

Estudio clinicoepidemiológico de la enfermedad por *Mycobacterium kansasii* en el área urbana de Bilbao

M.V. Leal Arranz^a, A. Gaafar^b, M.J. Unzaga Barañano^b, J.A. Crespo Notario^a, R. Cisterna Cáncer^b y F. García Cebrián^a

^aServicio de Neumología. Hospital de Basurto. Bilbao. Bizkaia. España.

^bServicio de Microbiología. Hospital de Basurto. Bilbao. Bizkaia. España.

OBJETIVO: Descripción epidemiológica de los individuos con aislamiento de *Mycobacterium kansasii* en muestras respiratorias y análisis de estos aislamientos mediante técnicas de biología molecular.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio retrospectivo, prospectivo y descriptivo de enero de 1994 a abril de 2002 en los hospitales de Basurto y Santa Marina, y de enero de 2000 a abril de 2002 en los hospitales de Cruces, Galdakao y San Eloy. Se aplicaron los criterios de la American Thoracic Society para el diagnóstico de enfermedad y se utilizaron otras definiciones para abarcar todos los casos. Se comparó la enfermedad por *M. kansasii* en pacientes sin infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con un grupo control con enfermedad por *Mycobacterium tuberculosis*. Se aplicó la reacción en cadena de la polimerasa con análisis de RFLP (*restriction fragment-length polymorphisms*) para diferenciar las especies de micobacterias y subtipificación en genotipos, y la AFLP (*amplified fragment-length polymorphisms*) para reconocer clones dentro de cada genotipo.

RESULTADOS: Se revisaron 334 historias clínicas de pacientes en los que existía un registro de aislamiento microbiológico de *M. kansasii*. Consideramos que 220 eran enfermos (criterio de la American Thoracic Society más enfermedad probable de definiciones creadas). La enfermedad era más frecuente en varones (n = 185; 84,1%) y en personas sin infección por el VIH (n = 184; 83,6%). La tasa de incidencia de enfermedad más alta en la comarca de Bizkaia fue en Margen Izquierda-Encartaciones, con un 8,05 por cada 100.000 habitantes, y en el Área de Bilbao, en los distritos de la periferia. Las enfermedades de base fueron: tuberculosis (20,5%), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (25,9%), neoplasia de pulmón (7,7%), silicosis (0,9%), hepatopatía crónica (11,4%) y gastrectomía (8,6%). Los síntomas constitucionales más frecuentes fueron: fiebre (39,1%), anorexia (23,2%) y disminución de peso (33,3%). Entre los síntomas respiratorios destacaron la tos (70,9%) y la expectoración (62,3%). Los patrones radiológicos más frecuentes fueron cavitación e infiltrados pulmonares. La pauta de tratamiento más habitual fue rifampicina, isoniacida y etambutol (43,4%), y el tiempo medio de duración fue de 12 meses en las personas sin infección por el VIH. En el estudio de sensibilidad realizado en 56 cepas, el 100% fue resistente a iso-

niacida y ninguna mostró resistencia a rifampicina. Se compararon 34 casos de enfermedad por *M. kansasii* con 68 casos de tuberculosis, todos sin infección por el VIH, y se obtuvieron los siguientes resultados: predominio de fumadores, de síntomas respiratorios y de cavitación en los pacientes con enfermedad por *M. kansasii*. El 98,5% de los aislamientos pertenecieron al genotipo I. Se obtuvieron un total de 8 clones; el clon denominado 1 fue más frecuente en personas con infección por el VIH y el denominado 3 en los que no la presentaban.

CONCLUSIONES: Se ha registrado un aumento del número de pacientes con enfermedad por *M. kansasii* en la provincia de Bizkaia en los últimos años. Dicha enfermedad es más frecuente en varones, personas sin infección por el VIH y zonas urbanas. Asimismo, se han encontrado más síntomas respiratorios como manifestaciones clínicas y mayor presencia de cavitación como hallazgo radiológico en la enfermedad por *M. kansasii* al compararla con la tuberculosis. El genotipo I es el aislado con más frecuencia, y los clones 1 y 3 afectan al 80% de los individuos enfermos.

Palabras clave: Epidemiología. Virus de la inmunodeficiencia humana. *M. kansasii*.

Clinical and Epidemiological Study of Disease Caused by *Mycobacterium kansasii* in the Metropolitan Area of Bilbao, Spain

OBJECTIVE: Epidemiological description of individuals from whom *Mycobacterium kansasii* isolates were obtained in respiratory samples, and analysis of the isolates using molecular biological techniques.

MATERIAL AND METHODS: A descriptive retrospective/prospective study was carried out from January 1994 to April 2002 in Basurto Hospital and Santa Marina Hospital and from January 2000 to April 2002 in Cruces Hospital, Galdakao Hospital, and San Eloy Hospital. Diagnosis of the disease was performed according to American Thoracic Society criteria; other definitions were also applied to allow inclusion of all cases. Disease caused by *M. kansasii* in patients who were not infected with the human immunodeficiency virus (HIV) was compared with disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* in a control group. Polymerase chain reaction was applied with analysis of restriction fragment length polymorphisms to differentiate between species of mycobacteria

Correspondencia: Dra. M.V. Leal Arranz.
Avda. Montevideo, s/n. 48013 Bilbao. Bizkaia. España.
Correo electrónico: mavija@euskalnet.net

Recibido: 22-4-2004; aceptado para su publicación: 19-9-2004.

and classify them into genotypes. Amplified fragment length polymorphisms were used to recognize clones within each genotype.

