

## INFECCIONES POR MICOBACTERIAS DEL GRUPO *Mycobacterium smegmatis*

Carlos Muñoz Collado

Departament de Microbiologia i Ecologia.  
Facultat de Medicina i Odontologia. Universitat de València

La mejora de los métodos de aislamiento e identificación de micobacterias ha permitido constatar un constante incremento de las infecciones producidas por especies no tuberculosas (MNT), muchas de las cuales se consideran patógenos oportunistas con grado variable de virulencia, particularmente los componentes del complejo *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium fortuitum*. A pesar de que las micobacterias del grupo *Mycobacterium smegmatis* no figuran entre las especies más frecuentemente aisladas, existen diversas referencias en las que se reconoce su potencial patógeno, desde que Vonmoos *et al* describieron el primer caso de infección en humanos (1984).

### TAXONOMÍA

En la actualidad, *M. smegmatis* (Lehmann y Neumann, 1899) incluye un grupo de micobacterias de crecimiento rápido y ocasionalmente pigmentadas (grupo IV de Runyon, pigmentadas y no pigmentadas, y grupo V de Casal, escotocromógenas), que fueron aisladas por primera vez en las secreciones genitales de pacientes con chancro sifilítico, siendo consideradas como flora normal en dichas secreciones. Aunque las características bioquímicas y culturales son muy similares entre las cepas de este grupo, Wallace *et al.*, en 1988, caracterizaron 22 aislados clínicos según la diferente sensibilidad que presentaban a la tobramicina. Así, definieron tres grupos distintos: *M. smegmatis sensu strictu*, el más numeroso, y que estaba formado por las cepas sensibles a la tobramicina (CMI =1 µg/mL), *Mycobacterium goodii* con sensibilidad intermedia (CMI 2-8µg/mL), y *Mycobacterium wolinskyi*, que se correspondía con los aislados resistentes (CMI >8 µg/mL). Posteriormente, esta heterogeneidad de cepas ha sido confirmada por la variabilidad de perfiles de restricción de los amplificadores del gen *hsp-65* mediante PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), por la composición de ácidos micólicos y por el punto isoeléctrico de las β-lactamasas sintetizadas por las distintas cepas. Esta diversidad se corresponde con lo observado en los estudios filogenéticos (secuencia 16S ARNr) y de homología de DNA-DNA, que demuestran un limitado grado de relación entre los tres grupos.

### PATOGENIA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los mecanismos de virulencia y su patogenia se conocen sólo parcialmente. Como sucede con otras micobacterias de crecimiento rápido, la presencia de lípidos parece favorecer la infección, en relación con la necesidad de una fuente de triglicéridos para su crecimiento o como un elemento de protección frente a los mecanismos de fagocitosis.

Las especies del grupo *M. smegmatis* se han aislado a partir de diversas fuentes ambientales, tanto como flora saprofita en el agua y suelo, exceptuando a *M. goodii*, como responsable frecuente de infecciones en animales, particularmente en gatos (paniculitis inguinal) y bovinos (mastitis crónica granulomatosa). Como micobacterias responsables de infecciones en el hombre, la mayoría de los aislados identificados proceden de casos esporádicos de origen no pulmonar, sobre todo de piel (celulitis crónica) y abscesos en

tejidos blandos adyacentes (adenitis y bursitis), que con frecuencia se observan varios meses después de un traumatismo, o como infecciones nosocomiales tras intervenciones quirúrgicas de diversa naturaleza (cirugía cardíaca, estética, etc.). En general, se acepta que la transmisión se produce tras la exposición a elementos ambientales o quirúrgicos contaminados, si bien se ha documentado la transmisión interhumana en un pequeño brote hospitalario asociado a *M. goodii*.

Clínicamente, estas infecciones cutáneas y subcutáneas se caracterizan por una necrosis extensa bajo una piel íntegra, con tendencia a la fistulización, y afectando, ocasionalmente, a estructuras óseas. No se ha descrito ningún caso de diseminación sistémica por *M. smegmatis* a partir de un foco cutáneo. Con menor frecuencia, se han comunicado infecciones pulmonares por *M. smegmatis sensu strictu* y *M. goodii* en pacientes con ingestión o aspiración de medicamentos o alimentos particularmente ricos en lípidos (pleuroneumonía lipóide), tanto en adultos como en niños inmunodeprimidos e incluso, recientemente, se ha descrito un cuadro de afectación pulmonar en pacientes sin patología respiratoria o inmunológica previa. Respecto a la capacidad de diseminación sistémica de *M. smegmatis*, se han comunicado dos casos de bacteriemia, uno de ellos asociado a un foco infeccioso en un catéter intravenoso, y el otro en un paciente pediátrico con una inmunodeficiencia grave.

