

COMPLEJO *Mycobacterium avium*: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

María Santos y Miguel Gobernado
Servicio de Microbiología, Hospital La Fe, Valencia

El grupo de micobacterias conocido como complejo *Mycobacterium avium* (MAC) pertenece al género *Mycobacterium*, dentro de las no tuberculosas o ambientales. Este complejo incluye *M. avium* ssp. *avium*, *M. avium* ssp. *paratuberculosis*, *M. avium* ssp. *silvaticum* y *Mycobacterium intracellulare*. *M. avium* es el causante de la tuberculosis en las aves y *M. intracellulare* es el antiguo bacilo de Battey, aislado por primera vez en un paciente tuberculoso en Battey, Georgia (USA). Los residuos de oligosacáridos de los glucopeptidolípidos de su pared celular les confieren especificidad serológica; basándose en esta especificidad y en estudios de homología del DNA, el complejo ha sido clasificado en dos especies principales: *M. avium* (tipos 1-6, 9-11 y 21) y *M. intracellulare* (tipos 7, 12-20 y 25).

Se trata de bacilos grampositivos, ácido-alcohol resistentes y aerobios. Están encuadrados en el grupo III de la clasificación de Runyon, esto es, son de crecimiento lento y no fotocromógenos. Son ubicuos en el ambiente (han sido aislados en agua natural y de suministro, polvo, alimentos, animales, etc.) y capaces de causar enfermedades en los animales y en el hombre, pero no hay evidencia de la transmisión de persona a persona. En el hombre pueden producir enfermedad tanto en las personas inmunocompetentes como en los inmunodeprimidos, especialmente en los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana afectos de sida. En aquéllos, lo podemos encontrar en las linfadenopatías cervicales de los niños y en la enfermedad pulmonar del adulto, preferentemente varón, en forma de neumonitis indolente, a veces cavitante y, por lo general, complicando el curso de otras enfermedades pulmonares preexistentes (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, bronquiectasias, neoplasias, etc.). En los años pasados de la epidemia de sida, la frecuencia de la infección oportunista por el complejo MAC aumentó dramáticamente aunque, en la actualidad, el tratamiento con las combinaciones de antirretrovirales de alta potencia ha aliviado la situación. En estos pacientes produce una infección diseminada, asociada con una gran mortalidad, sobre todo en los que presentan recuentos de linfocitos CD4 <100 células/mm³. Afecta, principalmente, al tracto gastrointestinal y al pulmón y se manifiesta con fiebre, tos, dolor abdominal, diarrea y pérdida de peso. Una parte significativa de la carga corporal total del MAC se encuentra en el interior de los macrófagos y esta distribución tiene implicaciones en el tratamiento farmacológico y, por tanto, en los fármacos a probar en las pruebas de sensibilidad previas.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Muestras

- a) **Respiratorias:** esputos (espontáneo o inducido), muestras respiratorias profundas (broncoaspirado, cepillado, lavado broncolaveolar, aspirado transtraqueal), biopsia de pulmón o necropsia.
- b) **Gastrointestinales:** generalmente heces y, con menor frecuencia, biopsia de colon.
- c) **Sanguíneas:** hemocultivo.
- d) **Adenopatías:** obtenidas por punción-aspiración con aguja fina o por biopsia.
- e) **Otras:** médula ósea, biopsia hepática o esplénica, líquido pericárdico, etc.

Tinciones

Pueden llevarse a cabo sobre la muestra directa o concentrada, previa homogeneización de las respiratorias e intestinales según los métodos habituales.

Las tinciones clásicas de Ziehl-Neelsen, Kinyoun y fluorescencia son eficaces para observar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes. Aunque es difícil distinguir los integrantes del MAC de las otras micobacterias, podemos hacer un diagnóstico presuntivo por su tamaño muy corto y fino, y por su abundancia en las muestras extrapulmonares.

Cultivos

a) **En medios sólidos:** los componentes de este complejo crecen a 37 °C en los medios convencionales, como el de Lowenstein-Jensen, tardando 3 ó 4 semanas, con una apariencia de tapiz fino, no cromógeno, con pequeños matices de transparencia, opaco o rugoso que, en los modelos experimentales, se ha relacionado con la patogenicidad. La tinción de Ziehl-Neelsen de las colonias es bastante típica: son bacilos muy finos, de longitud irregular, más bien cortos, y aparecen sueltos, sin formar cordones ni agrupaciones, parecidos a la imagen de los *Haemophilus* en la tinción de Gram.

En medios líquidos: crece inexpresivamente, pues deja el medio transparente. En el medio del método radiométrico BACTEC, Middlebrook 7H12 marcado con ¹⁴C, se detecta por una lectura de salto brusco entre los 9 y los 15 días. La morfología observable en la tinción de Ziehl-Neelsen del líquido es similar a la imagen del sólido, y muy orientativa. Las características del aislamiento en los otros métodos automáticos actuales son parecidas.

