

## Original

# Sensibilidad a los antimicrobianos de micobacterias de crecimiento rápido

J. Ruiz-Aragón<sup>1</sup>, L. García-Agudo<sup>1</sup>, S. Flores<sup>2</sup>, M.J. Rodríguez<sup>1</sup>, P. Marín<sup>1</sup> y P. García-Martos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz;

<sup>2</sup>Servicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla

### RESUMEN

Las micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas se asocian con frecuencia a infecciones humanas diseminadas y localizadas. Hemos determinado la sensibilidad in vitro a seis antimicrobianos de uso habitual de 40 cepas (17 *Mycobacterium fortuitum*, 11 *M. chelonae* y 12 *M. abscessus*) aisladas de diversas fuentes clínicas: 29 secreciones respiratorias, cinco abscesos cutáneos, cuatro úlceras corneales y dos orinas, de pacientes atendidos en el Hospital Puerta del Mar, de Cádiz. El estudio de sensibilidad se realizó por el método de microdilución en caldo frente a amikacina, claritromicina, ciprofloxacino, levofloxacino, imipenem y ceftioxitina. Los resultados sugieren que la amikacina es el antimicrobiano más efectivo para el tratamiento de las infecciones producidas por micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas. La claritromicina y el imipenem presentan buena actividad frente a *M. fortuitum* y *M. abscessus*, pero no frente a *M. chelonae*. Las quinolonas solamente son efectivas frente a *M. fortuitum*. En las infecciones por micobacterias de crecimiento rápido es importante identificar el agente etiológico para determinar el tratamiento más apropiado.

**Palabras clave:** Micobacterias - *Mycobacterium fortuitum* - *Mycobacterium chelonae* - *Mycobacterium abscessus* - Amikacina

## Susceptibility to antimicrobial agents of rapidly growing mycobacteria

### SUMMARY

Rapidly growing mycobacteria are often associated with human diseases. We investigated the in vitro susceptibilities of 40 isolates to six antimicrobial agents: 17 *Mycobacterium fortuitum*, 11 *M. chelonae* and 12 *M. abscessus* isolated from several human sources: 29 respiratory secretions, 5 cutaneous abscesses, 4 corneal ulcers and 2 urine samples of patients treated at "Hospital Puerta del Mar" (Cádiz). Susceptibility studies were determined by the broth microdilution method for amikacin, clarithromycin, ciprofloxacin, levofloxacin, imipenem and ceftioxin. Results suggest that amikacin is the most effective antimicrobial agent for treating infections due to rapidly growing mycobacteria. Clarithromycin and imipenem show good activity against *M. fortuitum* and *M. abscessus*, but not against *M. chelonae*. Quinolones are only effective against *M. fortuitum*. It's important to identify, in rapidly growing mycobacteria infections, the etiologic agent to determine correct treatment.

**Key words:** Micobacteria - *Mycobacterium fortuitum* - *Mycobacterium chelonae* - *Mycobacterium abscessus* - Amikacin

## INTRODUCCIÓN

Las micobacterias no tuberculosas (ambientales o atípicas) están ampliamente distribuidas en el medio ambiente, sobre todo en el agua y la tierra. Entre ellas, las micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas del grupo *Mycobacterium fortuitum*, *M. chelonae* y *M. abscessus* se describen con cierta frecuencia en infecciones humanas diseminadas y localizadas, principalmente infecciones pulmonares y de piel y tejidos blandos, adquiridas por vía respiratoria y cutánea (1-6). En ocasiones, incluso se han detectado brotes de infección por contaminación de equipos médicos (7, 8).

La mayoría de las micobacterias de crecimiento rápido son resistentes a los antimicrobianos utilizados en el tratamiento de la tuberculosis, por lo que su tratamiento debe incluir aminoglucósidos, macrólidos y quinolonas, aunque va a depender de la sensibilidad a los antimicrobianos que muestre cada especie (9, 10). La sensibilidad de las micobacterias del grupo *fortuitum-chelonae* no es uniforme y, por tanto, para instaurar un tratamiento es conveniente la realización del antibiograma (11-13).

Se han descrito cuatro técnicas de antibiograma para las micobacterias de crecimiento rápido, pero ninguna de ellas está aprobada por el NCCLS. Las técnicas de microdilución en caldo o dilución en agar son las recomendadas; la técnica *E-test*<sup>®</sup> también es una buena alternativa, y la de difusión en agar no es aconsejable (12, 14, 15). Los estudios de sensibilidad de un número considerable de cepas son de gran utilidad para orientar un tratamiento empírico (3, 11).

