

***Mycobacterium kansasii*: EPIDEMIOLOGÍA, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO**

Juan Carlos Rodríguez, Laura Cebrián y Gloria Royo

Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Elche (Alicante)

Actualmente se conocen más de 80 especies del género *Mycobacterium*, que es el único género de la familia *Mycobacteriaceae*. Este género tiene un elevado contenido en G+C (62-70%) similar a otros géneros productores de ácidos micólicos. Las especies de este género pueden clasificarse en función del tiempo de crecimiento, considerándose de crecimiento lento si tardan en crecer más de 7 días en medio sólido.

Son bacilos de 0,2-0,6 x 1-10 μm , presentan una pared con alto contenido lipídico y, como consecuencia de esto, no se tiñen mediante la tinción de Gram, aunque sean considerados como gram-positivos. Son aerobios, no forman esporas y son inmóviles. En general, son de crecimiento lento, con tiempo de generación comprendido entre 2 y 20 h, según la especie. Dependiendo también de la especie, pueden ser parásitos obligados, saprofitos o patógenos oportunistas, y muchas especies viven en el suelo o en el agua.

Mycobacterium kansasii fue caracterizado en 1953 y es fotocromógeno, o sea, que la colonia debe ser estimulada por la luz para producir pigmento, formado por un β -caroteno. Al secuenciar el rRNA 16S se ha observado que está muy relacionado filogenéticamente con *Mycobacterium gastri*. Se han descrito cinco genoespecies en función de la diversidad en el gen *hsp65* y esta subdivisión se ha confirmado mediante otras técnicas, por lo que se ha propuesto la existencia de subespecies.

IMPORTANCIA CLINICA

Para valorar la importancia clínica de los aislamientos de las micobacterias no tuberculosas debe tenerse en cuenta los criterios de la *American Thoracic Society* (ATS) que son:

- 1) Aislamiento repetido de la misma especie en el mismo lugar anatómico.
- 2) Observación en la muestra mediante tinción directa.
- 3) Evidencia clínica o radiológica de enfermedad.
- 4) Evidencia histopatológica de presencia de granulomas o micobacterias en el tejido.
- 5) Incremento en el número de micobacterias recuperadas en muestras secuenciales.
- 6) Aislamiento en localizaciones generalmente estériles.
- 7) Predilección de la especie en producir enfermedad en el lugar del aislamiento.
- 8) Existencia de factores predisponentes en el paciente.
- 9) Ausencia de otras causas de enfermedad.

En general, las infecciones por este microorganismo se asocian a defectos inmunológicos locales o sistémicos, como las neumopatías crónicas (neumoconosis, EPOC, fibrosis pulmonar, bronquiectasias, mucoviscidosis), tuberculosis pulmonar previa, cardiopatías congénitas cianóticas, hepatopatías crónicas, algunas hemopatías, tratamiento prolongado con esteroides, trasplante de órganos, linfocitopenia CD4 idiopática y, sobre todo, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Rara vez se asocia a enfermedad infantil, incluso en áreas de alta prevalencia, salvo algunos casos descritos de linfadenitis.

Un proceso respiratorio crónico, generalmente en el lóbulo superior y con lesiones cavitadas, con características semejantes a la tuberculosis, es la enfermedad más frecuentemente asociada a este microorganismo. *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium avium* son las dos micobacterias no tuberculosas más frecuentemente asociadas a infección respiratoria. Los procesos asociados a *M. kansasii* responden mejor a la quimioterapia que los producidos por *M. avium* y presentan diferencias clínicas y radiológicas con los de *Mycobacterium tuberculosis*, pero estas diferencias no son lo suficientemente claras e importantes como para lograr un diagnóstico diferencial útil en la práctica. Las infecciones extrapulmonares son menos frecuentes, pero se han descrito linfadenopatías en niños, infecciones cutáneas y de tejidos blandos, e infecciones del sistema muscular o esquelético. Raramente produce infecciones diseminadas, excepto en pacientes con deterioro de la inmunidad celular.

La infección en los enfermos por el VIH es mucho más frecuente y presenta características diferenciales, ya que, en estos pacientes, son más frecuentes las infecciones extrapulmonares y, además, suelen ocasionar infecciones diseminadas. Un estudio llevado a cabo en 46 pacientes muestra que esta infección se produce en estadios avanzados de la enfermedad (52,4 linfocitos CD4/mm³ como media), con predominio de la afectación respiratoria (91,3% de los pacientes). La infección diseminada es mucho más frecuente que en la población general (21,7% de los pacientes).

También se ha estudiado la influencia en la patología de los genotipos de esta especie y se ha observado que el genotipo más frecuente es el 1 (67% de los aislados) que se asocia a enfermedad en el 81% de los pacientes, seguido del genotipo 2 (se aísla en el 21% de los pacientes y en el 67% de ellos se asocia a enfermedad). El resto de los genotipos son menos frecuentes y también menos patógenos.

