

***Mycobacterium kansasii*: HETEROGENEIDAD Y SU REPERCUSIÓN CLÍNICA Y DIAGNÓSTICA**

Lorena López Cerezo

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla

Actualmente, *Mycobacterium kansasii* es una de las especies de micobacterias no tuberculosas mejor estudiada. Produce enfermedad pulmonar en el hombre, similar en muchos aspectos a una infección tuberculosa. En los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y en otras inmunodeficiencias, pueden presentarse cuadros diseminados y extrapulmonares. No se ha demostrado la transmisión interhumana y se desconoce tanto el reservorio como las vías de transmisión, aunque podrían estar implicados factores como el agua metropolitana y la inhalación de sus aerosoles.

La incidencia de la infección por esta micobacteria puede variar entre 0,5 y 1 caso por 100.000 habitantes y año. Regiones muy industrializadas, con alta polución ambiental, o zonas mineras, parecen tener incidencias más altas. En nuestro país se han encontrado incidencias del 1,5 casos/100.000 hab/año en Cataluña, y hasta del 6,5 en Bilbao, siendo mucho más frecuente si se analiza la población infectada por el VIH. El diagnóstico y tratamiento de la infección por *M. kansasii* fueron motivo de revisión por parte de Rodríguez *et al.* en un número anterior de este Boletín, accesible electrónicamente.

HETEROGENEIDAD GENÉTICA Y EPIDEMIOLÓGICA DE *M. kansasii*

Desde 1962 se conocía, a partir de los resultados obtenidos en la infección con cobayas, que existían dos biotipos en *M. kansasii*, pero ha sido a raíz de los recientes estudios genéticos realizados en esta especie que se ha podido determinar mejor su variabilidad. En 1992, se observó que algunas cepas identificadas fenotípicamente como *M. kansasii* presentaban variaciones en una región de 312 pb del gen 16S ARNr, sugiriendo la posibilidad de la existencia de cinco genotipos o subtipos. Más tarde, esta clasificación en cinco subtipos o subespecies se confirmó al estudiar otras zonas del cromosoma de *M. kansasii*, como la región espaciadora de los genes ribosómicos mediante secuenciación, o el gen *hsp65* mediante el polimorfismo de restricción o PRA, con variaciones concordantes.

Esta heterogeneidad genética tenía una repercusión en el laboratorio de Micobacteriología, ya que la sonda comercial AccuProbe®, ampliamente utilizada para la identificación de distintas especies micobacterianas en la práctica habitual del laboratorio, era capaz de reconocer los aislamientos pertenecientes al genotipo I y V, pero tenía dificultades con el II, III y IV. Esto podía suponer, según las series, entre el 7 y el 56% de las cepas. Para poder abarcar la mayoría de cepas clínicas, se modificó el diseño de la sonda, pero seguían observándose resultados negativos con un número pequeño de ellas. Al analizar con más detenimiento aquéllas que no hibridaban con la nueva sonda, se detectó que poseían nuevas variaciones, tanto en la secuencia espaciadora como en la región del gen 16S analizadas, por lo que se propuso un sexto subtipo. Recientemente, se ha encontrado un nuevo patrón de polimorfismo de restricción del gen *hsp65* en aislados suizos, que justificaría un séptimo genotipo.

El genotipo, subtipo o subespecie I es el predominante entre los aislamientos recuperados de muestras clínicas en todos los estudios realizados hasta la fecha (tabla 1). La frecuencia relativa de este genotipo respecto a los demás es mayor en series

norteamericanas que en colecciones europeas. En nuestro país predomina en las regiones más industrializadas o más pobladas, como Cataluña y Vizcaya. Este genotipo es raro en muestras ambientales y es poco frecuente en pacientes infectados por el VIH, lo que sugiere que posee factores de virulencia distintivos. El genotipo II es el segundo en frecuencia, sobre todo en las descripciones de cepas europeas, y puede encontrarse en muestras ambientales. La infección por este subtipo está más asociada a pacientes VIH positivos, por lo que se le podría considerar un patógeno oportunista en individuos inmunodeprimidos. Los restantes genotipos son poco frecuentes en muestras clínicas, independientemente de la región geográfica, procedentes en general de pacientes con enfermedades pulmonares de base. En los pocos casos publicados de aislamiento de genotipos III, IV, VI y VII, las muestras fueron negativas por baciloscopia y fueron escasos los pacientes clasificados como infectados, según los criterios de la *American Thoracic Society*. En muestras ambientales se identificaron los genotipos III, IV y V principalmente.

Tabla 1. Frecuencia de los genotipos de *M. kansasii* en diferentes series.

Referencia	Lugar	% de los subtipos de <i>M. kansasii</i>						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
Picardeau ^a , 1997	Francia	40	32	8	14	6	0	0
Alcaide ^b , 1997	Europa	40	25	12	21	2	0	0
Taillard, 2003	Suiza	67	21	8	0,5	0	2	2
Zhang, 2004	EEUU	96	1,2	2,4	0	0	0	0
Jiménez-Pajares, 2005	España	87	6	2,3	0,3	2,3	2,3	0
Leaz Arranz, 2005	España, Bilbao	98,5	1,5	0	0	0	0	0

^aColección con 39% de muestras ambientales.

^bColección con 41% de muestras ambientales.

IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA

La batería de pruebas fenotípicas que se usan en los laboratorios de Micobacteriología incluyen los siguientes resultados para *M. kansasii*: velocidad de crecimiento lento, temperatura óptima a 37° C, producción de pigmento tras fotoinducción, niacina negativa, catalasa a 68°C positiva, reducción del telurito potásico negativa, arilsulfatasa negativa, reducción de nitratos positiva e hidrólisis del Tween positiva. Existen en la actualidad pocos trabajos que analicen las características fenotípicas de esta especie. En una reciente revisión en el Centro Nacional de Microbiología se observaron resultados atípicos en el 42,6% de las cepas. En concreto, dentro del genotipo VI, tres de siete cepas se comportaron como atípicas.

En cuanto al rendimiento de los métodos moleculares, debemos diferenciar si se trata de técnicas de hibridación con sondas específicas, secuenciación, o amplificación y posterior restricción. Como ya hemos comentado, una de las técnicas más extendida en los laboratorios de todo el mundo es la hibridación con sondas AccuProbe®, tanto por su sencilla realización, como porque permite identificaciones a partir de medios de cultivo líquidos. El actual diseño de esta sonda comercial identifica el 97,4% de los aislamientos, pero no proporciona una hibridación positiva en los casos del genotipo VI. Respecto a las otras sondas comerciales disponibles, INNO-LIPA® y GenoType® Mycobacterium, contemplan de igual forma, los subtipos I-V únicamente.

El estudio de secuencias cromosómicas tampoco garantiza una identificación en todos los casos. La secuenciación del gen 16S ARNr presenta dificultades en la diferenciación de *Mycobacterium gastr* (una especie muy relacionada filogenéticamente) de *M. kansasii* genotipo I y IV. Por otra parte, cuando se secuencia la región espaciadora interribosómica, es difícil discriminar entre *M. gastr* y *M. kansasii* subtipo IV, ya que poseen

secuencias muy similares, diferenciándose sólo en 6 pb. Únicamente el análisis del polimorfismo de restricción (PRA) identifica todos los genotipos de *M. kansasii*, con la ventaja adicional que proporciona información sobre el genotipo concreto, ya que están definidos patrones específicos para cada uno de ellos.

Actualmente, se dispone de un reducido número de aislamientos tipo VI con pocos datos clínicos, por lo que es difícil, por el momento, definir su significación clínica. Para una correcta identificación de *M. kansasii*, especialmente de genotipos distintos del I y II, es necesario combinar los métodos convencionales con otros moleculares, que incluyan el análisis del gen *hsp65*. De esta forma, nos permitiría, además, determinar el genotipo, y así añadir experiencia para el mejor conocimiento de su significación clínica.

BIBLIOGRAFIA

- ALCAIDE F, RICHTER I, BERNASCONI C, SPRINGER B, HAGENAU C, SCHULZE-RÖBBECKE R, ET AL. Heterogeneity and clonality among isolates of *Mycobacterium kansasii*: implications for epidemiological and pathogenity studies. J Clin Microbiol 1997; 35:1959-1964.
- LEAL ARRANZ MV, GAAFAR A, UNZAGA MJ, CRESPO JA, CISTERNA R, GARCÍA CEBRIÁN F. Clinical and epidemiological study of disease caused by *Mycobacterium kansasii* in the metropolitan area of Bilbao, Spain. Arch Bronconeumol 2005; 41:189-196.
- JIMÉNEZ-PAJARES MS, HERRERA L, VALVERDE A, SÁIZ P, SÁEZ-NIETO JA. Caracterización genotípica y genotípica de cepas de *Mycobacterium kansasii* aisladas en España (2000-2003). Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23:254-258.
- PADILLA E, GONZÁLEZ V, MANTEROLA JM, PÉREZ A, QUESADA MD, GORDILLO S, ET AL. Comparative evaluation of the new version of the INNO-LiPA Mycobacteria and GenoType Mycobacterium assays for identification of *Mycobacterium* species from MB/BacT liquid cultures artificially inoculated with mycobacterial strains. J Clin Microbiol 2004; 42:3083-3088.
- PICARDEAU M, PROD'HOM G, RASKINE L, LEPENNEC MP, VINCENT V. Genotypic characterization of five subspecies of *Mycobacterium kansasii*. J Clin Microbiol 1997; 35:25-32.
- RICHTER E, NIEMANN S, RÜSCH-GERDES S, HOFFNER S. Identification of *Mycobacterium kansasii* by using a DNA probe (AccuProbe) and molecular techniques. J Clin Microbiol 1999; 37:964-970.
- RODRÍGUEZ JC, CEBRIÁN L, ROYO G. *Mycobacterium kansasii*: epidemiología, diagnóstico y tratamiento. http://www.seimc.org/control/revi_Micobac/Mkan.htm.
- TAILLARD C, GREUB G, WEBER R, PFYFFER G, BODMER T, ZIMMERLI S, ET AL. Clinical implications of *Mycobacterium kansasii* species heterogeneity: Swiss National Survey. J Clin Microbiol 2003; 41:1240-1244.
- ZHANG Y, MANN LB, WILSON RW, BROWN-ELLIOT B, VINCENT V, IINUMA Y, ET AL. Molecular analysis of *Mycobacterium kansasii* isolates from the United States. J Clin Microbiol 2004; 42:119-125.