Con el fin de conocer la resistencia de las micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas aisladas en Cádiz en los últimos años, hemos investigado la sensibilidad *in vitro* de 40 cepas a seis antimicrobianos de uso habitual en el tratamiento de las infecciones producidas por ellas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos 40 cepas de micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas correspondientes a 17 *Mycobacterium fortuitum*, 11 *M. chelonae* y 12 *M. abscessus*, procedentes de 28 hombres y 12 mujeres, de edades comprendidas entre 15 y 68 años, 31 ambulatorios y 9 hospitalizados, atendidos durante los años 2000-2006 en las consultas de los centros de salud y el Hospital Puerta del Mar de Cádiz, pertenecientes al Área Sanitaria de Cádiz. Las cepas se obtuvieron de diversas fuentes clínicas: 29 secreciones respiratorias, 5 abscesos cutáneos, 4 úlceras corneales y 2 orinas. Solamente en 13 cepas se constató su implicación pa-

tógena, de acuerdo con los datos clínicos del paciente, la fuente de aislamiento, las características microbiológicas (aislamiento en cultivo puro y abundante, presencia de la misma cepa en cultivos repetidos de la misma muestra) y la evolución del paciente tras tratamiento específico; en el resto de las cepas no se pudo establecer su patogenicidad. Las micobacteriosis diagnosticadas fueron cuatro infecciones pulmonares, cinco infecciones cutáneas y cuatro endoftalmitis.

Todas las cepas se identificaron mediante métodos convencionales, incluyendo reducción de nitrato, hidrólisis de Tween80, producción de arilsulfatasa y ureasa, crecimiento a 42 °C en CINa al 5% y en agar de MacConkey, y utilización de manitol, sorbitol e inositol, y fueron confirmadas utilizando el test *Inno-LiPA Mycobacteria*<sup>®</sup> (Innogenetics, Ghent, Belgium) de hibridación inversa y secuenciación de las regiones 16S y 23S del RNA ribosomal.

El estudio de sensibilidad se realizó por el método de microdilución en caldo de Mueller-Hinton, siguiendo las recomendaciones del NCCLS (15). La concentración final del inóculo microbiano en cada pocillo fue de  $1 \times 10^4$  a  $5 \times 10^4$  UFC/ml. Los antimicrobianos ensayados fueron amikacina, claritromicina, ciprofloxacino, levofloxacino, imipenem y cefoxitina. Las placas se incubaron a 30 °C hasta su lectura a partir de las 72 horas de incubación. Como control se incluyó en todas las determinaciones la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

## RESULTADOS

Los porcentajes de sensibilidad de las 40 cepas de *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. abscessus* a los seis antimicrobianos ensayados se reflejan en la Tabla 1. Como se observa, la sensibilidad de las tres especies a la amikacina fue del 100%. Frente a la claritromicina, solamente el 75% de las cepas de *M. fortuitum* y *M. abscessus* fueron sensibles, y en el caso de *M. chelonae* la sensibilidad apenas alcanzó al 50%.

El ciprofloxacino y el levofloxacino mostraron una actividad similar, aunque las CMI de ciprofloxacino fueron un poco más bajas para *M. abscessus* y *M. chelonae*. Las cepas de *M. fortuitum* presentaron una sensibilidad superior al 90%; sin embargo, para las cepas de *M. chelonae* y *M. abscessus* los porcentajes de sensibilidad fueron mucho menores, del 36,4% y el 25,0%, respectivamente.

Frente al imipenem la sensibilidad fue excelente en *M. fortuitum* (100% de cepas sensibles) y buena en *M. abscessus* (75% de cepas sensibles), pero baja en *M. chelonae* (54,5% de cepas sensibles).

**Tabla 1. Sensibilidad de 40 cepas de *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. abscessus* frente a seis antimicrobianos.**

Especies (n) y antimicrobianos	Rango CMI (mg/l)	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Sensibilidad (%)
<i>M. fortuitum</i> (17)				
Amikacina	1-16	1	8	100
Claritromicina	0,06-16	0,25	8	76,5
Ciprofloxacina	0,12-2	0,25	0,5	94,1
Levofloxacina	0,06-1	0,12	0,5	94,1
Imipenem	0,25-2	0,5	2	100
Cefoxitina	4-≥256	32	128	29,4
<i>M. chelonae</i> (11)				
Amikacina	1-16	2	16	100
Claritromicina	0,12-32	1	16	54,5
Ciprofloxacina	0,5-16	2	16	36,4
Levofloxacina	0,12-32	2	32	36,4
Imipenem	0,5-64	2	32	54,5
Cefoxitina	4-≥256	64	≥256	27,3
<i>M. abscessus</i> (12)				
Amikacina	1-16	1	8	100
Claritromicina	0,06-16	0,25	2	75,0
Ciprofloxacina	0,25-16	4	16	25,0
Levofloxacina	0,5-64	8	64	25,0
Imipenem	0,5-32	0,5	16	75,0
Cefoxitina	8-≥256	128	≥256	8,3

Frente a la cefoxitina los porcentajes de resistencia son elevados, especialmente en *M. abscessus* (8,3% de cepas sensibles).

