



***Mycobacterium fortuitum* Y OTRAS MICOBACTERIAS NO PIGMENTADAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO**

Vicente Ausina Ruiz, Joan Lonca Giménez

**Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario Germans Trias i Pujol,
Badalona.**

TAXONOMÍA Y SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

Mycobacterium fortuitum fue descrito por primera vez como patógeno en las ranas, por lo que al ser reconocido como especie en 1923 se le dio el nombre de *Mycobacterium ranae*. La denominación de *M. fortuitum* le fue dada por Da Costa Cruz en 1938, cuando lo aisló de abscesos subcutáneos producidos por inyecciones de vitaminas. En 1955 fue perfectamente caracterizado por Gordon y Smith, pero no fue hasta 1972 cuando se aceptó definitivamente el nuevo nombre. Durante muchos años la cepa aislada por Da Costa Cruz se ha utilizado como cepa tipo de *M. fortuitum* biovar. *fortuitum*.

Mycobacterium chelonae debe su nombre a que el primer aislamiento se realizó de una tortuga (*Chelona corticata*). El primer aislamiento humano, a partir de una lesión de rodilla, fue descrito en 1953. Como en el caso de *M. fortuitum*, estos dos aislamientos se han venido utilizando como cepas tipo de *M. chelonae* subsp. *chelonae* y de *M. chelonae* subsp. *abscessus*, respectivamente. Hasta principios de la década de los setenta, *M. fortuitum* y *M. chelonae* (complejo *M. fortuitum–chelonae*) eran consideradas micobacterias de escasa relevancia en patología humana y su aislamiento en el laboratorio tenía significación clínica en escasas ocasiones. Durante las tres últimas décadas se ha producido un notable incremento de las infecciones postraumáticas y postquirúrgicas debidas a estos microorganismos.

Desde 1986 hasta la actualidad ha habido importantes cambios en la taxonomía y nomenclatura de las micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido. Así, gracias a los estudios de la secuenciación de la región 5' final del gen del RNA ribosómico 16S se pueden distinguir, siguiendo a Kirschner *et al.*, hasta cinco especies distintas dentro de complejo *M. fortuitum–chelonae*: *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. chelonae*, *M. abscessus* y *M. fortuitum* biovariedad 3. Estudios recientes, realizados a raíz de algunos brotes de infecciones nosocomiales relacionados con la hemodiálisis en California y Louisiana, permitieron caracterizar una nueva especie de micobacteria no pigmentada de crecimiento rápido, *Mycobacterium mucogenicum*. Las características biológicas y genéticas de esta nueva especie se corresponden con las de las micobacterias que, hasta entonces, se habían denominado microorganismos del grupo "*M. chelonae-like*".

Mycobacterium smegmatis fue la primera especie de micobacteria reconocida después de *Mycobacterium tuberculosis*. Aunque inicialmente fue aislada de exudados de chancros luéticos en 1884 y de secreciones genitales en 1885, posteriormente no ha sido nunca aislada de esas mismas fuentes. Durante muchos años ha estado considerada como una micobacteria no patógena. En los últimos tiempos se le ha atribuido un papel patógeno en algunos casos de infecciones subcutáneas y osteo-

articulares. Las otras especies de micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido no se consideran de interés en patología humana.

IDENTIFICACIÓN EN EL LABORATORIO

La principal característica que suele permitir la adscripción de un bacilo ácido-alcohol resistente al complejo *M. fortuitum–chelonae* es la capacidad de dar lugar a colonias visibles en los medios convencionales para micobacterias en 2-4 días. El crecimiento puede ser también apreciado en los medios de uso común en bacteriología, especialmente en agar sangre, en forma de pequeñas colonias puntiformes. Debe señalarse, no obstante, que algunas cepas crecen mucho más lentamente en primocultivo. Silcox *et al.* han propuesto, como características adicionales propias del grupo, la ausencia de producción de pigmentos carotenoides, el dar lugar a una prueba de la arilsulfatasa positiva después de tres días de incubación y su capacidad de crecer a 28 °C en agar Mac Conkey sin violeta cristal.