La evolución clínica depende, en gran medida, del estado inmunitario del paciente, pero se considera que, en las lesiones localizadas superficialmente, el abordaje quirúrgico con desbridamiento extenso o la retirada del material quirúrgico son esenciales.

### **TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR *M. smegmatis***

Con respecto a las micobacterias de crecimiento rápido, las normas del NCCLS exponen criterios interpretativos para la amikacina, cefoxitina, ciprofloxacino, claritromicina, doxiciclina, imipenem, linezolid, sulfametoxazol y tobramicina, sin que exista un antibiograma estandarizado. Según este organismo, la realización del estudio de sensibilidad para cualquier micobacteria de crecimiento rápido estaría indicada siempre que se considere clínicamente significativa (aislamientos de sangre, piel, y lesiones de tejidos blandos). Además, el fracaso en la erradicación de una micobacteria de este tipo de cualquier localización (excepto la respiratoria) tras de seis meses de tratamiento adecuado, obliga a confirmar la identificación y repetir los estudios de sensibilidad.

En cuanto al tratamiento de las infecciones producidas por micobacterias del grupo *M. smegmatis*, se han sugerido varias pautas, todavía no consensuadas, basadas fundamentalmente en los mismos fármacos empleados para las infecciones producidas por *M. fortuitum*, con doxiciclina o cotrimoxazol como los antibióticos más comunes de administración oral, y amikacina o imipenem por vía parenteral. Todos los aislados del grupo *M. smegmatis* son uniformemente sensibles a las sulfonamidas, doxiciclina, imipenem y amikacina. Muestran sensibilidad intermedia a las quinolonas de primera generación, tobramicina, cefoxitina y cloranfenicol y son las únicas micobacterias de crecimiento rápido no pigmentadas sensibles al etambutol, pero resistentes a la rifampicina y la isoniazida. Es importante recordar que *M. smegmatis* es generalmente resistente a macrólidos, incluyendo los nuevos, como la claritromicina, que se utiliza frecuentemente en el tratamiento de procesos clínicos muy similares, producidos por otras micobacterias oportunistas.

### **ALTERNATIVAS DIAGNÓSTICAS**

El aislamiento del grupo *M. smegmatis* en muestras clínicas, junto a su variable perfil de sensibilidad/resistencia, plantea la necesidad de un diagnóstico microbiológico preciso,

especialmente porque pueden confundirse con otras especies de micobacterias de crecimiento rápido como *M. fortuitum*, *Mycobacterium chelonae* o *Mycobacterium abscessus*, que son responsables de la mayor parte de las infecciones producidas por este tipo de micobacterias, y también de otras especies muy similares como *Mycobacterium mageritense*.

La identificación fenotípica resulta compleja, siendo necesaria la utilización de un gran número de pruebas bioquímicas, y los resultados no siempre son concluyentes, debido a la variabilidad observada dentro de la misma especie. Además, la realización de estas pruebas, aún a pesar de su escasa dificultad técnica, requiere un tiempo del que, a veces, no se dispone en muchos de laboratorios.

Las micobacterias pertenecientes al grupo *M. smegmatis* presentan como principales características fenotípicas, la formación de colonias lisas, con capacidad para virar de forma tardía a un color anaranjado en el caso de la mayor parte de aislados de *M. smegmatis sensu strictu* y *M. goodii*, mientras que las cepas de *M. wolinskyi* no son pigmentados. Todas ellas presentan crecimiento a 45°C, arisulfatasa positiva a los tres días, nitratasa positiva y utilización de manitol, inositol y sorbitol como fuentes de carbono.

En la tabla 1, se muestran los criterios de identificación de las especies que más frecuentemente exigen una diferenciación respecto a *M. smegmatis*. Una característica importante que distingue los aislados del grupo *M. smegmatis* de los pertenecientes al grupo *M. fortuitum* y *M. chelonae-abscessus* es su resistencia a los macrólidos, incluyendo la claritromicina, de ahí la importancia de realizar un diagnóstico exacto para evitar que el tratamiento de infecciones producidas por el grupo *M. smegmatis* o el complejo *M. fortuitum* biovariedad 3 sorbitol positivo, se realice con este tipo de fármacos a los que son intrínsecamente resistentes.