RESULTS: The patient charts of 334 patients in which an isolate of *M. kansasii* had been recorded were reviewed. We considered 220 patients to be suffering from disease caused by *M. kansasii* (American Thoracic Society criteria along with probable disease according to established definitions). The disease was more frequent in male patients (n=185; 84.1%) and in individuals who were not HIV positive (n=184; 83.6%). The highest incidence of disease in the Bizkaia region was found in Margen Izquierda-Encartaciones, where the rate was 8.05 per 100 000 inhabitants. In the Bilbao area, the highest rate was found in the districts lying on the outskirts. The underlying diseases were tuberculosis (20.5%), chronic obstructive pulmonary disease (25.9%), pulmonary neoplasia (7.7%), silicosis (0.9%), chronic liver disease (11.4%), and duodenal ulcer (8.6%). The most frequent constitutional symptoms were fever (39.1%), loss of appetite (23.2%), and weight loss (33.3%). Among the respiratory symptoms, the most outstanding were cough (70.9%) and expectoration (62.3%). The most frequent radiographic patterns were cavitation and pulmonary infiltration. The most common treatment regimen was rifampicin, isoniazid, and ethambutol (43.4%), and the average duration was 12 months in patients who were HIV negative. Analysis of antibiotic sensitivity, performed on 56 strains, revealed that 100% were resistant to isoniazid, while none displayed rifampicin resistance. Thirty-four cases of disease caused by *M. kansasii* were compared with 68 cases of tuberculosis, all of them without HIV infection. The comparison revealed a predominance of smokers, respiratory symptoms, and cavitation in patients with disease caused by *M. kansasii*. The majority of the isolates (98.5%) corresponded to genotype I. A total of 8 clones were obtained; the clones designated 1 and 3 were more common in HIV-positive and HIV-negative individuals respectively.

CONCLUSIONS: In recent years, there has been an increase in the number of patients with disease caused by *M. kansasii* in the province of Bizkaia. The disease is more frequent in male patients, individuals who are HIV negative, and in urban areas. In addition, more respiratory symptoms and a higher incidence of cavitation were found in patients with disease caused by *M. kansasii* than in those with tuberculosis. Genotype I is the most common isolate, and clones 1 and 3 affect 80% of patients suffering from the disease.

Key words: Epidemiology. Human immunodeficiency virus. *M. kansasii*.

Introducción

Las micobacterias ambientales representan en la actualidad entre el 10 y el 30% del total de las micobacterias aisladas en la mayoría de los laboratorios de microbiología. Se encuentran presentes en suelos, aguas, productos animales y diversos alimentos. A partir de estas fuentes pueden contaminar muestras clínicas, colonizar transitoriamente diversas superficies corporales y, en determinadas circunstancias, producir enfermedad. El 80% de los aislamientos son clínicamente significativos. Se desconocen tanto el reservorio natural, que podría ser el agua^{1,2}, como los mecanismos de infección en el humano (se piensa en la posibilidad de inhalación

por aerosoles^{3,4}). La enfermedad tiene un carácter urbano y relación con zonas mineras y con la industria pesada. No se ha demostrado el contagio persona-persona. Existen diferencias en las formas de presentación según la serología para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Así, en los no infectados por este virus produce una enfermedad cuyas características clínicas y radiológicas se parecen a las de la tuberculosis. En personas con infección por el VIH la enfermedad aparece en estadios avanzados de la inmunodeficiencia. Se ha demostrado una gran variabilidad geográfica, de modo que la tasa de enfermedad anual oscila entre 0,5 y 1 casos por 100.000 habitantes, y se cifra en hasta 16,6 casos en algunas zonas del este de Europa⁵. En nuestro país se ha detectado principalmente en La Rioja, Andalucía, Asturias, Cataluña y País Vasco.

Según el Sistema de Información Microbiológica de la Comunidad Autónoma del País Vasco (SIMCAPV)⁶, el número de aislamientos de *Mycobacterium kansasii* notificados por los hospitales de Bizkaia es muy superior al declarado por los de las provincias limítrofes, donde su aislamiento es casi inexistente. Esta situación, observada en los últimos años, nos ha llevado a realizar una revisión de nuestros casos con la intención de describir las características epidemiológicas de nuestros pacientes, determinar si cumplen los criterios de la American Thoracic Society (ATS), ver la evolución tras el diagnóstico y tratamiento, diferenciar entre la población con y sin infección por el VIH, compararla con la enfermedad tuberculosa y relacionar los datos clínicos con datos de tipificación epidemiológica.

Material y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, prospectivo y descriptivo de los aislamientos de *M. kansasii* de enero de 1994 a abril de 2002 en los hospitales de Basurto y de Santa Marina, y de enero de 2000 a abril de 2002 en los hospitales de Cruces, Galdakao y San Eloy. Se diseñó un protocolo clínico de recogida de datos. Se aplicaron los criterios de la ATS⁷ y otros adaptados creados por nosotros para agrupar todos los casos, así como los criterios de los Centers for Disease Control de 1993 para el diagnóstico de VIH o sida⁸. Las variables recogidas en el protocolo (filiación del paciente, antecedentes personales, manifestaciones clínicas, hallazgos radiológicos, tratamiento instaurado y evolución) se analizaron en la base de datos Epi-Info 2000. Se procedió al estudio estadístico de las variables reflejadas en el protocolo, tanto en la población VIH positiva como VIH negativa. Los rasgos clínicos de ambos grupos se compararon usando la prueba de la χ^2 (con la corrección de Yates cuando fue necesario) y el test exacto de Fisher, y el nivel de significación se estableció en un valor de $p < 0,05$.

Se compararon los pacientes sin infección por el VIH que presentaban enfermedad por *M. kansasii* (EMK) con un grupo control de pacientes con enfermedad por *Mycobacterium tuberculosis*, también sin infección por el VIH, diagnosticados en el mismo período y con una distribución similar de sexo y edad, en una proporción 1:2.