Las especies que integran el complejo *M. fortuitum*, a diferencia de las que integran el complejo *M. chelonae*, reducen los nitratos a nitritos y asimilan el hierro del citrato de hierro amoniacal dando lugar a colonias de color marrón oscuro en medio de Löwenstein-Jensen al que se ha incorporado este compuesto. El resto de pruebas de identificación que pueden utilizarse para identificar las especies de micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido de interés en patología humana (Tabla 1) son de uso exclusivo en laboratorios de referencia. En ocasiones tiene interés clínico, dadas la importantes diferencias en cuanto a sensibilidad a los antibióticos, identificar las especies que integran el complejo *M. chelonae*. *M. chelonae*, a diferencia de *M. abscessus*, es capaz de crecer a 28 °C en Löwenstein-Jensen conteniendo un 5% de NaCl.

Aunque no es una técnica de uso habitual en los laboratorios clínicos, el estudio de patrón de ácidos micólicos por cromatografía en capa fina (Tabla 1 y Figura 1) permite, con gran sencillez y reproducibilidad, adscribir a las micobacterias de este grupo a uno de los complejos de interés clínico. En los laboratorios altamente especializados, el acceso a las técnicas de secuenciación del gen *hsp65* permite poder identificar hasta 10 especies distintas de micobacterias de crecimiento rápido.

EPIDEMIOLOGÍA Y MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

Las especies de micobacterias clásicamente estudiadas dentro del complejo *M. fortuitum*, y también *M. mucogenicum*, se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Pueden aislarse de diferentes hábitats acuáticos y del suelo, siendo estas las principales fuentes de contagio en la infecciones adquiridas en la comunidad. Estos microorganismos pueden sobrevivir, en ausencia de nutrientes, en un amplio margen de temperaturas, y son relativamente resistentes a los desinfectantes clorados y al glutaraldehído. Estos hechos contribuyen a explicar su presencia en diferentes ambientes hospitalarios. Mediante técnicas de epidemiología molecular, en algunos brotes epidémicos de infecciones nosocomiales, se ha podido confirmar la identidad genética de las cepas aisladas del ambiente hospitalario y de los enfermos. Se han descrito algunas epidemias de infecciones nosocomiales debidas al uso de soluciones desinfectantes contaminadas. La fuente de contaminación en muchas infecciones postquirúrgicas no puede llegar a establecerse.

La mayoría de infecciones causadas por estos microorganismos son debidas a inoculación tras un traumatismo accidental, cirugía o inyección. Las infecciones pulmonares pueden producirse por aspiración o por vía hematogena. No se dispone

de evidencias de transmisión de persona a persona. El período de incubación varia entre una semana y dos años, siendo unos 30 días lo más habitual.

Tabla 1. Principales características que pueden utilizarse para identificar las micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido de mayor interés en patología humana^a.

Complejo	Especies	Arilsulfatasa (3 días)	Reducción de nitratos	Asimilación de citrato de hierro amoniaco	Crecimiento en					Patrón de micolatos ^b
					MacConkey sin violeta cristal	NaCl al 5%	Citrato Sódico	Manitol	Inositol	
<i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	I, V, VII ^c
	<i>M. peregrinum</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	I, V, VII ^c
	<i>M. fortuitum</i> biovar 3	+	+	+	+	+	-	+	+	I, V, VII ^c
<i>M. chelonae</i>	<i>M. chelonae</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	I, II
	<i>M. abscessus</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	I, II
<i>M. chelonae</i> -like	<i>M. mucogenicum</i>	+	V	+ ^d	+	-	+	+	-	I, VI

^aSímbolos: (+): Reacción positiva en $\geq 85\%$ de las cepas; (-): Reacción positiva en $\leq 15\%$ de las cepas; V: variable según las cepas.

^bPatrones: I: α -micolatos; II: α' -micolatos; V: epoximicolatos, VI: carboximicolatos; VII: ω -1 metoximicolatos.

^cEl ω -1 metoximicolato sólo se detecta en algunas cepas.