Hemocultivo: es la técnica más sensible para el diagnóstico de la infección diseminada por MAC. La extracción y cantidad de sangre son similares a lo que hacemos con otros microorganismos. Un hemocultivo único tiene una sensibilidad del 90-95%; los siguientes proporcionan incrementos marginales en la detección y se hacen sólo en el caso

de que persista la sospecha diagnóstica.

Los medios utilizados son el BACTEC 12B y, preferentemente el 13A, así como el de lisis-centrifugación. El crecimiento puede obtenerse entre los 8 y 14 días, aunque las muestras con un bajo inóculo pueden requerir más tiempo. A partir del crecimiento, tanto en los cultivos líquidos como en los hemocultivos, se realiza una tinción para asegurarnos de que se trata de una micobacteria y un subcultivo en medios sólidos para llevar a cabo las pruebas de identificación y de sensibilidad. En el método de lisis-centrifugación, las células mononucleares que contienen las micobacterias fagocitadas son lisadas y el sobrenadante se siembra en un medio sólido para reconocer y contar las colonias.

El grado de bacteriemia puede ser cuantificado y está generalmente entre 10^1 y 10^3 ufc/ml de sangre. Los hemocultivos cuantitativos se han usado como marcador para evaluar la actividad microbiológica de los distintos regímenes terapéuticos, pero la relación precisa entre el número de colonias y la enfermedad sintomática no ha sido bien establecida, por lo que no se realizan habitualmente.

Todos los cultivos hay que mantenerlos en incubación durante 45 días antes de considerarlos definitivamente como negativos.

Identificación

Rápida: a partir de una emulsión del medio sólido, o directamente del medio líquido crecido (12B, 13A, lisis-centrifugación), mediante una sonda de DNA que hibrida específicamente con el RNA del microorganismo. Las sondas comerciales disponibles detectan, en horas, más del 95% de los aislados con características bioquímicas de MAC.

Convencional: a partir del aislamiento primario en medio sólido o del subcultivo del líquido. Las pruebas a realizar y sus respectivos resultados son: nitratos (-), catalasa (+), hidrólisis del Tween® (-), ureasa (-), crecimiento con NaCl al 5% (-) y crecimiento a 42 °C (+). Crece en los medios comunes como el agar sangre, pero no en medio Levine.

Serotipado

Aunque parece existir una relación entre algunos serotipos con la presencia de bacteriemia en los pacientes con sida (*M. avium* 1, 4, 8 y *M. intracellulare* 8 y 9), el serotipado no está indicado con fines clínicos. Su principal interés es epidemiológico y sólo está disponible en algunos laboratorios de referencia.

Técnicas moleculares

Permiten la identificación de los MAC de forma rápida y directa sobre las muestras clínicas, mediante la reacción en cadena de la polimerasa que amplifica secuencias específicas de estos microorganismos. Su uso no está aún generalizado.

Intradermorreacciones

No hay buenos reactivos comerciales para realizar pruebas cutáneas para el MAC y, además, está establecida la falta de especificidad de esta estrategia diagnóstica.

Cromatografía

Es una técnica compleja y que requiere un instrumental específico, en desuso desde el punto de vista del diagnóstico. Su utilización se reserva para investigaciones concretas en estudios metabólicos o similares.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

Entre las cepas de MAC hay una amplia variación del grado de sensibilidad o resistencia a la mayor parte de los fármacos. No disponemos de un estándar bueno para las técnicas cualitativas; en todo caso, es mejor realizarlas en medio líquido que en sólido, preferentemente con el de BACTEC. Se recomiendan las técnicas cuantitativas [determinación de la concentración inhibitoria mínima (CMI)], y el método indicado sería el de BACTEC con su medio líquido radiométrico.