EPIDEMIOLOGIA

Es un microorganismo ubicuo, que se ha encontrado en el suelo, agua, productos animales y alimentos diversos. Se ha aislado del agua del grifo y se ha postulado que es el principal reservorio de este microorganismo asociado a la patología humana, aunque también se ha sugerido la posibilidad de que se transmita por la leche, incluso pasteurizada. El aislamiento frecuente en el tracto gastrointestinal de pacientes con infección por el VIH indica que esta vía podría ser la de entrada del microorganismo.

La incidencia de este patógeno es variable en función de la región geográfica y de las características de los pacientes. En los últimos 20 años, se ha incrementado la descripción de casos asociados a este microorganismo en todo el mundo y varias series españolas han comunicado que este microorganismo es el segundo más frecuentemente aislados en procesos respiratorios por micobacterias. En el sureste de España se ha comunicado una incidencia de 2,7 casos por 1.000.000 habitantes y año, que se incrementa a 571,4 casos en los pacientes infectados por VIH. En los suburbios de París, la incidencia anual es de 5 casos/1.000.000 de habitantes. En California, esta cifra se eleva a 24 casos por 1.000.000, llegando a 1.150 casos por 1.000.000 en pacientes VIH, asociándose también a un bajo nivel socioeconómico.

En algunos colectivos y regiones geográficas, las tasas se elevan mucho. Así, entre mineros de Sudáfrica con alto índice de silicosis, se han comunicado una incidencia anual de 0,10/100 casos/año, que se elevan a 0,32/100 casos/año en pacientes con infección por el VIH. Por otra parte, en una región de la República Checa, caracterizada por una alta contaminación atmosférica por metales pesados procedentes de la industria, se ha comunicado una incidencia anual de 343 casos/1.000.000 habitantes, detectándose la presencia del microorganismo en el agua de bebida de la región.

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

Obtención y transporte de las muestras

Las muestras deben recogerse en frascos estériles y en su obtención debe evitarse la contaminación con la flora saprofita de las mucosas y con el agua corriente, para evitar la aparición de falsos positivos en la tinción o en el cultivo. Al igual que para el resto de las micobacterias, las torundas no son recomendables para el aislamiento de este patógeno porque la escasez de la muestra y las características hidrofóbicas de estos microorganismos limitan su recuperación. No deben utilizarse conservantes de las muestras y, si el procesamiento se va a retrasar más de una hora, las muestras deben conservarse en nevera. La sangre y la médula ósea, que son las muestras con más rendimiento para el diagnóstico de la infección diseminada, deben conservarse a temperatura ambiente.

Métodos de diagnóstico rápido

Los métodos rápidos de diagnóstico se basan en la tinción, que presenta sensibilidad comparable a la que ha descrito en las infecciones por *M. tuberculosis*. Mediante esta técnica, se observan diferencias con *M. tuberculosis*, porque los bacilos son más largos y gruesos, además de presentar bandas transversales (aspecto atigrado). Se ha sugerido que las características que este microorganismo presenta en el cultivo en medio líquido puede servir para la realización de una identificación preliminar.

Se han desarrollado técnicas para disminuir el tiempo de detección del crecimiento en el cultivo, como la detección microscópica de colonias en agar Middlebrook 7H11, pero el hecho más importante de los últimos años ha sido la aparición de los medios líquidos semiautomatizados que disminuyen el tiempo de diagnóstico y aumentan la sensibilidad de las técnicas de cultivo. Sin embargo, estos nuevos sistemas presentan todavía algunos problemas, porque se ha comunicado que las combinaciones de antibióticos que contienen ácido nalidíxico y que se utilizan para prevenir las contaminaciones bacterianas en el procesamiento de algunos medios líquidos, pueden retardar el crecimiento de este microorganismo. También, se ha diseñado una técnica, basada en la PCR que es útil para detectar la presencia de este microorganismo en muestras clínicas.

Métodos de identificación

Aunque la identificación mediante métodos clásicos es lenta y puede dar lugar a errores, es útil en la identificación preliminar. Es una especie de crecimiento lento y fotocromógena (96% de las cepas), por lo que puede confundirse con *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium asiaticum* y *Mycobacterium szulgai* (escotocromógena a 37°C y fotocromógena a 24°C).

