

Diferenciación de especies del complejo *Mycobacterium fortuitum* mediante espectrometría de masas



Differentiation of Mycobacterium fortuitum complex species using mass spectrometry

Sr. Editor:

Mycobacterium fortuitum es una micobacteria atípica de crecimiento rápido, no cromógena, que se aísla con frecuencia en infecciones de heridas por traumatismo y tras cirugía plástica, abscesos por iatrogenia, osteomielitis, celulitis, mastitis, peritonitis y bacteriemia relacionada con catéteres; las infecciones pulmonares y diseminadas son menos frecuentes¹. En realidad, *M. fortuitum* forma parte del complejo del mismo nombre donde se incluye a: *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. mucogenicum*, *M. senegalense*, *M. mageritense*, *M. septicum*, *M. alvei*, *M. houstonense*, *M. boenickei*, *M. conceptionense*, *M. porcinum*, *M. neworleansense*, *M. brisbanense* y *M. setense*. Desde el punto de vista taxonómico los miembros de este grupo se caracterizan por reducir los nitratos, aunque hay otras especies de crecimiento rápido no cromógenas que también pueden reducirlos, entre ellas *M. barrassiae*, *M. brumae*, *M. goodii* y *M. wolinskyi*. Es necesario, pues, disponer de técnicas que puedan identificar correctamente las nuevas especies, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la tecnología genética de amplificación. La espectrometría de masas constituye un nuevo método para la identificación de microorganismos, basado en el análisis de moléculas proteicas mediante la medición de su masa en relación a su carga, así como la de los péptidos generados a partir de ellas. Se utiliza ya ampliamente en el laboratorio clínico por su rapidez, precisión y bajo costo, sobre todo la plataforma MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*) Biotyper (Bruker Daltonic, Leipzig, Alemania). Diversos autores la han evaluado para identificación de micobacterias con buenos resultados, que mejoran cuando se trata de cultivos líquidos, a pesar de que el protocolo recomendado requiere una extracción previa relativamente compleja²⁻⁵. Nuestro objetivo ha sido evaluar la espectrometría de masas en la identificación y diferenciación del complejo *Mycobacterium fortuitum*, aplicando un protocolo simplificado.

Se ensayaron 33 cepas de *M. fortuitum* procedentes del archivo de nuestro laboratorio, identificadas anteriormente por sus características fenotípicas y bioquímicas. Para su procesamiento, las colonias crecidas en Löwenstein-Jensen se depositaron directamente, sin inactivación previa, sobre la placa metálica del espectrómetro, se añadió 1 µl de ácido fórmico al 100%, se dejó secar al aire, se añadió 1 µl de solución saturada de la solución matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico y se dejó secar al aire antes de proceder a la lectura en un espectrómetro de masas MALDI-TOF Microflex (Bruker Daltonics GmbH, Leipzig, Alemania). Tras comprobar los resultados obtenidos, se nos ocurrió aplicar el mismo protocolo a colonias subcultivadas desde el medio de Löwenstein-Jensen a placas de agar sangre, incubadas 3 días a 37 °C. Las discrepancias entre la identificación convencional y la de MALDI-TOF se resolvieron por secuenciación del gen 16S ARNr.

A partir del medio de Löwenstein-Jensen pudimos identificar 24 cepas (72,7%). Sin embargo, a partir del medio de agar sangre se identificaron las 33 cepas. Un total de 26 cepas pertenecían a la especie *M. fortuitum*, 3 *M. peregrinum*, 2 *M. mageritense*, una *M. porcinum* y una *M. setense*. Estos resultados concordaron al 100% con los de la identificación genotípica. Las 3 cepas de *M. peregrinum* se relacionaron, respectivamente, con infección pulmonar, infección de herida quirúrgica y bacteriemia asociada a catéter^{6,7}; *M. mageritense* se aisló del broncoaspirado de un paciente con neumonía y de una infección de tejidos blandos⁸; *M. porcinum* se relacionó con osteomielitis⁹, y *M. setense* se aisló de una paciente con bronquitis crónica¹⁰.

MALDI-TOF resulta de gran utilidad para la identificación y diferenciación rápida y fiable de las especies que forman el complejo *Mycobacterium fortuitum*. El subcultivo en agar sangre y la extracción con ácido fórmico permiten una mejor identificación de las especies.

Bibliografía

- García-Martos P, García-Agudo L. Infecciones por micobacterias de crecimiento rápido. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:192–200.
- Balada-Llasat JM, Kamboj K, Pancholi P. Identification of mycobacteria from solid and liquid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*. 2013;51:2875–9.
- Buchan BW, Riebe KM, Timke M, Kostrzewa M, Ledebner NA. Comparison of MALDI-TOF MS with HPLC and nucleic acid sequencing for the identification of *Mycobacterium* species in cultures using solid medium and broth. *Am J Clin Pathol*. 2014;141:25–34.
- Mather CA, Rivera SF, Butler-Wu SM. Comparison of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of *Mycobacterium* using simplified protein extraction protocols. *J Clin Microbiol*. 2014;52:130–8.
- Machen A, Kobayashi M, Connelly MR, Wang YF. Comparison of heat inactivation and cell disruption protocols for identification of *Mycobacterium* from solid culture media by use of Vitek matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2013;51:4226–9.
- Nagao M, Sonobe M, Bando T, Saito T, Shirano M, Matsushima A, et al. Surgical site infection due to *Mycobacterium peregrinum*: a case report and literature review. *Int J Infect Dis*. 2009;13:209–11.
- Kamijo F, Uhara H, Kubo H, Nakanaga K, Hoshino Y, Ishii N, et al. A case of mycobacterial skin disease caused by *Mycobacterium peregrinum*, and a review of cutaneous infection. *Case Rep Dermatol*. 2012;4:76–9.
- Muñoz-Sanz A, Rodríguez-Vidal FF, Vera-Tomé A, Jiménez MS. *Mycobacterium mageritense* meningitis in an immunocompetent patient with an intrathecal catheter. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31:59–60.
- Brown-Elliott BA, Wallace Jr RJ, Tichindean C, Sarria JC, McNulty S, Vasireddy R, et al. Five-year outbreak of community- and hospital-acquired *Mycobacterium porcinum* infections related to public water supplies. *J Clin Microbiol*. 2011;49:4231–8.
- Toro A, Adekambi T, Cheynet F, Fournier PE, Drancourt M. *Mycobacterium setense* infection in humans. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:1330–2.

Inmaculada Guerrero^a, Lidia García-Agudo^b,
Fátima Galán^a y Pedro García-Martos^{a,*}

^a Servicio de Microbiología, Hospital Puerta del Mar, Cádiz, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: pedromartos@hotmail.com (P. García-Martos).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.04.015>