

MESA: Micobacterias no tuberculosas

Moderadores: **Fernando Alcaide.** *Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat.*

M^a Teresa Tórtola. *Unitat Salut Internacional-TB Drassanes. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.*

Epidemiología (frecuencia, distribución, hábitat, transmisión) y aspectos microbiológicos y taxonómicos de las micobacterias no tuberculosas

Jaime Esteban

Depto. de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid (España).

Correspondencia:

Jaime Esteban

E-mail: jestebanmoreno@gmail.com

Epidemiología

El género *Mycobacterium* incluye más de 150 especies, de las que sólo unas pocas (complejo *M. tuberculosis*, *M. leprae*) se consideran como patógenos primarios, siendo el resto de especies consideradas como microorganismos ambientales que sólo en determinadas circunstancias dan lugar a patología humana. No obstante, de entre todas estas micobacterias, denominadas clásicamente como micobacterias atípicas o micobacterias no tuberculosas (MNT), sólo un grupo más reducido aparece como causante de infección en humanos con relativa frecuencia. Por otro lado, el hecho de estas infecciones no sean de declaración obligatoria hace que el conocimiento de la epidemiología de estos organismos se base en estudios realizados expresamente con dicho fin, con lo que dicho conocimiento es, por ello, incompleto.

Por lo general, se considera que la distribución de las MNT sigue parámetros regionales, aunque en la mayoría de las zonas geográficas el complejo *M. avium-intracellulare* (MAI) es la más frecuente¹, mientras que algunas especies (como *M. malmoense* o *M. ulcerans*) siguen una distribución geográfica característica. A este hecho hay que añadir la especial patología causada por algunas de ellas (*M. marinum*), que requiere de factores de riesgo específicos para su contagio. Es de destacar que las frecuencias relativas para cada microorganismo pueden cambiar a lo largo del tiempo por causas desconocidas, si bien se ha especulado con determinados cambios medioambientales como causa de este hecho².

Por otra parte, aunque tradicionalmente se ha considerado que la fuente de contagio de estos organismos es ambiental, existen datos que permiten establecer que, al menos en determinados entornos, pacientes y microorganismos, existe la posibilidad de contagio entre humanos (específicamente demostrado para *M. abscessus* en pacientes con fibrosis quística).

Aspectos microbiológicos

Clásicamente las MNT se han clasificado de acuerdo a las características de la pigmentación y de la velocidad de crecimiento. De acuerdo con la primera de estas, las MNT se clasifican como escotocromógenas (se pigmentan independientemente de la exposición a la luz), fotocromógenas (se pigmentan sólo tras exposición a la luz) y no pigmentadas. De acuerdo con la velocidad de crecimiento, se clasifican en crecedores lentos (crecen en más de 7 días) y crecedores rápidos (crecen en menos de 7 días). De acuerdo con estas definiciones, E. Runyon definió 4 grupos, que se han empleado hasta la actualidad en la práctica asistencial. No obstante, la dificultad para realizar una correcta identificación ha hecho que esta clasificación se vaya abandonando progresivamente.

Desde un punto de vista taxonómico, a lo largo de los últimos años, y como consecuencia del desarrollo de las nuevas técnicas moleculares, el número de especies se ha incrementado de forma considerable, e incluso se ha llegado a proponer la división del género en varios géneros nuevos. Sin embargo, distintos

autores especialistas reconocidos en micobacteriología clínica y en enfermedades causadas por micobacterias no tuberculosas han rechazado dicha división³, debido a que causaría más inconvenientes que ventajas, opinión a la que se adhiere este autor.

Un aspecto de especial interés, desarrollado sobre todo a lo largo de los últimos años, es el conocimiento de los factores de patogenicidad de estos microorganismos que pudiesen influir en el manejo de los pacientes. En este sentido, destacan los trabajos in vivo que han demostrado la patogenicidad aumentada de determinadas cepas en modelos experimentales. De acuerdo con estos trabajos, las micobacterias no tuberculosas con colonias rugosas (rasgo fenotípico debido a cambios en la composición lipídica de la pared) presentan mayor patogenicidad que las colonias lisas.

Otro aspecto de importancia es el conocimiento de la capacidad de formación de biopelículas por parte de estos organismos⁴. Estas estructuras están presentes en la naturaleza, hábitat natural de las MNT, pero también se encuentran en los pacientes, y se considera uno de los factores de patogenicidad más importantes en algunas de estas infecciones, especialmente aquellas en las que está implicado algún biomaterial. Más recientemente se ha estudiado la interacción entre algunas MNT (*M. abscessus*) y otras bacterias (*P. aeruginosa*), interacción que podría tener importantes implicaciones en determinados tipos de paciente

donde estas infecciones mixtas pudiesen existir, como es el caso de los enfermos de fibrosis quística.