^d*M. mucogenicum* da lugar a colonias de un color marrón claro y las especies del complejo *M. fortuitum* marrón oscuro.

Tabla 2. Infecciones nosocomiales causadas por micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido.

Enfermedad	Especies más frecuentes
Infecciones epidémicas o esporádicas	
Abscesos post-inyección	<i>M. chelonae</i>
Abscesos de la herida tras cirugía plástica de la mama	<i>M. fortuitum</i>
Infecciones esternas secundarias a la cirugía cardíaca	<i>M. fortuitum</i>
Bacteriemias e infecciones diseminadas en hemodializados	<i>M. abscessus</i>
Peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal	<i>M. fortuitum</i> <i>M. abscessus</i>
Infecciones esporádicas	
Sepsis asociadas a catéteres	<i>M. fortuitum</i> <i>M. abscessus</i> <i>M. chelonae</i>
Infecciones quirúrgicas	<i>M. fortuitum</i> <i>M. abscessus</i>

Así pues, las infecciones de piel y subcutáneas son las más frecuentes. Pueden manifestarse como un absceso piógeno, con una reacción inflamatoria aguda y supuración, o bien evolucionan lentamente dando lugar a una reacción inflamatoria crónica, con alteración y formación de fístulas.

Las infecciones pulmonares son, con frecuencia, secundarias a una aspiración. Son más frecuentes en los pacientes con enfermedad pulmonar de base (fibrosis quística, bronquiectasias, etc.) y en aquéllos que reciben tratamiento inmunosupresor. Los signos clínicos y radiológicos son inespecíficos. No debe olvidarse que estos microorganismos pueden encontrarse ocasionalmente en la flora comensal del tracto respiratorio. El curso clínico de estas infecciones es muy variable. En la mayoría de pacientes evolucionan de forma crónica y lentamente progresiva. No obstante, en algunos casos las lesiones pueden permanecer estables por periodos prolongados de tiempo, pero la resolución espontánea es excepcional.

Tabla 3. Infecciones pulmonares y diseminadas causadas por micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido.

Enfermedad de base	Especies más frecuentes
Infecciones pulmonares	
Pacientes sin enfermedad de base	<i>M. abscessus</i>
Fibrosis quística	<i>M. abscessus</i>
Bronquiectasias	<i>M. abscessus</i>
Infección coexistente con <i>Mycobacterium avium</i>	<i>M. abscessus</i>
Infección micobacteriana previa	<i>M. abscessus</i>
Acalasia, vómitos crónicos	<i>M. fortuitum</i>
Aspiración de aceite mineral	<i>M. abscessus</i>
Infecciones diseminadas	
Neoplasias hematológicas	<i>M. abscessus</i>
Sepsis asociada a catéteres	<i>M. abscessus</i>
Trasplante de órgano sólido	<i>M. chelonae</i>
Tratamiento prolongado con glucocorticoides	<i>M. chelonae</i>

En una amplia revisión publicada por Ingram *et al.* en 1993 se recopilaron de la literatura médica 54 casos de infección diseminada diagnosticados en el transcurso de tres décadas. Cuarenta y tres enfermos tenían alguna forma de inmunodeficiencia u otras enfermedades de base graves; en once casos, no obstante, no existía ninguna patología subyacente. La evolución, con tratamiento antibiótico adecuado, estaba directamente relacionada con el grado de inmunodepresión.

Otros síndromes clínicos causados por estos microorganismos incluyen la queratitis, endoftalmítis, artritis supurativas, osteomielitis, endocarditis, meningitis, peritonitis, infección urinaria crónica, otitis media secundaria a la implantación de tubos de timpanostomía y bacteriemias asociadas a catéteres.

El diagnóstico se realiza habitualmente por cultivo de los exudados que drenan las lesiones o por biopsia. El hemocultivo suele ser positivo en las bacteriemias por catéter y en las infecciones diseminadas.