La demostración de las características de la producción de pigmento en el género *Mycobacterium* se realiza a partir de cultivos jóvenes; sembrando tres tubos con un inóculo diluido para obtener colonias aisladas. Después se tapan dos de ellos para que los microorganismos crezcan en oscuridad y el tercero se incuba sin tapar. Cuando han crecido los cultivos, uno de los que han permanecido tapados, se expone durante 3-5 h a una luz de 100 w colocada a 20-25 cm del tubo, que debe permanecer un poco abierto para favorecer la entrada de oxígeno, ya que el enzima productor del pigmento es dependiente de la presencia de este gas. Después de la exposición, el tubo debe incubarse e inspeccionarse durante 24, 48 y 72 h. Las colonias expuestas a la luz de esta especie adquirirán pigmento, mientras que las incubadas en la oscuridad seguirán no pigmentadas. Para diferenciar las especies fotocromógenas entre sí, pueden utilizarse otras características, que se detallan en la tabla 1.

Las nuevas técnicas de identificación se basan en técnicas cromatográficas, sondas de DNA y técnicas de amplificación y secuenciación.

- **Análisis cromatográfico.** Se basa en el estudio de los ácidos grasos de la pared bacteriana mediante cromatografía gas/líquido (GLC) y líquida de alta presión (HPLC). Los métodos basados en GLC analizan los ácidos grasos de cadena corta de la pared celular y cada especie es identificada por un perfil característico. También se pueden estudiar los ácidos micólicos de la micobacteria mediante HPLC. Ambas técnicas permiten identificar las micobacterias en pocas horas, pero son técnicas complejas que requieren aparatos costosos y, por lo tanto, están reservadas a los laboratorios de referencia.
- **Sondas de DNA.** Existen sondas comerciales que detectan secuencias específicas de rRNA de *M. kansasii* (Accuprobe®, GenProbe, bioMérieux) que pueden utilizarse en cultivos sólidos o líquidos, aunque los protocolos deben modificarse si se trabaja en medios que contengan sangre.
- **Técnicas de amplificación e hibridación con sondas específicas.** El sistema comercial Inno-LiPA® Mycobacteria (Innogenetics) identifica las principales especies del género, entre ellas *M. kansasii*. Se basa en la amplificación mediante PCR de la región del espaciador intergénico (*gene spacer*) 16S-23S del RNA ribosomal (ITS) y posterior hibridación con sondas de específicas de oligonucleótidos adheridas a una membrana, seguida de un revelado colorimétrico.
- **Técnicas de amplificación y corte con enzimas de restricción.** La metodología más empleada se llama PRA y se basa en el estudio de la diversidad en el gen *hsp65*. También se han utilizado otras regiones, como el gen *rpoB* o el *gene spacer* 16S-23S del RNA ribosomal (ITS).
- **Secuenciación del DNA.** Es una técnica específica que se está extendiendo tras la introducción de los secuenciadores automáticos, aunque todavía se encuentra fuera del alcance de la mayoría de los laboratorios. Generalmente, se secuencia la región hipervariable del 16S rRNA, aunque se ha comunicado que puede haber dificultad de separar *M. kansasii* de *M. gastri*. Por este motivo, se pueden complementar estos datos, con la secuencia de la región del espaciador intergénico 16S-23S rDNA *internal transcribed spacer* (ITS) y la región *recA*.

SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y TRATAMIENTO

En los últimos años se ha realizado un importante esfuerzo para normalizar los estudios de sensibilidad *in vitro* de las micobacterias no tuberculosas y el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) ha realizado varios documentos que tratan de estandarizar las técnicas de dilución, aunque también se ha comunicado que técnicas más sencillas, como el E test®, pueden ser válidas.

La rifampicina es el fármaco más activo frente a esta micobacteria, pero se ha comunicado la existencia de cepas resistentes, frecuentemente asociadas a tratamientos previos con este fármaco. Un fragmento de 69 pb del gen *rpoB*, que codifica la subunidad beta de la RNA polimerasa bacteriana es donde se concentran las mutaciones puntuales que confieren resistencia a este fármaco y las mutaciones descritas coinciden con las que aparecen en *M. tuberculosis*. Las cepas sensibles presentan CMI menores de 1 µg/ml y las resistentes presentan una CMI >256 µg/ml y, además, generalmente muestran resistencia cruzada con la rifabutina.

Las cepas de *M. kansasii* presentan resistencia intrínseca a la pirazinamida y son resistentes *in vitro* a la isoniacida. También se han descrito en esta especie β -lactamasas, que se inhiben con el ácido clavulánico. Se han realizado estudios *in vitro* que demuestran la actividad de las fluoroquinolonas, claritromicina y ácido fusídico. Sin embargo, se ha descrito la aparición de resistencia a la claritromicina por una mutación en el gen 23S rRNA tras tratamientos en monoterapia con este fármaco.

Existen distintas pautas de tratamiento de estas infecciones. Clásicamente, se ha empleado la combinación de rifampicina, isoniacida y etambutol. Se ha cuestionado la utilidad de administrar isoniacida y, por lo tanto, también se ha recomendado el tratamiento con rifampicina y etambutol.