Creamos una serie de definiciones para abarcar todos los casos que no cumplían criterios de la ATS, de modo similar a lo realizado por otros autores⁹. Las definiciones son las siguientes:

– Enfermedad definitiva: cuando se cumplían todos los criterios de la ATS.

- Enfermedad probable: criterios de la ATS, excepto microbiológicos (pero con más de un aislamiento y/o una baciloscopia positiva).
- Enfermedad posible: cuadro clínico y radiológico compatible con EMK u otra enfermedad, con un único aislamiento microbiológico.
- Enfermedad probable definitiva: síntomas y microbiología con radiografía de tórax normal (no la definida por la ATS).
- Colonización pulmonar: un solo aislamiento microbiológico.
- Colonización gastrointestinal: aislamiento sólo en heces.

Mediante reacción en cadena de la polimerasa con RFLP (*restriction fragment-length polymorphisms*)^{10,11} se amplificó el gen *hsp65* usando los iniciadores Tb11 y Tb12. Se obtuvo un fragmento de 439 bp y se procedió a la digestión con las enzimas de restricción BstII y HaeIII del producto amplificado. Por AFLP (*amplified fragment-length polymorphisms*)^{12,13} se amplificaron selectivamente fragmentos del ADN obtenido mediante digestión con la enzima ApaI y con 3 iniciadores diferentes (A, B, y C). La combinación de los patrones generados con los 3 iniciadores define un clon.

Resultados

Se ha revisado un total de 334 historias clínicas de pacientes en los que existía un registro de aislamiento microbiológico de *M. kansasii*. Al aplicar los criterios de la ATS para definir la EMK observamos que los cumplían 199 (59,6%) pacientes. Al aplicar las definiciones creadas por nosotros, dentro del grupo de enfermedad probable encontramos 21 (6,3%) pacientes. Consideramos que éstos (personas con enfermedad probable que no cumplían la totalidad de los criterios microbiológicos) y los que cumplían los criterios de la ATS presentaban auténtica enfermedad, de modo que para el análisis estadístico hablaremos de 220 pacientes con EMK. En la tabla I se exponen los porcentajes que corresponden a cada una de las definiciones.

Características epidemiológicas de la enfermedad por *M. kansasii*

De los 220 pacientes con EMK, 185 (84,1%) eran varones y 35 (15,9%) mujeres (proporción varón:mujer de

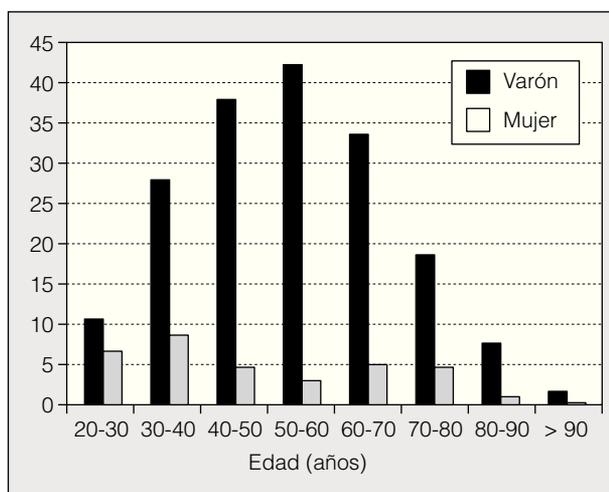


Fig. 1. Distribución de la enfermedad por *M. kansasii* por décadas de la vida según sexo.

5:1). La distribución según la serología del VIH fue 184 (83,6%) negativos y 36 (16,4%) positivos, proporción similar a la anterior (5:1). La edad media de los varones fue de 53,01 años (rango: 19-94 años), y la de las mujeres de 48,2 años (rango: 26-83). En los varones se observa un pico de incidencia entre los 50 y 60 años, mientras que en las mujeres la distribución es más homogénea en todas las edades, con un claro incremento entre los 30 y 40 años. En la figura 1 se expone la distribución de la enfermedad por décadas de la vida según el sexo. La distribución de la enfermedad por distritos y serología del VIH en los 126 pacientes residentes en Bilbao se detalla en la tabla II. Los distritos 2 (Urribarri), con una tasa de incidencia por año de 5,40 por 100.000 habitantes, 5 (Casco Viejo) con 6,94 por 100.000, y 7 (Rekalde), con 4,78 por 100.000, son los que muestran tasas más elevadas, frente al distrito 6 (Abando), con una tasa de 1,89 por 100.000, y el 1 (Deusto), con 2,67 por 100.000.

En la figura 2, donde se muestra la distribución de los pacientes en el área urbana de Bilbao, se aprecia cómo éstos se agrupan en la periferia u forman un cordón alrededor de la zona centro, que queda despejada.