## DISCUSIÓN

Las infecciones por micobacterias de crecimiento rápido son muy variables e inespecíficas, y parece que han aumentado en los últimos años (16-18). En general ocurren en pacientes previamente inmunocompetentes y sólo en contadas ocasiones en pacientes VIH positivos (3, 4). El tratamiento de estas infecciones es diferente al de otras micobacteriosis y al de la tuberculosis, principalmente por su resistencia a los fármacos antituberculosos (11, 14, 19). Esta circunstancia motiva la necesidad de realizar el antibiograma a cada aislamiento clínico.

Algunos autores han evaluado la sensibilidad a los antimicrobianos de diferentes especies de micobacterias de crecimiento rápido en diversas áreas geográficas, pero son escasos los estudios al respecto (16, 17, 20-22). Nuestros resultados coinciden con los de la mayoría de los trabajos publicados y sugieren que la amikacina es el antimicrobiano más efectivo para el tratamiento de las infecciones producidas por micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas. La claritromicina y el imipenem presentan

una buena actividad frente a *M. fortuitum* y *M. abscessus*, pero no frente a *M. chelonae*. Las quinolonas sólo son claramente efectivas frente a *M. fortuitum*.

De estos resultados se deduce que es importante identificar las especies de micobacterias de crecimiento rápido con valor clínico para determinar el tratamiento más apropiado en cada caso. En el grupo de las micobacterias de crecimiento rápido no cromógenas, *M. fortuitum* es más sensible a los antimicrobianos que las otras especies. Cuando no es posible la identificación detallada de la especie o no se pueden realizar pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, se recomienda incluir amikacina en el tratamiento, además de otros fármacos de actividad probada.

En publicaciones recientes se propone la utilización de nuevos antimicrobianos, como las nuevas quinolonas, linezolid, tigeciclina, telitromicina o isepamicina, en el tratamiento de las infecciones ocasionadas por micobacterias de crecimiento rápido (21, 23-26). La actividad *in vitro* de estos fármacos parece ser excelente, pero la experiencia clínica aún es limitada.

**Para correspondencia:** Jesús Ruiz Aragón, Calle Urquiza 5, 3º D, 41003 Sevilla. e-mail: jesusm.ruiz.ext@juntadeandalucia.es

## BIBLIOGRAFÍA

- De Groote, M.A., Uit, G. *Infections due to rapidly growing mycobacteria*. Clin Infect Dis 2006; 42: 1756-1763.
- Cramer, J.P., Sudeck, H., Burchard, G.D. *Pulmonary infection with rapidly growing mycobacteria in a singer with achalasia: A case report*. J Infect 2007; 54: 219-221.
- Uslan, D.Z., Kowalski, T.J., Wengenack, N.L., Virk, A., Wilson, J.W. *Skin and soft tissue infections due to rapidly growing mycobacteria: Comparison of clinical features, treatment, and susceptibility*. Arch Dermatol 2006; 142: 1287-1292.
- Debrunner, M., Salfinger, M., Brandli, O., Gravenitz, A. *Epidemiology and clinical significance of nontuberculous mycobacteria in patients negative for human immunodeficiency virus in Switzerland*. Clin Infect Dis 1992; 15: 330-345.
- Meyers, H., Brown-Elliot, B.A., Moore, D. y cols. *An outbreak of Mycobacterium chelonae infection following liposuction*. Clin Infect Dis 2002; 34: 1500-1507.
- Wallace, R.J., Glassroth, J., Griffith, D.E., Olivier, K.N., Cook, J.L., Gordin, F. *Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria*. American Thoracic Society statement. Am J Respir Crit Care 1997; 156: S1-S25.
- Esteban, J., Gadea, I., Zamora, N., Ortiz, A., Fernández-Roblas, R. *Evaluación de la capacidad invasiva de las micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido mediante el estudio de la morfología de las microcolonias en fibroblastos*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006; 2: 551-555.
- Del Solar, M., Salomón, M., Bravo, F. y cols. *Infección cutánea por micobacterias atípicas de crecimiento rápido (MACR) debido a mesoterapia cosmética. Reporte de casos y revisión de la literatura*. Folia Dermatol 2005; 16: 127-135.

