid DW, Field M, et al. The rise of non-tuberculosis mycobacterial lung disease. *Front Immunol*. 2020; 11. doi: 10.3389/fimmu.2020.00303
- Falkinham JO. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Tuberculosis*. 2022; 137: 102267. doi: 10.1016/j.tube.2022.102267
- Loret JF, Dumoutier N. Non-tuberculous mycobacteria in drinking water systems: a review of prevalence data and control means. *Int J Hyg Environ Health*. 2019; 222(4): 628-34. doi: 10.1016/j.ijheh.2019.01.002
- Wagner D, Van Ingen J, Van Der Laan R, Obradovic M. Non-tuberculous mycobacterial lung disease in patients with bronchiectasis: Perceived risk, severity and guideline adherence in a European physician survey. *BMJ Open Respir Res*. 2020; 7(1). doi: 10.1136/bmjresp-2019-000498
- Winthrop KL, Marras TK, Adjemian J, Zhang H, Wang P, Zhang Q. Incidence and prevalence of nontuberculous mycobacterial lung disease in a large U.S. managed care health plan. *Ann Am Thorac Soc*. 2008; 17(2): 178-85. doi: 10.1513/AnnalsATS.201804-236OC
- Falkinham JO. Ecology of nontuberculous mycobacteria. *Microorganisms* 2021; 9(11): 2262. doi: 10.3390/MICROORGANISMS9112262
- Scappaticcio AB, Velasco MR, Leiva TC, Rodríguez D JC, Fargas VC. Frecuencia de micobacterias ambientales en Chile en el año 2008. *Rev Chil Enf Respir*. 2011; 27: 214-222. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482011000300008>
- Instituto de Salud Pública de Chile. Boletín Micobacterias No Tuberculosas 2015-2020. <https://www.ispch.cl/wp-content/uploads/2023/01/BoletinMicobacteriasNT-03012023A-1-1.pdf>.
- Ratnatunga CN, Lutzky VP, Kupz A, Doolan DL, Reid DW, Field M, et al. The rise of non-tuberculosis mycobacterial lung disease. *Front Immunol*. 2020; 11: 507325. doi: 10.3389/FIMMU.2020.00303/BIBTEX
- Cruz-Aguilar M, Castillo-Rodal AI, Arredondo-Hernández R, López-Vidal Y. Non-tuberculous mycobacteria immunopathogenesis: closer than they appear. A prime of innate immunity trade-off and NTM ways into virulence. *Scand J Immunol*. 2021; 94(2). doi: 10.1111/sji.13035
- Atik D, Oksuz S, Ozturk E, Çaliskan E, Akar N, Sungur M. Threat in water for drinking and domestic use: nontuberculous mycobacteria. *Int J Mycobacteriol*. 2021; 10(2): 188-92. doi: 10.4103/IJMY.IJMY_82_21
- Norton GJ, Williams M, Falkinham JO 3rd, Honda JR. Physical measures to reduce exposure to tap water-associated nontuberculous mycobacteria. *Front Public Health* | www.frontiersin.org. 2020; 1: 190. doi: 10.3389/fpubh.2020.00190
- Donohue MJ. Increasing nontuberculous mycobacteria reporting rates and species diversity identified in clinical laboratory reports. *BMC Infect Dis*. 2018; 18(1): 1-9. doi: 10.1186/S12879-018-3043-7/FIGURES/3
- Hoefsloot W, Van Ingen J, Andrejak C, Angeby K, Bauriaud R, Bemer P, et al. The geographic diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from pulmonary samples: An NTM-NET collaborative study. *Eur Resp J*. 2013; 42(6): 1604-13. doi: 10.1183/09031936.00149212
- Thomson RM, Carter R, Tolson C, Coulter C, Huygens F, Hargreaves M. Factors associated with the isolation of nontuberculous mycobacteria (NTM) from a large municipal water system in Brisbane, Australia. *BMC Microbiol*. 2013; 13(1). doi: 10.1186/1471-2180-13-89
- Rodríguez-Temporal D, Alcaide F, Mareković I, O'Connor JA, Gorton R, van Ingen J, et al. Multicentre study on the reproducibility of MALDI-TOF MS for nontuberculous mycobacteria identification. *Sci Rep* 2022 Jan 24; 12(1): 1237 doi: 10.1038/s41598-022-05315-7
- Contreras S, Rodríguez D, Vera F, Balcells ME, Celis L, Legarraga P, et al. Identificación de especies de micobacterias mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF). *Rev Chilena Infectol*. 2020; 37(3): 252-6. doi: 10.4067/S0716-10182020000300252
- Huard RC, de Oliveira Lazzarini LC, Ray Butler W, van Soolingen D, Ho JL. PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(4): 1637-50. doi: 10.1128/JCM.41.4.1637-1650.2003
- Dávalos AF, García PK, Montoya-Pachongo C, Rengifo A, Guerrero D, Díaz-Ordoñez L, et al. Identification of nontuberculous mycobacteria in drinking water in Cali, Colombia. *J Environ Res Public Health*. 2021; 18. doi: 10.3390/ijerph18168451
- Perez-Martinez I, Aguilar-Ayala DA, Fernandez-Rendon E, Carrillo-Sanchez AK, Helguera-Repetto AC, Rivera-Gutierrez S, et al. Occurrence of potentially pathogenic nontuberculous mycobacteria in Mexican household potable water: a pilot study. *BMC Res Notes*. 2013; 6(1): 531. doi: 10.1186/1756-0500-6-531
- Oriani A, Marfil M, Zumárraga M, Baldini M. Prevalence and species diversity of nontuberculous mycobacteria in drinking water supply system of Bahía Blanca City, Argentina. *Int J Mycobacteriol*. 2019; 8(2): 138-45. doi: 10.4103/IJMY.IJMY_39_19