TRATAMIENTO

El tratamiento predeciblemente más eficaz frente a estos microorganismos es la excisión quirúrgica de todos los tejidos afectados. Desafortunadamente, esto no suele ser posible en la mayoría de casos y debe utilizarse tratamiento con antibióticos. Las micobacterias de este grupo varían mucho en su sensibilidad a los antibióticos, pero hay un cierto grado de predecibilidad que varía con las diferentes especies. Así, *M. fortuitum* es generalmente sensible a la amikacina, cefoxitina, imipenem, ciprofloxacino, ofloxacino, sulfonamidas, claritromicina, y un 40% de las cepas son sensibles también a la doxiciclina. *M. abscessus* es usualmente sensible a la amikacina, cefoxitina, y algunas cepas lo son también a imipenem y los macrólidos. *M. chelonae* es la especie más resistente, mostrando una sensibilidad variable a amikacina, tobramicina, ciprofloxacino, imipenem, eritromicina, claritromicina y doxiciclina.

En la Tabla 4 se señalan los agentes de primera elección, para el tratamiento empírico de las infecciones causadas por las micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido. No se han publicado ensayos clínicos controlados que permitan definir el tratamiento óptimo ni la duración del mismo. De acuerdo con la experiencia acumulada se pueden hacer, no obstante, algunas recomendaciones generales.

En el caso de las infecciones sistémicas causadas por *M. fortuitum*, *M. peregrinum* o *M. abscessus* la pauta terapéutica debería incluir la amikacina y el imipenem o la cefoxitina durante 2-4 semanas. Si se aprecia una mejoría clínica, y para las infecciones de moderada gravedad, puede seguirse un tratamiento oral con dos o más antibióticos para evitar la selección de cepas resistentes.

La curación definitiva de las infecciones pulmonares por *M. abscessus* suele requerir la excisión quirúrgica. El tratamiento inicial con amikacina e imipenem o cefoxitina durante 2-6 semanas suele seguirse de una favorable respuesta clínica y bacteriológica pero no suele ser curativo.

Por último, en las infecciones por *M. chelonae*, la selección de los antibióticos a utilizar debe basarse en los resultados de los estudios de sensibilidad *in vitro*. Como se ha comentado más arriba, y siempre que sea posible, debe procederse a la extracción de los cuerpos extraños colonizados y a la limpieza quirúrgica de las lesiones.

Tabla 4. Antibióticos de primera elección para las infecciones causadas por micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido.

Especies	Antibióticos de elección ^a		Otros antibióticos alternativos ^a
	Parenteral	Oral	
<i>M. fortuitum</i>	Amikacina Imipenem	Nuevas quinolonas Sulfamidas Claritromicina (80%)	Cefoxitina (77-99%) Doxiciclina o Minociclina (40%)
<i>M. peregrinum</i>	Amikacina Cefoxitina Imipenem	Sulfonamidas Nuevas quinolonas	Doxiciclina (40%)
<i>M. fortuitum</i> biovar 3 Sorbitol negativa	Amikacina Cefoxitina Imipenem	Sulfonamidas Nuevas quinolonas Claritromicina	
Sorbitol positiva	Amikacina Imipenem	Sulfonamidas Nuevas quinolonas	
<i>M. chelonae</i>	Amikacina Tobramicina Imipenem (40%)	Claritromicina	Doxiciclina (25%) Ciprofloxacino (25%)
<i>M. abscessus</i>	Amikacina Cefoxitina (85%)	Claritromicina	Imipenem (60%)
<i>M. mucogenicum</i>	Amikacina Imipenem Cefoxitina	Cotrimoxazol Nuevas quinolonas Claritromicina	Doxiciclina (40%)
<i>M. smegmatis</i> ^b	Amikacina Imipenem	Doxiciclina Sulfonamidas Nuevas quinolonas	Etambutol Tobramicina

^aEn las especies con <100% de susceptibilidad a un antibiótico el porcentaje de cepas sensibles se señala entre paréntesis.

^bSe incluye *M. smegmatis* a pesar de que esta especie produce pigmentos carotenoides en cultivos de más de 15 d.