La distribución de los casos de EMK, entre el año 2000 y abril de 2002, atendiendo a las comarcas sanitarias de Bizkaia fue la siguiente: 46 (38,3%) pertenecían al área de Bilbao, 48 (40,0%) a Margen Izquierda-Encartaciones, 13 (10,8%) a Uribe, 12 (10%) a Interior y 1 paciente (0,8%) estaba domiciliado fuera de la provincia de Bizkaia (tabla III). Las tasas de enfermedad

TABLA I
Clasificación de los pacientes con aislamiento de *M. kansasii*

	N.º de casos (%)
Colonización	58 (7,4)
Posible	19 (5,7)
Probable-definitiva	37 (11,1)
Probable	21 (6,3)
Definitiva	199 (59,6)

TABLA II
Distribución según distritos y serología del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en los 126 pacientes residentes en Bilbao con enfermedad por *M. kansasii*

VIH	Distrito 1: Deusto	Distrito 2: Urribarri	Distrito 3: Otxakoagao	Distrito 4: Begoña	Distrito 5: Casco Viejo	Distrito 6: Abando	Distrito 7: Rekalde	Distrito 8: Basurto	Total
Positivo	2	3	3	3	8	1	6	0	26
Negativo	11	10	11	12	22	8	14	10	98
Total	13	13	14	15	30	9	20	10	124
Tasa (por 100.000)	2,67	5,4	5,15	3,47	6,94	1,89	4,78	3,31	

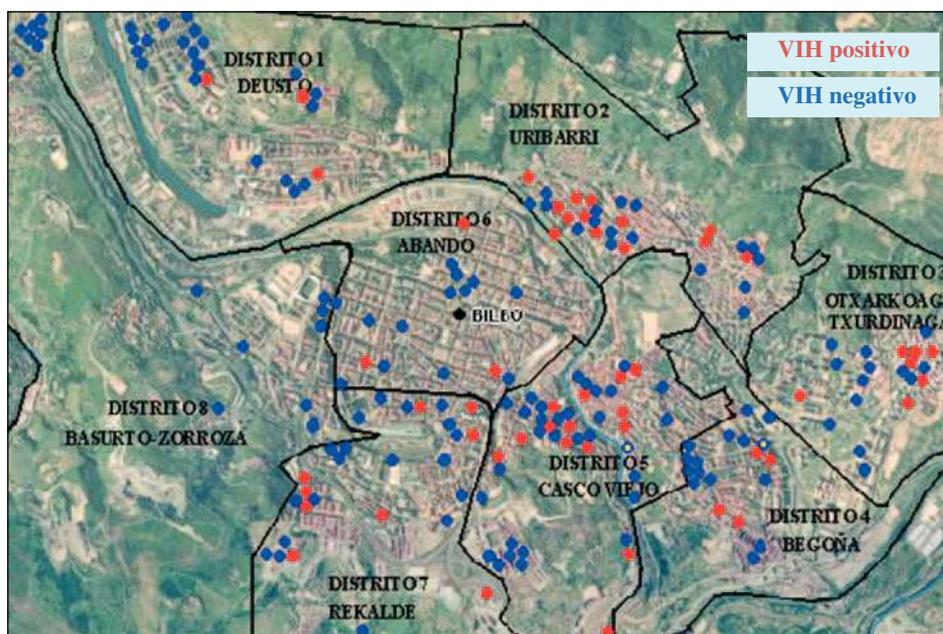


Fig. 2. Mapa de Bilbao.

por 100.000 habitantes son mayores en la comarca de Margen Izquierda-Encartaciones, con cifras de 8,05, seguidas por la comarca de Bilbao con 6,49. Las comarcas de Uribe e Interior mostraron tasas inferiores, de 3,24 y 2,05 por 10.000 habitantes, respectivamente.

Hubo un único caso de afectación de algún miembro de la unidad familiar por EMK, el de un varón al que se le diagnosticó la enfermedad meses después que a su madre.

Entre de las enfermedades de base, que se detallan en la tabla IV, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ellas y el estado de la serología del VIH, excepto en la mayor proporción de individuos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica en los pacientes con serología negativa y el mayor número de individuos con hepatopatía crónica en los pacientes con infección por el VIH. En cuanto a los hábitos tóxicos, 163 (74,1%) pacientes eran fumadores activos o habían fumado. La presentación clínica de los pacientes con EMK fue la siguiente: el síntoma constitucional más común fue la fiebre (86 casos; 39,1%) y 73 pacientes (33,3%) mostraron disminución de peso. Entre los síntomas respiratorios destacó la presentación de la enfermedad con tos en 156 casos (70,9%) y con expectoración en 137 (62,3%). Menos frecuentes fueron los síntomas de aumento de disnea (n = 53; 24,1%), dolor torácico (n = 45; 20,5%) y hemoptisis (n = 40; 18,2%). En la forma de presentación de la EMK en los pacientes con infección por el VIH frente a los seronegativos, fueron estadísticamente significativas la presencia de fiebre, disminución de peso y anorexia como síntomas constitucionales, y la presencia de tos y expectoración como síntomas respiratorios.

El patrón radiológico más frecuentemente encontrado fueron los infiltrados pulmonares y la cavitación. Ambos hallazgos se detectaron en 106 pacientes. La distribución de los lugares de afectación pulmonar fue variable, pero en ambos casos, tanto cuando hubo infiltrados como ca-

vitación, el lóbulo superior derecho fue el más implicado. Asimismo cabe destacar la frecuencia de afectación unilateral de la enfermedad respecto a la afectación bilateral. No hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las manifestaciones radiológicas de la EMK según la serología del VIH de los pacientes.