9. Brown-Elliot, B.A., Wallace, R.J., Onyi, G.O., De Rosas, V., Wallace III, R.J. *Activities of four macrolides, including clarithromycin, against Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium chelonae, and Mycobacterium chelonae-like organisms.* Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 180-184.
10. Swenson, J.M., Wallace, R.J., Silcox, V.A., Thornsberry, C. *Antimicrobial susceptibility testing of five subgroups of Mycobacterium fortuitum and Mycobacterium chelonae.* Antimicrob Agents Chemother 1985; 28: 807-811.
11. Hernández García, A.M., Arias, A., Felipe, A., Álvarez, R., Sierra, A. *Sensibilidad in vitro de cepas de Mycobacterium chelonae frente a diversos antimicrobianos.* Microbiologia 1995; 11: 485-490.
12. Metchock, B.G., Nolte, F.S., Wallace, R.J. *Mycobacterium.* En: Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*, 7<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington 1999; 399-437.
13. Shih, J.Y., Hsueh, P.R., Lee, L.N. y cols. *Nontuberculous mycobacteria isolates: Clinical significance and disease spectrum.* J Formos Med Assoc 1997; 96: 621-626.
14. Hernández, A.M., Arias, A., Felipe, A., Álvarez, R., Sierra, A. *Determination of the susceptibility in vitro of 54 isolates of Mycobacterium fortuitum against three fluoroquinolones using two methods.* Chemother 1995; 7: 109-113.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twelfth informational supplement.* National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa., 2002; M100-S12.
16. Sungkanuparph, S., Sathapatayavongs, B., Prachartam, R. *Infections with rapidly growing mycobacteria: Report of 20 cases.* Int J Infect Dis 2003; 7: 198-205.
17. Hu, F.R., Chang, S.C., Luh, K.T., Hung, P.T. *The antimicrobial susceptibility of Mycobacterium chelonae isolated from corneal ulcer.* Curr Eye Res 1997; 16: 1056-1060.
18. Palmero, D.J., Ambroggi, M.G., Poggi, S.E. *Mastitis por Mycobacterium fortuitum en una paciente HIV negativa.* Medicina (Buenos Aires) 2004; 64: 529-532.
19. Udou, T. *Comparative evaluation of the in vitro antimycobacterial activities of six aminoglycoside antibiotics using an agar dilution method.* J Chemother 2006; 18: 610-616.
20. Hofling-Lima, A.L., De Freitas, D., Sampaio, J.L., Leao, S.C., Constanini, P. *In vitro activity of fluoroquinolones against Mycobacterium abscessus and Mycobacterium chelonae causing infectious keratitis after LASIK in Brazil.* Cornea 2005; 24: 730-734.
21. Yang, S.C., Hsueh, P.R., Lai, H.C. y cols. *High prevalence of antimicrobial resistance in rapidly growing mycobacteria in Taiwan.* Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1958-1962.
22. Vemulapalli, R.K., Cantey, J.R., Steed, L.L., Knapp, T.L., Thielman, N.M. *Emergence of resistance to clarithromycin during treatment of disseminated cutaneous Mycobacterium chelonae infection: Case report and literature review.* J Infect 2001; 43: 163-168.
23. Shen, G.H., Wu, B.D., Wu, K.M., Chen, J.H. *In vitro activities of isepamicin, other aminoglycosides, and capreomycin against clinical isolates of rapidly growing mycobacteria in Taiwan.* Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 1849-1851.
24. Wallace, R.J., Brown-Elliot, B.A., Ward, S.C., Crist, C.J., Mann, L.B., Wilson, R.W. *Activities of linezolid against rapidly growing mycobacteria.* Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 764-767.
25. Brown-Elliot, B.A., Wallace, R.J., Blinkhorn, R., Crist, C.J., Mann, L.B. *Comparison of in vitro activities of gatifloxacin and ciprofloxacin against four taxa of rapidly growing mycobacteria.* Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 3283-3285.
26. Wallace, R.J., Brown-Elliot, B.A., Crist, C.J., Mann, L.B., Wilson, R.W. *Comparison of the in vitro activity of the glycylcycline tigecycline (formerly GAR-936) with those of tetracycline, minocycline, and doxycycline against isolates of nontuberculous mycobacteria.* Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 3164-3167.