ESTUDIOS DE SENSIBILIDAD *IN VITRO*

Se han descrito cuatro métodos para estudiar la sensibilidad *in vitro* de las micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido: difusión con discos en agar, microdilución en medio líquido, elución con disco en agar y el sistema E-test®. Ninguno de los cuatro métodos ha sido definitivamente aprobado por el NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*).

El método de disco-difusión parece el menos aceptable de los cuatro. Tiene importantes limitaciones, tanto en cuanto a la carga de los discos a utilizar como a los criterios de interpretación. Por estas razones no puede ser recomendado. La técnica de E-test® ha sido propuesta recientemente, y aunque los resultados iniciales parecen prometedores, no se dispone aún de suficiente experiencia. El método de microdilución en medio líquido ha sido descrito de forma detallada por Brown *et al.* Es el recomendado para estudiar un número elevado de cepas. Los antibióticos a utilizar, el intervalo aconsejable de concentraciones a ensayar y los criterios de interpretación se detallan en la Tabla 5.

El método de elución con discos en agar está recomendado para estudiar un número reducido de cepas. Se colocan discos de antibióticos conteniendo las concentraciones que se indican en la Tabla 6 en el fondo de pocillos de 35 mm de diámetro, siendo después eluidos con 0,5 ml de OADC (ácido oléico, albúmina, D-glucosa y catalasa) o caldo TSB. Se añade posteriormente agar Mueller-Hinton en

cada pocillo y se deja solidificar. Una vez preparadas las placas pueden conservarse a 4 °C durante 7 días. Cuando se estudia el imipenem las placas deben inocularse durante las 24 h siguientes a su preparación. El inóculo final debe ser de 1×10^4 UFC por pocillo. Las placas deben incubarse a 30 °C durante 3-5 días. Una limitación de este método es que los fármacos son estudiados a una o dos concentraciones (amikacina) críticas sólomente. Hasta el momento actual no hay criterios aceptados para estudiar la sensibilidad a los macrólidos. Una cepa se considera sensible por este método cuando no se observa crecimiento a la concentración de antibióticos testada; en el caso de las sulfamidas, cuando hay una reducción del crecimiento del 80% con respecto al pocillo control sin fármaco.

Tabla 5. Antibióticos que se recomienda ensayar por técnica de microdilución en medio líquido y criterios de interpretación de resultados^a.

Antibióticos	Intervalo de concentración	CIM ($\mu\text{g/mL}$) para			
		<i>M. fortuitum</i> ATCC 6841	Cepas Sensibles ^b	Cepas Intermedias	Cepas Resistentes
Amikacina	0.5-64	$\leq 0,25-1$	≤ 16	32	≥ 64
Tobramicina	0,5-32	8-32	≤ 4	8	≥ 16
Cefoxitina	2-256	16-32	≤ 16	32	≥ 64
Imipenem	0,5-32	1-4	≤ 4	8	≥ 16
Ciprofloxacino	0,06-8	$\leq 0,06-0,25$	≤ 1	2	≥ 4
Doxiciclina	0,25-32	$\leq 0,25-4$	≤ 1	2-8	≥ 16
Sulfametoxazol	0,5-256	2-16	≤ 32		≥ 64
Sulfisoxazol	0,5-256	-	≤ 32		≥ 64

^aTomado de Brown *et al.* e Inderlied *et al.* Los inóculos se preparan en caldo TSB o Mueller-Hinton con cationes y 0,05% de Tween-80®. Los tubos utilizados para preparar los inóculos deben contener 4-5 perlas de vidrio estériles de 0,5 mm de diámetro. El inóculo final debe contener 1×10^4 a 4×10^6 UFC/100 μl en cada pocillo de las placas de microtitulación. Las placas se incuban a 30 °C durante 3-5 d.

^bCriterios del NCCLS.

Tabla 6. Antibióticos que se recomienda ensayar, concentraciones y criterios de interpretación en el método de elución en agar.