Todos estos estudios sobre los factores de patogenicidad de las micobacterias no tuberculosas pueden tener implicaciones en el manejo de los pacientes, a través de la selección de los mejores tratamientos posibles en cada caso, o mediante el conocimiento de la existencia de cepas hiperpatogénicas que pudiesen transmitirse con más facilidad⁵, lo que permitiría establecer medidas preventivas para evitar unas infecciones que cada vez son más frecuentes en la práctica clínica habitual.

Bibliografía

1. Hoefsloot W, van Ingen J, Andrejak C, *et al.* The geographic diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from pulmonary samples: an NTM-NET collaborative study. *Eur Respir J.* 2013;42(6):1604-13
2. Falkinham JO 3rd. Current Epidemiologic Trends of the Nontuberculous Mycobacteria (NTM). *Curr Environ Health Rep.* 2016;3(2):161-7.
3. Tortoli E, Brown-Elliott BA, Chalmers JD, *et al.* Same meat, different gravy: ignore the new names of mycobacteria. *Eur Respir J.* 2019;54(1). pii: 1900795.
4. Esteban J, García-Coca M. *Mycobacterium* biofilms. *Front Microbiol.* 2018;8:2651.
5. Bryant JM, Grogono DM, Rodriguez-Rincon D, *et al.* Emergence and spread of a human-transmissible multidrug-resistant non tuberculous mycobacterium. *Science.* 2016;354(6313):751-7.

Infección por micobacterias no tuberculosas. Significación clínica y su diagnóstico (criterios ATS/IDSA)

Miguel Santín

Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat.

Correspondencia:

Miguel Santín

E-mail: msantin@bellvitgehospital.cat

Las micobacterias no tuberculosas (MNT) constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos ambientales que producen, sobre todo, infecciones pulmonares, pero también extrapulmonares, infecciones diseminadas en pacientes inmunodeprimidos e infecciones asociadas a la asistencia sanitaria. En su conjunto, las infecciones por MNT representan un reto clínico, ya que en contraste con *Mycobacterium tuberculosis*, su aislamiento en muestras clínicas no siempre implica enfermedad,

requieren tratamientos prolongados, y las tasas de curación son sub-óptimas.

Las formas clínicas de infección pulmonar son la forma nodular-bronquiectásica, característica de mujeres de mediana edad, afectas de bronquiectasias, las formas "tuberculosis-like", que remedian las formas clásicas de tuberculosis de reactivación, propias de pacientes con patología pulmonar crónica, y las formas alérgicas. Establecer el diagnóstico de enfermedad pulmonar por

MNT no siempre es fácil, ya que su aislamiento clínico puede presentar una mera colonización o contaminación de la muestra. Mientras el aislamiento de algunas especies, como *M. kansasii*, con frecuencia implica la presencia de verdadera infección, otras, como *M. goodii*, son esencialmente contaminantes. La *American Thoracic Society* (ATS) y la *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) establecieron unos criterios diagnósticos de infección pulmonar, que incluyen criterios clínicos, radiológicos y microbiológicos. Es importante reseñar, sin embargo, que el hecho de establecer el diagnóstico de infección pulmonar no implica necesariamente la instauración de tratamiento. Por una

parte se sabe que los cultivos de muestras respiratorias pueden negativizarse por sí solos, como muestran algunos estudios, pero además, no siempre el tratamiento supone una mejoría en la calidad de vida de los pacientes, incluso empeora debido a los efectos secundarios, y no mejora su pronóstico funcional ni vital. Por tanto más allá del significado clínico de los aislamientos, la decisión de tratamiento se ha de basar en otras consideraciones de aspecto individual de cada paciente.

En la presentación se revisarán las formas clínicas, los criterios de patogenicidad, teniendo en cuenta las diferentes especies, así como la indicación de tratamiento.