Como alternativa a las pruebas bioquímicas convencionales, existen técnicas comerciales basadas en métodos moleculares que permiten la identificación de numerosas especies micobacterianas. Tal es el caso del equipo INNO-LiPA Mycobacteria® versión 2, de Innogenetics, que emplea una técnica de hibridación inversa, basada en la amplificación de una zona genómica concreta (región intergénica espaciadora 16S-23S del ARN ribosomial) y la posterior hibridación del producto amplificado con sondas específicas inmovilizadas sobre tiras de nitrocelulosa. La detección del producto amplificado unido a la sonda correspondiente se realiza mediante un ensayo inmunoenzimático, que da lugar a la aparición de color en la banda donde se produce la hibridación.

Este método permite la detección e identificación simultánea del género *Mycobacterium* y de 16 especies distintas a partir de cultivo, incluyendo *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *Mycobacterium genavense*, *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium marinum* + *ulcerans*, *Mycobacterium celatum*, el complejo MAIS (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*), *Mycobacterium malmoeense*, *Mycobacterium haemophilum*, *M. chelonae*, el complejo *M. fortuitum* y *M. smegmatis*. Con este equipo se obtiene muy buenos resultados en la identificación de micobacterias, tanto a partir de medios líquidos como sólidos y, además, permite la detección de coinfecciones. A pesar de ello, es una técnica laboriosa y en la que debemos tener en cuenta su elevado coste.

El análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción (PRA o PCR-RFLP) es una técnica basada en la amplificación mediante PCR de un segmento de 439 pb del gen *hsp65*, que codifica una proteína de 65kDa (*heat shock protein*) presente en todas las micobacterias; posteriormente se realiza una digestión de los productos de PCR, utilizando las enzimas de restricción *BstEII* y *HaeIII*. Para finalizar, se obtienen varios fragmentos de

diferentes pesos moleculares, cuya separación en un gel de agarosa, permite obtener unos perfiles que son diferentes según la especie micobacteriana estudiada. Esta técnica constituye una alternativa fácil y rápida, caracterizada por la simplicidad de la preparación de la muestra y el hecho de que no depende de un proceso de hibridación, como ocurre con otros métodos moleculares, y permite la identificación de múltiples especies sin la necesidad de un equipo especializado, así como diferenciar entre tipos genéticos dentro de una misma especie.

Según un estudio realizado por Wang *et al* (2005), sobre 39 aislados clínicos identificados como micobacterias de crecimiento rápido, entre las que había dos cepas de *M. smegmatis*, el PRA se perfiló como un método cuya precisión en la identificación de este grupo de micobacterias es comparable a la de los métodos convencionales, pero además es mucho más rápida, por lo que según estos autores debería ser incorporada en los laboratorios clínicos para el diagnóstico de las infecciones causadas por micobacterias de crecimiento rápido. La relación de especies de micobacterias que podemos diferenciar por este método se detalla a continuación: *Mycobacterium abscessus* I y II, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium asiaticum*, *Mycobacterium aurum*, *Mycobacterium austroafricanum*, *M. avium*, *Mycobacterium bovis*, *M. celatum* I y II, *M. chelonae* I y II, *Mycobacterium engbackii*, *Mycobacterium flavescens* I y II, *M. fortuitum* I y II, *Mycobacterium gallinarum*, *Mycobacterium gastris*, *M. genavense*, *M. gordonae* I, II, III, IV, V y VI, *M. haemophilum*, *M. intracellulare*, *M. kansasii* I, II, III, IV y V, *M. malmoense*, *M. marinum*, *Mycobacterium moriokaense*, *Mycobacterium nonchromogenicum* I y II, *Mycobacterium peregrinum* I, II y III, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium pulveris*, *M. scrofulaceum*, *Mycobacterium senegalense* y *Mycobacterium shimodei*.