- **Método cualitativo de proporciones múltiples.** No es un método recomendable. Fue validado originalmente para *Mycobacterium tuberculosis* y comercializado para fármacos no todos útiles frente al MAC. Además, resulta laborioso, hay que disponer de un inóculo elevado y tarda 21 días.
- **Método cualitativo de difusión en agar (medio de Löwenstein-Jensen o agar sangre).** Se hace a partir de una emulsión de las colonias obtenidas en un medio sólido, con discos de macrólidos, quinolonas, aminoglucósidos y rifampicina, en una placa sellada cultivada a 37 °C. No requiere mucho inóculo, es sencillo y puede ofrecer resultados orientativos a los 7-9 días. Sin embargo, no está estandarizado y no siempre existe correlación con los datos farmacocinéticos ni con las manifestaciones clínicas.
- **Método cualitativo en medio líquido BACTEC.** Se puede probar la isoniacida, rifampicina, estreptomina y etambutol, cuando el índice de crecimiento sea superior a 500-600, observando la disminución de éste en comparación con un testigo diluido al 1/100. Se incuba a 37 °C y proporciona información cualitativa, sensible o resistente, en 5 días. Es fácil y rápido pero está comercializado con concentraciones críticas pensadas sobre todo para *M. tuberculosis*, dando porcentajes de resistencia para el MAC algo superiores a los obtenidos con los métodos cuantitativos.
- **Método cuantitativo en medio líquido BACTEC:** es el método recomendado y está normalizado según los criterios de Heifets. A pesar de ser el más exacto, al ser también el más complejo, su uso no está disponible en la mayor parte de los laboratorios. Las condiciones técnicas pueden resumirse en lo siguiente:
 - a) Medio: se recomienda el BACTEC 12B, por no contener sustancias que absorban o inactiven el fármaco.

- b) Inóculo: a partir de un índice de crecimiento superior a 500.
- c) Fármacos: rifampicina, etambutol, estreptomycin, ampicina, claritromicina o azitromicina, ciprofloxacino y clofazimina.
- d) Deben probarse al menos tres concentraciones de cada fármaco, representativas de las CMI más frecuentes.
- e) Es importante el control del pH: 7,4 para claritromicina y azitromicina y 6,8 para el resto.
- f) Se necesitan dos testigos, uno sin diluir y otro diluido al 1/100.
- g) Incubación a 37 °C y lectura a los 8 días.

El cultivo de macrófagos es otro método experimental que permite una mayor seguridad en la actividad de los fármacos, aunque su uso es excepcional. Si se disponen de varias muestras de un mismo enfermo en las que encontramos crecimiento de micobacterias, la identificación completa y el estudio de sensibilidad sólo es necesario realizarlos en la primera muestra que crezca y sólo hay que repetirlo si la evolución del enfermo no es buena. Los resultados totales del aislamiento, identificación y sensibilidad del MAC pueden obtenerse entre 10 y 21 días, dependiendo del inóculo y de la técnica empleada.

TRATAMIENTO

Dada la variabilidad del inóculo capaz de producir enfermedad y de su grado de sensibilidad a los fármacos, es aconsejable realizar siempre el antibiograma. No hay pautas estándar fijas para el tratamiento de las infecciones por el MAC, pues depende de la localización o diseminación de la infección, o de si ésta ocurre en un huésped inmunocompetente o en un inmunodeprimido. Ejemplos extremos de esta situación serían las linfadenitis cervicales de los niños y la infección diseminada en los enfermos de sida. En cualquier caso, el tratamiento siempre es combinado, con tres a cinco fármacos activos según la gravedad del caso, pudiendo incluir al etambutol, una rifamicina (rifampicina o rifabutina), un macrólido (preferentemente la claritromicina), un aminoglucósido (amicacina) los dos primeros meses y, en los adultos, una fluoroquinolona.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. Recomendaciones del Consejo Asesor Clínico del Plan Nacional sobre el SIDA. Enfermedad por *Mycobacterium avium* complex (MAC) en pacientes infectados por HIV. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid 1999; 13:1-5.
- Anónimo. Proposed Guidelines. Radiometric broth macrodilution method for determination of minimal inhibitory concentrations (MCI) with *Mycobacterium avium* complex isolates. National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine, Denver, 1993.
- Havir DV. *Mycobacterium avium* complex: advances in therapy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13:915-924.
- Heifets LB. Dilemmas and realities in drug susceptibility testing of other slowly growing nontuberculous mycobacteria. En: Heifets LB (ed). Drug susceptibility in the chemotherapy of mycobacterial infections. CRC Press, Boca Raton, 1991, p. 124-146.
- Nightingale SD, Byrd LT, Southerm PM, Jockush JD, Cal SX, Wynne BA. Incidence of *Mycobacterium avium-intracellulare* complex bacteriemia in human immunodeficiency virus-positive patients. J Infect Dis 1992; 165:1082-1085.
- Schaefer WB, Davis CL, Cohn ML. Pathogenicity of transparent, opaque, and rough variants of *Mycobacterium avium* in chickens and mice. Amer Rev Respir Dis 1970; 102:499-506.
- Sito H, Tomioka H, Sato H, Dawson DJ. Identification of various serovar strains of *Mycobacterium avium* complex by using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. J Clin Microbiol 1990; 28:1694-1697.
- Peloquin CA. Infección por el complejo *Mycobacterium avium*. Consideraciones farmacocinéticas y farmacodinámicas que pueden mejorar los resultados clínicos. Clin Pharmacokinet 1997; 32:132-134.