De los 220 pacientes que consideramos que presentaban EMK, 201 (34 con infección por el VIH y 167 sin ella) recibieron tratamiento antimicobacteriano. De los

TABLA III
Distribución de la enfermedad por *M. kansasii* según la comarca sanitaria

Comarca sanitaria	N.º de casos	Tasa (por 100.000)
Bilbao	46	6,49
Ezkerraldea-Enkarterri	48	8,05
Uribe	13	3,24
Interior	12	2,05

TABLA IV
Enfermedad de base de 220 pacientes con enfermedad por *M. kansasii*

Enfermedad de base	Serología VIH		Total (%)
	Positiva	Negativa	
Tuberculosis previa	9	36	45 (20,5)
EPOC	0	57	57 (25,9)
Silicosis	0	2	2 (0,9)
Neoplasia pulmonar	0	17	17 (7,7)
Otras neoplasias	0	15	15 (6,8)
Hepatopatía crónica	10	15	25 (11,4)
Gastrectomía	1	18	19 (8,6)
VIH positivo (sin otras enfermedades)	16	0	16 (7,3)
Ninguna o no consta	0	0	24 (10,9)
Total	36	160	220

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

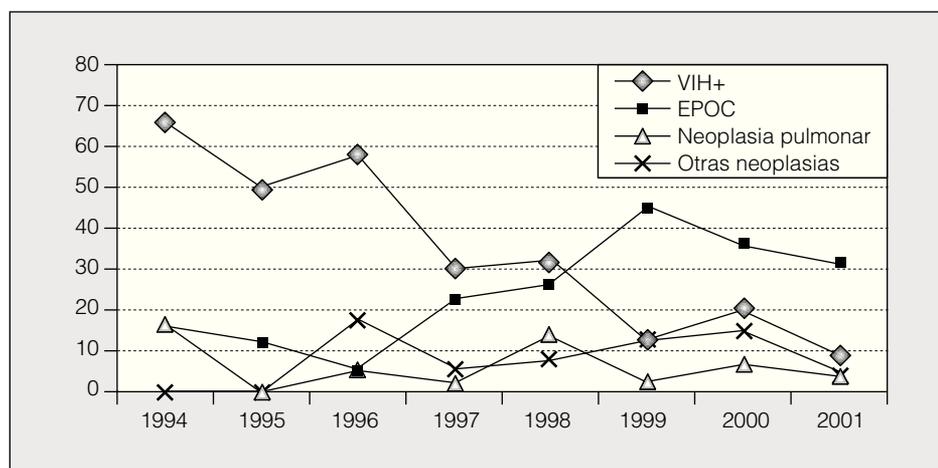


Fig. 3. Evolución de los pacientes con aislamientos de *M. kansasii*. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

19 en los que no se instauró tratamiento (2 con serología negativa para el VIH y 17 con serología positiva), 8 habían fallecido antes del diagnóstico de la enfermedad. La pauta inicial más frecuentemente establecida (tabla V) fue rifampicina, isoniacida y etambutol en 85 casos (43,4%). En 85 (38,6%) pacientes se cambió la pauta inicial establecida, en 73 de ellos (33,1%) por el tratamiento específico para *M. kansasii* debido al aislamiento microbiológico de esta especie. Las pautas que se prescribieron posteriormente aparecen en la tabla VI.

El tiempo medio de duración del tratamiento fue de 13 meses (rango: 2-18) en el grupo de pacientes con infección por el VIH positivo y de 12 meses (rango: 1-24) en el grupo con serología negativa. En el Hospital de Galdakao se instaura tratamiento de 9 meses de duración con sólo 2 fármacos (rifampicina y etambutol). En cuanto a la evolución clínica de 114 enfermos tratados en los que se pudo obtener el dato, fue buena en 101 (6 con serología positiva para el VIH y 95 con serología negativa) y 24 fallecieron (13 con infección por el VIH y 11 sin ella). Por lo que se refiere a la evolución radiológica de 121 pacientes tratados en los que se pudo obtener el dato, fue favorable en 62 (8 VIH positivos y 54 con serología negativa). La enfermedad se reactivó en 7 pacientes (1 con infección por el VIH y 6 sin ella). Se aisló *M. kansasii* en localización extrapulmonar en 7 casos (6 VIH positivos y 1 caso VIH negativo).

Las características de los pacientes en quienes se aisló *M. kansasii* en las muestras respiratorias en los hospitales de Basurto y Santa Marina cambiaron desde 1994 hasta 2002. Al principio eran pacientes con infección por el VIH, enfermedad que disminuyó en el transcurso de los años, al tiempo que el grupo de los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica comenzaba a cobrar importancia. El porcentaje de sujetos con neoplasias se mantuvo invariado (fig. 3).

Características epidemiológicas del grupo con enfermedad probable-definitiva

Como ya se ha explicado, este grupo presentaba una radiografía de tórax normal (no cumplía los criterios radiológicos de la ATS para definir EMK).

Formaban este grupo 37 pacientes (30 varones y 7 mujeres; 13 con serología del VIH positiva y 24 con serología negativa). El patrón radiológico de todos ellos se consideró normal según los criterios de la ATS. Recibieron tratamiento 32 de ellos. De los 5 en los que no se instauró tratamiento, todos ellos con serología del VIH negativa, 2 habían fallecido en el momento del diagnóstico de la enfermedad. De los pacientes tratados, 7 fallecieron (5 VIH positivo y 2 VIH negativo). Un paciente, sin infección por el VIH, mostró reactivación de la enfermedad. La enfermedad se diseminó (con aislamiento de *M. kansasii* en muestras extrapulmonares) en 5 pacientes, todos ellos con infección por el VIH.

Características epidemiológicas del grupo con enfermedad posible

Este grupo estaba constituido por 19 pacientes, 7 con infección por el VIH y 12 sin ella. De todos ellos recibieron tratamiento 9 personas (4 con serología positiva del VIH y 5 con serología negativa).

TABLA V
Tratamientos más frecuentemente instaurados (pauta inicial)

Pauta inicial	Frecuencia (%)
r + h + e	85 (43,4)
r + h + pz	75 (38,3)
r + h + pz + e	20 (10,2)
r + e	7 (3,6)

r: rifampicina; h: isoniacida; pz: pirazinamida; e: etambutol.

TABLA VI
Pautas de tratamiento establecidas posteriormente

Tratamiento	Frecuencia (%)
r + h + e	73 (83)
r + h	2 (2,3)
r + e	2 (2,3)
h + e + of	2 (2,3)

r: rifampicina; h: isoniacida; e: etambutol; of: ofloxacin.