Las recomendaciones de *American Thoracic Society* indican que el tratamiento debe realizarse con isoniacida (300 mg/día), rifampicina (600 mg/día) y etambutol (25 mg/kg/día durante los dos primeros meses, y después disminuir la dosis a 15 mg/kg/día) durante 12 meses, lo que origina un 100% de curación y un 1% de recaída; en caso de intolerancia a alguno de estos fármacos, recomienda la administración de claritromicina. Como pauta alternativa, recomienda el tratamiento durante nueve meses con etambutol (15 mg/kg/día) y rifampicina (300 mg/día), pero este tratamiento tiene más tasas de recaídas (10%). En los pacientes infectados por el VIH tratados con una pauta antirretroviral de alta eficacia (TARGA) recomienda la sustitución de la rifampicina por claritromicina o rifabutina.

Mensa *et al* (2002) incluyen la estreptomina como fármaco de primera línea, como sustituto del etambutol, y recomiendan que, si las circunstancias lo requieren, puede sustituirse alguno de los fármacos de primera elección por amikacina, sulfametoxazol, claritromicina, roxitromicina, levofloxacino o cicloserina. También se ha propuesto el empleo de ciprofloxacino, rifabutina, etionamida y cotrimoxazol como fármacos de segunda elección. En las cepas resistentes a la rifampicina, se recomienda el tratamiento con isoniacida (900 mg/día), piridoxina (50 mg/día), etambutol (25 mg/día) y sulfametoxazol (1 g/día) durante 12-15 meses.

BIBLIOGRAFÍA

ALCAIDE F, RICHTER I, BERNASCONI C *et al*. Heterogeneity and clonality among isolates of *Mycobacterium kansasii*: implications for epidemiological and pathogenicity studies. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1959-1964.

ATTORRI S, DUNBAR S, CLARRIDGE JE. Assessment of morphology for rapid presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium kansasii*. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1426-1429.

BERNARD L, VINCENT V, LORTHOLARY O *et al*. *Mycobacterium kansasii* septic arthritis: french retrospective study of 5 years and review. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1455-1460.

BLOCH KC, ZWERLING L, PLETCHER MJ *et al*. Incidence and clinical implications of isolation of *Mycobacterium kansasii*: results of a 5-year, population-based study. *Ann Intern Med* 1998; 129:698-704.

CAMPO RE, CAMPO CE. *Mycobacterium kansasii* disease in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1997; 24:1233-1238.

DEVALLOIS A, GOH K.S, RASTOGI N. Rapid identification of mycobacteria to species level by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the hsp65 gene and

- proposition of an algorithm to differentiate 34 mycobacterial species. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2969-2973.
- ECHEVARRIA MP, MARTÍN G, PÉREZ J, URKIJO JC. Enfermedad pulmonar por *Mycobacterium kansasii*. Presentación de 27 casos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1994; 12:280-284.
- MENSA J, GATELL JM, JIMÉNEZ DE ANTA MT, PRATS G, DOMINGUEZ-GIL A. Guía de terapia antimicrobiana, 12 ed. Barcelona: Masson, 2002.
- MIJS W, DE VREESE K, DEVOS A *et al*. Evaluation of a commercial line probe assay for identification of mycobacterium species from liquid and solid culture. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21:794-802.
- PICARDEAU M, PROD'HOM G, RASKINE L, LE PENNEC MP, VINCENT V. Genotypic characterization of five subspecies of *Mycobacterium kansasii*. *J Clin Microbiol* 1997; 35:25-32.
- REPÁRAZ J. Enfermedad por *Mycobacterium kansasii*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17:85-90.
- ROTH A, FISCHER M, HAMID ME, MICHALKE S, LUDWIG W, MAUCH H. Differentiation of phylogenetically related slowly growing mycobacteria based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences. *J Clin Microbiol* 1998; 36:139-147.
- WALLACE RJ JR, DUNBAR D, BROWN BA *et al*. Rifampin-resistant *Mycobacterium kansasii*. *Clin Infect Dis* 1994; 18:736-743.

Tabla 1. Pruebas de identificación de las micobacterias fotocromógenas de crecimiento lento^{a, b}.

	<i>M. kansasii</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. simiae</i>	<i>M. asiaticum</i>	<i>M. szulgai</i>
Temperatura óptima (°C)	37	30	37	37	37
Niacina	4	21	63	0	0
Reducción nitratos	99	0	28	5	100
Catalasa semicuantitativa ^c	93	0	93	95	98
Catalasa a 68°C	91	30	95	95	93
Hidrólisis Tween®	99	97	9	95	49
Reducción del telurito	31	39	82	20	53
Ureasa	49	83	69	10	72
Pirazinamidasas (día 4)	–	+	+	–	+

^aTomado de Picardieu *et al.*

^bPorcentaje de cepas positivas, salvo en temperatura óptima.

^cPorcentaje de cepas con >45 mm de burbujas.