Diagnóstico microbiológico de las infecciones por micobacterias no tuberculosas. Papel del MALDI-TOF

Belén Rodríguez

*Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.
Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid.*

Correspondencia:

Belén Rodríguez

E-mail: belenrs@gmail.com

La espectrometría de masas MALDI-TOF (*Mass Spectrometry Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*) se ha establecido ya como una técnica de referencia para la identificación bacteriana. A pesar de que su uso se ha extendido a un gran número de microorganismos, la aplicación de MALDI-TOF a la identificación de aislados de *Mycobacterium* spp. no ha sido posible hasta el desarrollo de un método de procesamiento eficaz de los aislados que permitiera la ruptura de la pared celular y la extracción de las proteínas ribosomales. Estos dos objetivos se han conseguido mediante la aplicación de un paso de ruptura mecánica de las bacterias mediante agitación con bolas de cristal y/o sonicado y mejoras en el paso de extracción proteica (Alcaide *et al.*, 2018). Los distintos procedimientos de preparación de muestras están estandarizados en la actualidad, lo que permite comparar los resultados de los diversos estudios llevados a cabo en distintas partes del mundo.

Las dos principales plataformas de espectrometría de masas disponibles en los laboratorios de microbiología clínica (Bruker

Daltonics –Alemania– y bioMérieux –Francia–) cuentan con bases de datos de referencia muy completas, con un número muy elevado de especies de micobacterias de interés clínico. La evaluación de ambas plataformas ha demostrado la elevada fiabilidad de las identificaciones de aislados del género *Mycobacterium* tanto a partir de medio sólido (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2016) como de medio líquido (Kehrman *et al.*, 2016).

Cabe destacar que, a pesar de la gran complejidad taxonómica del género *Mycobacterium*, MALDI-TOF ha demostrado tener una elevada capacidad para discriminar especies estrechamente relacionadas. El bien sabido que el significado clínico de las micobacterias no tuberculosas viene determinado por la especie causante de la infección. Para ello, se recomienda identificar los aislados hasta el nivel de especie. MALDI-TOF ha demostrado capacidad de discriminación suficiente para llegar al nivel requerido, incluso en casos en los que se requiere secuenciar más de una diana genómica para lograr el mismo nivel de identificación mediante secuenciación de ácidos nucleicos. En el caso

de *Mycobacterium chimaera* y *M. intracellulare*, por ejemplo, se han encontrado picos de proteínas específicos de cada una de las especies (Pranada *et al.*, 2017).

Además, la gran flexibilidad de la tecnología MALDI-TOF ha permitido detectar aislados resistentes a los principales antibióticos usados contra *Mycobacterium tuberculosis* (rifampicina, isoniazina, linezolid y etambutol) y micobacterias no tuberculosas (claritromicina y rifabutina) -Ceysens *et al.*, 2017-.

Debido a los buenos resultados obtenidos tanto para la identificación de aislados como para la determinación de su susceptibilidad antibiótica, se están plantando nuevos retos para MALDI-TOF en los próximos años. El primero de ellos es conseguir diferenciar las especies que conforman el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, objetivo aún no alcanzado, a pesar de todos los avances realizados en la identificación de micobacterias no tuberculosas. Por otro lado, las mejoras en el procesamiento de las muestras están permitiendo realizar identificaciones de micobacterias desde medio líquido y se espera poder alcanzar este objetivo también desde muestra directa.

Por último, los avances realizados en el campo del análisis automatizado de datos podrían permitir en un futuro cercano

realizar tanto la identificación como la determinación de la susceptibilidad antibiótica de un aislado de manera automatizada mediante la detección de picos específicos mediante *Machine Learning*.

Bibliografía recomendada

1. Alcaide F, Amlerová J, Bou G, Ceysens PJ, Coll P, Corcoran D, *et al.* How to: identify non-tuberculous *Mycobacterium* species using MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24:599-603.
2. Ceysens PJ, Soetaert K, Timke M, Van den Bossche A, Sparbier K, De Cremer K, *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for combined species identification and drug sensitivity testing in mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 2017;55:624-34.
3. Kehrmann J, Schoerding AK, Murali R, Wessel S, Koehling HL, Mosel F, *et al.* Performance of Vitek MS in identifying nontuberculous mycobacteria from MGIT liquid medium and Lowenstein-Jensen solid medium. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;84:43-47.
4. Pranada AB, Witt E, Bienia M, Kostrzewa M, Timke M. Accurate differentiation of *Mycobacterium chimaera* from *Mycobacterium intracellulare* by MALDI-TOF MS analysis. *J Med Microbiol.* 2017;66:670e7.
5. Rodríguez-Sánchez B, Ruiz-Serrano MJ, Ruiz A, Timke M, Kostrzewa M, Bouza E. Evaluation of MALDI Biotyper Mycobacteria Library v3.0 for Identification of Nontuberculous Mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 2016;54:1144-7.