Colonización

Considerado el aislamiento de *M. kansasii* como colonización en 52 pacientes (15 VIH positivo y 37 VIH negativo). Recibieron tratamiento 7 de ellos (5 con infección por el VIH y 2 sin ella). En este grupo ser portador del VIH fue un parámetro estadísticamente significativo a la hora de instaurar tratamiento.

Estudio de sensibilidades de *M. kansasii*

Se analizaron en un centro de referencia 56 cepas, el 100% de las cuales mostró resistencia a isoniacida (1 µg/ml), estreptomycin, pirazinamida y ácido paraaminosalicílico. Cuarenta y siete (97,9%) se mostraron resistentes a kanamicina, 3 (5,6%) a cicloserina, una (1,8%) a etionamida y 7 (12,5%) a etambutol. Ninguna mostró resistencia a rifampicina (1 µg/ml).

Diferencias entre la enfermedad por *M. kansasii* y por *M. tuberculosis*

Se comparó a 34 pacientes con EMK —22 varones y 12 mujeres, con una edad media de 54,3 años (rango: 19-71) en los primeros y de 52,5 años (rango: 26-75) en las segundas— con 68 pacientes con enfermedad por *M. tuberculosis* —44 varones, con una edad media de 54,8 años (rango: 20-71), y 24 mujeres, con una edad media de 53,16 años (rango: 18-85)—. Todos los sujetos comparados presentaban serología negativa del VIH. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los antecedentes personales, en los individuos estudiados, según la micobacteria aislada. En cuanto a los hábitos tóxicos, merece destacarse la mayor proporción de fumadores en el grupo de pacientes con EMK.

En el patrón radiológico en el momento del diagnóstico destacó la mayor proporción de cavitación en el grupo con EMK que en aquellos en quienes se aisló *M. tuberculosis*, así como la presencia de derrame pleural como manifestación más frecuente en estos últimos.

La EMK se presentó con más síntomas respiratorios que la enfermedad por *M. tuberculosis*. Tos, expectoración y hemoptisis fueron los síntomas respiratorios que se manifestaron en la EMK en proporción estadísticamente significativamente mayor que en la enfermedad por *M. tuberculosis*. En cuanto a la presencia de síntomas constitucionales, no hubo diferencias significativas en la forma de presentación de ambas enfermedades.

Estudio mediante técnicas de biología molecular de los aislamientos de *M. kansasii*

Se tipificaron 135 de los 334 pacientes con aislamiento de *M. kansasii*.

Técnica de reacción en cadena de la polimerasa-RFLP. Demostró que 133 aislamientos (98,5%) pertenecían al genotipo I y 2 (1,5%) al genotipo II. No se obtuvieron otros genotipos diferentes en las muestras clínicas. La distribución según la clasificación de la ATS modificada que se realizó en el estudio clínico es la siguiente: ninguno de los casos que presentaban enfermedad (defi-

nitiva más probable) presentaron otro genotipo diferente del I, y los casos pertenecientes al genotipo II se consideraron colonización o bien enfermedad que presentaba una radiografía normal (probable-definitiva).

Técnica de AFLP. Se obtuvo un total de 8 clones del genotipo I (1-8) del conjunto de los 135 aislamientos estudiados. Considerando los aislamientos sin tener en cuenta la clasificación de la ATS, destacaron los clones 1 y 3 como los 2 más frecuentemente aislados, sin apenas diferencias de porcentaje en las poblaciones con serología para el VIH positiva o negativa. Si atendemos a la clasificación de la ATS modificada, el clon 3 fue el predominante en la enfermedad definitiva. Dentro del grupo denominado enfermedad fueron 7 los clones implicados. Destacaron 2 clones, el 1 y 3, que afectaban al 80% de los individuos enfermos, con una mayor frecuencia del clon denominado 3 en pacientes sin infección por el VIH (51,2%) y del clon 1 en aquellos con serología positiva (58,8%). La distribución de clones por edad, sexo, distritos del área de Bilbao, municipios de Bizkaia y hospitales de Bizkaia es heterogénea. Los estudios microbiológicos realizados en los miembros de una misma unidad familiar —3 aislamientos de la madre y 1 del hijo— demostraron que todos eran del genotipo I. El primer aislamiento de la madre pertenecía al clon 1; los posteriores de la madre y el del hijo pertenecían al clon 3 por AFLP.

Discusión

Nuestro trabajo es uno de los pocos realizados en España sobre *M. kansasii* que no sólo relaciona las implicaciones clínicas de esta micobacteria, sino que la analiza mediante técnicas de biología molecular. Nos ha permitido conocer que el 98,5% de las cepas eran del genotipo I, aislamiento más prevalente de *M. kansasii* de origen humano en el mundo¹⁴⁻¹⁶. Contrasta con un trabajo realizado en Suiza¹⁷ donde se aíslan otros genotipos distintos del I, y el II se asocia a ser portador del VIH. Alcaide et al¹⁴ encuentran en sus cepas sólo el genotipo I. Hemos hallado 8 clones dentro del genotipo I. Dos aparecen en el 80% de los individuos enfermos, uno de ellos es más frecuente en pacientes sin infección por el VIH y el otro en portadores del VIH. La distribución del resto de los clones es heterogénea. Es importante la definición del genotipo de los aislamientos de *M. kansasii* para estudios epidemiológicos de patogenidad, modos de transmisión y modos de adquisición de la enfermedad.