## BIBLIOGRAFÍA

- BROWN BA, SPRINGER B, STEINGRUBE VA *ET AL.* *Mycobacterium wolinskyi* sp. nov. and *Mycobacterium goodii* sp. nov., two new rapidly growing species related to *Mycobacterium smegmatis* and associated with human wound infections: a cooperative study from the International Working Group on Mycobacterial Taxonomy. *Int J Syst Bacteriol* 1999; 49:1493-1511.
- BROWN-ELLIOT BA, WALLACE RJ. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmented rapidly growing mycobacteria. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:716-746.
- BROWN-ELLIOTT BA, GRIFFITH DE, WALLACE RJ. Newly described emerging human species of nontuberculous mycobacteria. *Infect Dis Clin N Am* 2002; 16:187-220.
- ERGAN B, CÖPLÜ L, ALP A, ARTVINLI M. *Mycobacterium smegmatis* pneumonia. *Respirology* 2004; 9:283-285.
- FERGUSON DD, GERSHMAN K, JENSEN B *ET AL.* *Mycobacterium goodii* infections associated with surgical implants at Colorado hospital. *Emerg Infec Dis* 2004; 10:1868-1871.
- NEWTON JA JR, WEISS PJ, BOWLER WA, OLDFIELD EC. Soft-tissue infection due to *Mycobacterium smegmatis*: report of two cases. *Clin Infect Dis* 1993; 16:530-533.
- PENNEKAMP A, PFYFFER GE, WUEST J, GEORGE CA, RUEF C. *Mycobacterium smegmatis* infection in a healthy woman following a facelift: case report and review of the literature. *Ann Plast Surg* 1997; 39:80-83.

- PIERRE-AUDIGIER C, JOUANGUY E, LAMHAMEDI S *ET AL.* Fatal disseminated *Mycobacterium smegmatis* infection in a child with inherited interferon gamma receptor deficiency. *Clin Infect Dis* 1997; 24:982-984.
- SCHREIBER J, BURKHARDT U, RUSCH-GERDES S *ET AL.* Non-tubercular mycobacterial infection of the lungs due to *Mycobacterium smegmatis*. *Pneumologie* 2001; 55:238-243.
- SKIEST DJ, LEVI ME. Catheter-related bacteriemia due to *Mycobacterium smegmatis*. *South Med J* 1998; 91:36-37.
- SOHAIL MR, SMILACK JD. Hernia repair mesh-associated *Mycobacterium goodii* infection. *J Clin Microbiol* 2004; 42:2858-2860.
- TELENTI A, MARCHESI F, BALZ M, BALLY F, BÖTTGER EC, BODMER T. Rapid identification of *Mycobacteria* to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* 1993; 31:175-178.
- VONMOOS S, LEUENBERGER P, BEER P, DE HALLER R. Pleuropulmonary infection caused by *Mycobacterium smegmatis*. Case description and literature review. *Schweiz Med Wochenschr* 1986; 116:1852-1856.
- WALLACE RJ, NASH DR, TSUKAMURA M, BLACKLOCK ZM, SILCOX VA. Human disease due to *Mycobacterium smegmatis*. *J Infect Dis* 1988; 158:52-59.
- WANG SX, TAY L. Rapid identification of pathogenic rapidly growing mycobacteria by PCR-restriction endonuclease analysis. *Ann Acad Med* 2005; 34:137-140.

**Tabla 1. Diferenciación de micobacterias de crecimiento rápido<sup>a</sup>.**

Micobacteria	Pigmento	NO <sub>3</sub>	Aryl	Catalasa		Crecimiento en			CFA	Glu	Lev	Man	Cit	Temperatura de crecimiento (°C)					
				22°C	68°C	AO	MC	NaCl						25	30	37	42	45	57
<i>M. abscessus</i>	No	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	ND	ND
<i>M. chelonae</i>	No	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	V	-	ND	ND
<i>M. fortuitum</i>	No	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	ND
<i>M. peregrinum</i>	No	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	ND	D
<i>M. smegmatis</i> var <i>smegmatis</i>	No/Escoto	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-

<sup>a</sup>Abreviaturas y símbolos. NO<sub>3</sub>: nitrato reductasa; Aryl: arilsulfatasa a los 3 días; AO: agar ordinario; MC: agar MacConkey; NaCl: medio con 5% de NaCl. <sup>7</sup>CFA: citrato férrico amónico; Glu: glucosa; Lev: levulosa; Man: manitol; Cit: citrato de sodio. V: prueba variable. ND: datos no disponibles; No: no cromógena; Escoto: escotocromógena.