Antibióticos	Resistencia Puntos de corte	Carga de discos (μg)	Nº de discos por pocillo	Concentración final en $\mu\text{g/mL}$	<i>M. fortuitum</i> ATCC 6841
Amikacina	32	30	1	6	S
Amikacina	32	30	5	30	S/R
Tobramicina	8	10	4	8	S/R
Cefoxitina	32	30	5	30	S
Imipenem	32	10	4	8	S
Ciprofloxacino	2	5	2	2	S
Doxiciclina	8	30	1	6	S
Cotrimoxazol	32	25	6	30	S

BIBLIOGRAFÍA

BROWN BA, SWENSON JM, RJ WALLACE JM, JR. Agar disk elution test for rapidly growing mycobacteria. En: Isenberg HD (ed). Clinical microbiology procedures handbook. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992. pp. 5.10.1-5.10.11.

BROWN BA, SWENSON JM, WALLACE RJ, JR. Broth microdilution test for rapidly growing mycobacteria. En: En H.D. Isenberg (ed). Clinical microbiology procedures

- andbook. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992. pp. 5.11.1-5.11-10.
- FALKINHAM III, JO. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin. Microbiol. Rev. 1996; 9: 177-215.
- GRIFFITH DE, GIRARD WM, WALLACE RJ, JR. Clinical features of pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria: Analysis of 154 patients. Am Rev Respir. Dis. 1993; 147:1271-1278.
- INDERLIED CB, NASH KA. Antimycobacterial agents: *in vitro* susceptibility testing, spectra of activity, mechanisms of action and resistance, and assays for activity in biologic fluids. En: Lorian V (ed). Antibiotics in laboratory medicine, 4^a ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996, pp 127-175.
- INGRAM CW. Disseminated infection with rapidly growing mycobacteria. Clin Infect Dis 1993; 16:463-471.
- KIRSCHNER P, KIEKENBECK M, MEISSNER D, WOLTERS J. BÖTTGER E.C. Genetic heterogeneity within *Mycobacterium fortuitum* complex species: Genotypic criteria for identification.. J Clin Microbiol 1992; 30:2772-2775.
- KOONTZ F. E-test for susceptibility testing of rapid growing mycobacteria. Diagn Microbiol. Infect Dis 1994; 19:183-186.
- MUÑOZ M, JULIÁN E, GARCÍA-BARCELÓ M, AUSINA V, LUQUÍN M. Easy differentiation of *Mycobacterium fortuitum* complex by thin-layer and gas chromatography of fatty esters and alcohols. J Chromatography B. 1997; 689: 341-347.
- RINGUET H, AKOUA-KOFFI C, HONORÉ S, VARNEROT A, VINCENT V, BERCHE P. *et al.* *hsp65* sequencing for identification of rapidly growing mycobacteria. J Clin Microbiol 1999; 37:852-857.
- SANDERS WE, JR. Lung infection caused by rapidly growing mycobacteria. J Respir Dis 1982; 3: 30-38.
- SILCOX V.A, GOOD RA, FLOYD MM. Identification of clinically significant *Mycobacterium fortuitum* complex isolates. J Clin Microbiol 1981. 13:908-912.
- WALLACE RJ, JR. Recent changes in taxonomy and disease manifestations of the rapidly growing mycobacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13:953-960.
- WALLACE RJ, JR, BROWN BA, ONYI GO. Skin, soft tissue, and bone infection due to *Mycobacterium chelonae chelonae*. Importance of prior resistance to oral antimicrobials other than clarithromycin. J Infect Dis 1992; 166:405-412.
- WALLACE RJ, JR, SWENSON M, SILCOX VA, GOOD RC, TSCHEN JA, STONE MS. Spectrum of disease due to rapidly growing mycobacteria. Rev Infect Dis 1983; 5:657-679.
- WALLACE RJ, JR, MUSSER MJ, HULL SI, SILCOX WA, STEELE LC, FORRESTER GD. *et al.* Diversity and sources of rapidly growing mycobacteria associated with infections following cardiac surgery. J Infect Dis 1989; 159:708-716.

WAYNE LG, KUBICA GP. Genus *Mycobacterium*. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986, vol 2, pp 1436-1457.