Los aislamientos de *M. kansasii* se circunscriben a la provincia de Bizkaia, según datos del Boletín Microbiológico de la Comunidad Autónoma Vasca, y son inexistentes en las provincias limítrofes. Asimismo, las tasas encontradas difieren según las zonas. La Comarca Sanitaria de Margen Izquierda-Encartaciones presenta la mayor tasa de enfermedad y la Comarca Interior, la menor. Afecta a todos los distritos de Bilbao, con tasas mayores en los de la periferia, que son los más poblados y en los que la población presenta menor poder adquisitivo. A su vez, los casos se agrupan por barrios, quedando

la zona centro más despejada, sin que podamos discernir si esto se debe a que hay menos enfermedad o a que los enfermos son tratados en la medicina privada. Los resultados de un trabajo realizado en San Francisco donde se localizan los enfermos en el mapa de la ciudad pueden extrapolarse a los nuestros¹⁸. Las cifras de Margen Izquierda-Encartaciones son intermedias, con un índice de 8,05 casos por 100.000 habitantes, al compararla con los datos obtenidos en la antigua República Checa (17,6 por 100.000) y Estados Unidos (2,4/100.000).

Por otro lado, observamos un predominio de la enfermedad en el sexo masculino, de modo similar al resto de las publicaciones, excepto la de Lillo et al⁹, donde la proporción es más cercana. En nuestro grupo destaca el alto porcentaje de pacientes con serología del VIH negativa, mientras que la mayoría de las publicaciones hacen referencia a portadores del VIH^{19,20}. Hemos encontrado 2 tipos de pacientes: los que presentan una enfermedad de base y otros denominados "sanos". Estos últimos suponen un 13%, y de ellos un 74% fumaba, cifra similar a la de la serie de Evans et al²¹. Entre los "sanos" el porcentaje de fumadores era menor que en el estudio de Bloch et al¹⁸ (40,3%).

La infección por *M. kansasii* se adquiere del ambiente y no parece que se transmita de persona a persona, aunque se han comunicado algunos casos de infección intrafamiliar²². En nuestra serie hemos encontrado una madre y un hijo. La madre fue infectada por 2 cepas diferentes, ambas del genotipo I; la primera pertenecía al clon 1 y la segunda al clon 3. La infección en el hijo fue por el clon 3, uno de los más frecuentes. Esto nos lleva a preguntarnos si se trata de transmisión o de una fuente común. Al encontrar 2 clones en 2 momentos distanciados en el tiempo en el caso de la madre, se plantea una cuestión nueva en la EMK: ¿deberíamos hablar de reactivación, de reinfección, de coinfección por 2 clones y de selección de uno con el tratamiento? Ahondar en el conocimiento molecular de los microorganismos permite descubrir situaciones clínicas que de otro modo permanecerían ocultas.

La EMK se asemeja en cuanto a la clínica y la radiología a la tuberculosis pulmonar^{23,24}. Los hallazgos radiológicos más frecuentes en nuestro estudio fueron la cavitación, de predominio en el lóbulo superior derecho, y los infiltrados pulmonares, independientemente de la serología del VIH. Se encontró un grupo importante de pacientes con radiografía de tórax normal (37: 13 portadores del VIH y 24 con serología negativa).

Habría que definir con exactitud la incidencia de infección por *M. kansasii* en diversas poblaciones y evaluar el significado clínico de un solo aislamiento. Se ha discutido la utilidad de la definición de caso de la ATS en países con alta incidencia de enfermedad tuberculosa. Los criterios para definir un caso, según la ATS, son estrictos^{25,26}. De acuerdo con estos criterios, en nuestro estudio habría un 59,6% de enfermos; si sumamos los pacientes clasificados como enfermedad probable, el porcentaje ascendería a un 65,9%, y si añadimos a aquellos con radiografía de tórax normal, tendríamos un 70,8%. Las pruebas de sensibilidad *in vitro* muestran una actividad menor que frente a *M. tuberculosis*. Nues-

tras cepas se muestran uniformemente sensibles a rifampicina, etambutol, amicacina, ofloxacino y azitromicina. *In vivo* los pacientes responden bien al tratamiento establecido. Observamos reactivación en un 3,18% de los pacientes, que en su mayoría no presentaban infección por el VIH (6:1). Las tasas de recaída publicadas en la bibliografía son muy variables, desde los 13 casos comunicados por Martínez et al²⁷ con un índice cero, hasta la mayor cifra, descrita por Garrós et al²⁸, del 15,3%. Los porcentajes en general varían entre el 2,5 y el 10%.

En nuestro estudio observamos que la enfermedad se diseminó en los portadores del VIH.

Existe controversia sobre la utilización de isoniacida, debido a la alta resistencia que presenta *in vitro*²⁹⁻³¹. En nuestra serie sólo el Hospital de Galdakao utiliza 2 fármacos para el tratamiento. De los resultados de un reciente estudio prospectivo de la British Thoracic Society en pacientes con serología negativa frente al VIH tratados durante 9 meses con rifampicina y etambutol se deduce que la isoniacida no es necesaria³². En nuestra serie todos los aislamientos positivos en pacientes con infección por el VIH recibieron tratamiento.