- Cassidy PM, Hedberg K, Saulson A, Mcnelly E, Winthrop KL. Nontuberculous mycobacterial disease prevalence and risk factors: a changing epidemiology. *Clin Infect Dis*. 2009 Dec 15; 49(12): e124-9. doi: 10.1086/648443
- Rocha D, Felgueiras Ó, Duarte R. Can environmental determinants explain nontuberculous mycobacteria geographic incidence? *Pulmonology*. 2020; 26(3): 145-50. doi: 10.1016/j.pulmoe.2019.12.003
- Bhanushali J, Jadhav U, Ghewade B, Wagh P. Unveiling the clinical diversity in nontuberculous mycobacteria (NTM) infections: a comprehensive review. Published online 2023. doi: 10.7759/curres.48270
- Honda JR, Hasan NA, Davidson RM, Myra D, Williams MD, Epperson LE, Paul R, Reynolds PR, et al. Environmental nontuberculous mycobacteria in the Hawaiian islands. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(10). doi: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0005068
- Dowdell K, Haig SJ, Caverly LJ, Shen Y, LiPuma JJ, Raskin L. Nontuberculous mycobacteria in drinking water systems – the challenges of characterization and risk mitigation. *Curr Opin Biotechnol*. 2019; 57: 127. doi: 10.1016/j.copbio.2019.03.010
- Blanc SM, Robinson D, Fahrenfeld NL. Potential for nontuberculous mycobacteria proliferation in natural and engineered water systems due to climate change: A literature review. *City Environ Interact*. 2021; 11:100070. doi: 10.1016/J.CACINT.2021.100070
- Rahmatika I, Simazaki D, Kurisu F, Furumai H, Kasuga I. Occurrence and diversity of nontuberculous mycobacteria affected by water stagnation in building plumbing. *Water Supply*. 2023; 23(12): 5017-28. doi: 10.2166/WS.2023.318/1348398/WS023125017.PDF
- Aprende más - aguasandinas - Aguas Andinas. Accessed August 15, 2024. <https://www.aguasandinas.cl/web/aguasandinas/aprende-mas>
- Lee D, Calendo G, Kopec K, Henry R, Coutts S, McCarthy D, et al. The impact of pipe material on the diversity of microbial communities in drinking water distribution systems. *Front Microbiol*. 2021; 12. doi: 10.3389/FMICB.2021.779016/FULL
- Collivignarelli MC, Abbà A, Benigna I, Sorlini S, Torretta V. Overview of the main disinfection processes for wastewater and drinking water

- treatment plants. Sustainability 2018; 10(1): 86. doi: 10.3390/SU10010086
34. Norton GJ, Williams M, Falkinham JO, Honda JR. Physical measures to reduce exposure to tap water-associated nontuberculous mycobacteria. Front Public Health. 2020; 8: 190. doi: 10.3389/FPH.2020.00190/FULL
35. Baoying Z, Xiaojun L, Haiqun B, Fan L, Liubo Z. Contamination and transmission of mycobacteria in indoor environments of public buildings. Cent Eur J Public Health. 2022; 30(1): 26-31. doi: 10.21101/cejph.a5198
36. 'Abbas M, 'Tahir Khan M, 'Iqbal Z, Ali A, Taki Eddine B, Yousaf N, et al. Sources, transmission and hospital-associated outbreaks of nontuberculous mycobacteria: a review. Future Microbiol. 2024; 19(8): 715-40. doi: 10.2217/fmb-2023-0279.
37. Diekema DJ. Infecciones por *Mycobacterium chimaera* tras cirugía cardiovascular: lecciones de un brote mundial. Asociación Clínica Trans Am Climatol. 2019; 130: 136-44. PMC 6736012
38. Pennington KM, Vu A, Challener D, et al. Approach to the diagnosis and treatment of non-tuberculous mycobacterial disease. J Clin Tuberc Other Mycobact Dis. 2021; 24. doi: 10.1016/j.jctube.2021.100244
39. Forbes BA, Hall GS, Miller MB, Novak SM, Rowlinson MC, Salfinger M, et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Mycobacteria. Clin Microbiol Rev. 2018; 31(2). doi: 10.1128/CMR.00038-17
40. Fernandes HMZ, Conceição EC, Gomes KM, da Silva MG, Dias RCS, Duarte RS. Recovery of non-tuberculous mycobacteria from water is influenced by phenotypic characteristics and decontamination methods. Curr Microbiol. 2020; 77(4): 621-31. doi: 10.1007/S00284-019-01704-W/METRICS
41. Makovcova J, Babak V, Slany M, Slana I. Comparison of methods for the isolation of mycobacteria from water treatment plant sludge. Antonie Van Leeuwenhoek. 2015; 107(5): 1165-79. doi: 10.1007/S10482-015-0408-4
42. Thomson RM, Furuya-Kanamori L, Coffey C, Bell SC, Knibbs LD, Lau CL. Influence of climate variables on the rising incidence of nontuberculous mycobacterial (NTM) infections in Queensland, Australia 2001-2016. Sci Total Environ. 2020; 740: 139796. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2020.139796
43. Kamada K, Yoshida A, Iguchi S, Yuko Arai Y, Uzawa Y, Konno S, et al. Geographical distribution and regional differences in 532 clinical isolates of rapidly growing mycobacterial species in Japan. Sci Rep 2021;11(1):1-7. doi: 10.1038/s41598-021-84537-7