En los últimos años se ha apreciado un creciente número de casos de EMK. Se diagnostican más porque se tiene mejor conocimiento de la enfermedad y por la mejora de las técnicas de laboratorio. Queda pendiente el conocimiento de su reservorio y la razón por la cual hubo un incremento y posterior declive de esta micobacteria en ciertas áreas de la provincia de Bizkaia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Collins CH, Grange JM, Yates MD. Mycobacteria in water. J Applied Bacteriology. 1984;57:193-211.
2. Chobot S, Maliys J, Sebyakovya H, Pelikyan M, Zatloukal O, Paliycka P, et al. Endemic incidence of infections caused by *Mycobacterium kansasii* in the Karviná District in 1968-1995. Centr Eur J Publ Health. 1997;4:164-73.
3. Slosárek M, Kubín M, Pokorný J. Water as a possible factor of transmission in mycobacterial infections. Centr Eur J Publ Health. 1994;2:103-5.
4. Steadham JE. High-catalase strains of *Mycobacterium kansasii* isolated from water in Texas. J Clin Microbiol. 1980;11:496-8.
5. Reparaz J. Enfermedad por *Mycobacterium kansasii*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1999;17:85-90.
6. Sistema de Información Microbiológica de la CAPV. Disponible en: www.osasun.ejgv.euskadi.net
7. American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. Am J Respir Crit Care Med. 1997;156:S1-S25.
8. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1992;41:1-19.
9. Lillo M, Orengo S, Cernoch P, Harris RL. Pulmonary and disseminated infection due to *Mycobacterium kansasii*: a decade of experience. Rev Infect Dis. 1990;12:760-7.
10. Devallois A, Goh KS, 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;35:2969-73.
11. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Böttger EC, Bodmer T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. J Clin Microbiol. 1993;31:175-8.

12. Savelkoul PH, Aarts HJ, de Haas J, Dijkshoorn L, Duim B, Otsen M, et al. Amplified-fragment length polymorphism analysis: the state of art. *J Clin Microbiol.* 1999; 37:3083-91.
13. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, Van De Lee H, Hormes M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research.* 1995;23:4407-14.
14. Alcaide F, Benítez MA, Martín R. Epidemiology of *Mycobacterium kansasii*. *Ann Intern Med.* 1999;131:310.
15. Alcaide F, Richter I, Bernasconi C, Springer B, Hagenau C, Schulze-Róbbbecke R, et al. Heterogeneity and clonality among isolates of *Mycobacterium kansasii*: implications for epidemiological and pathogenicity studies. *J Clin Microbiol.* 1997:1959-64.
16. Gaafar AAH. *Mycobacterium kansasii*. Estudio epidemiológico mediante técnicas de biología molecular [Tesina].
17. Taillard C, Greub G, Weber R, Pfyffer GE, Bodmer T, Zimmerli S, et al. Clinical implications of *Mycobacterium kansasii* species heterogeneity: Swiss National Survey. *J Clin Microbiol.* 2003; 41:1240-4.
18. Bloch KC, Vugia DJ, Reingold AL. Epidemiology of *Mycobacterium kansasii*. *Ann Intern Med.* 1999;131:311.
19. Bamberger DM, Driks MR, Gupta MR, O'Connnor MC, Jost PM, Eihart RE. *Mycobacterium kansasii* among patients infected with human immunodeficiency virus in Kansas City. *Clin Infect Dis.* 1994;18:395-400.
20. Carpenter JL, Parks JM. *Mycobacterium kansasii* infections in patients positive for human immunodeficiency virus. *Rev Infect Dis.* 1991;13:789-96.
21. Evans AJ, Crisp AJ, Hubbard RB, Colville A, Evans SA, Johnston IDA. Pulmonary *Mycobacterium kansasii* infection: comparison of radiological appearances with pulmonary tuberculosis. *Thorax.* 1996;51:1243-7.
22. Penny ME, Cole RB. Two cases of *Mycobacterium kansasii* infection occurring in the same household. *Tubercle.* 1982;63:129-31.
23. Bloch KC, Zwerling L, Pletcher MJ, Hahn JA, Gerberding JL, Ostroff SM. Incidence and clinical implications of isolation of *Mycobacterium kansasii*: results of a 5-year, population-based study. *Ann Intern Med.* 1998;129:698-704.
24. Evans SA, Colville A, Evans AJ, Crisp AJ, Johnston IDA. Pulmonary *Mycobacterium kansasii* infection: comparison of the clinical features, treatment and outcome with pulmonary tuberculosis. *Thorax.* 1996;51:1248-52.
25. Collins CH, Yates MD. Infection and colonisation by *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium xenopi*: aerosols as a possible source? Public Health Laboratory Service, Regional Centre for Tuberculosis Bacteriology, Dulwich Hospital, London. *J Infect.* 1983;8:178-9.
26. Corbett EL, Blumberg L, Churchyard GJ, Moloi N, Mallory K, Clayton T, et al. Nontuberculous mycobacteria. Defining disease in a prospective cohort of South African miners. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:15-21.
27. Martínez Moragón E, Menéndez R, Santos M, Lorente R, Marco V. Enfermedad pulmonar por micobacterias ambientales oportunistas en pacientes sin infección por virus de la inmunodeficiencia humana. Factores de riesgo, clínica, diagnóstico y evolución. *Arch Bronconeumol.* 1996;32:170-5.
28. Garrós J, García Cebrián F, Martín G, Lorza JJ, Ruiz de Gordejuela E. Enfermedad pulmonar por *Mycobacterium kansasii*. Análisis de 39 casos. *Arch Bronconeumol.* 2001;37:27-34.
29. Canetti G. Mesures de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par le methode des proportions. *Rev Tuberc.* 1963;27:217-72.
30. Sauret J, Hernández-Flix S, Castro E, Ausina V, Coll P. Treatment of pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii*: results of 18 vs 12 months chemotherapy. *Tuber Lung Dis.* 1995;76:583.
31. Sauret J, Hernández S. Tratamiento actual de las micobacteriosis. *Med Clin (Barc).* 1990;95:64-6.
32. *Mycobacterium kansasii* pulmonary infection: a prospective study of the results of nine months of treatment with rifampicin and ethambutol. Research Committee, British Thoracic Society. *Thorax.* 1994;49:442-5.