

## **Infección cutánea por Micobacterias y Nocardia asociada a mesoterapia**

González, Francisco; Hernández, Cohinta; Henao, Libia; Correa, María F; Rossi S., Marcello S., Chalbaud, Adriana; Muñoz, Flor; Gómez, Maria; González, Susana.

### **Resumen**

Posterior al tratamiento por mesoterapia como medio para combatir la obesidad, 11 pacientes femeninas presentaron lesiones en el área de inoculación (nódulos eritemato-violáceos en número variable, dolorosos, con contenido sero-purulento). Ocho de ellas habían recibido tratamiento con quinolonas y macrolidos. Se estudiaron 9 muestras de secreción purulenta de abscesos cerrados y 1 de biopsia, mediante pruebas microbiológicas y de amplificación por PCR. Como resultado, en dos de las muestras, procedentes de pacientes que no habían recibido tratamiento, se aislaron e identificaron *Nocardia brasiliensis* y *Mycobacterium chelonae*. En una de dichas muestras, se obtuvo además, amplificación positiva para las secuencias IS6110 y mtp40 específicas del complejo tuberculoso y de *M. tuberculosis*, respectivamente. Las pacientes recibieron tratamiento antituberculoso y trimetoprin sulfametoxazol con buena respuesta terapéutica.

**Palabras Clave:** Mesoterapia, Tuberculosis, Micobacterias, Nocardias.

### **Abstract**

Following the treatment of obesity by mesotherapy, 11 patients show lesions in the inoculation area (erythematous purple nodules in variable number, painful and with seropurulent content). Eight of them had received treatment with quinolones and macrolides. Nine samples of purulent secretion of closed abscesses and one of a biopsy, were studied by microbiological tests and PCR amplification. As a result we were able to identify *Nocardia brasiliensis* and *Mycobacterium chelonae* in two samples coming from patients that had not received treatment. In one of the samples, positive amplification of the sequences IS6110 and mtp40 was also obtained. These sequences are specific for the tuberculosis complex and *M. tuberculosis* respectively. The patients received anti-tuberculosis treatment and trimetoprin sulfametoxazol with good therapeutic answer.

**Key Words:** Mesotherapy, Tuberculosis, Mycobacteria, Nocardia.

### **Palabras Clave:**

**Tuberculosis cutánea, Nocardiosis, Infección por mesoterapia, PCR, Micobacterias.**

### **Introducción:**

En los últimos años, se ha incrementado en forma considerable el uso de técnicas estéticas con el fin de remodelar el cuerpo femenino y masculino. Entre las más utilizadas en cirugía estética está la mesoterapia, que involucra la inyección de sustancias que modulan el metabolismo de los tejidos derivados del mesodermo. Los compuestos inyectados varían dependiendo de la fisiopatología del proceso a ser tratado, los cuales incluyen celulitis, obesidad, vitíligo, entre otros. La mesoterapia es un proceso médico alternativo, el cual debería ser llevado a cabo por personal médico especializado (5, 9, 17, 23, 27).

Por otro lado, se ha observado que las lesiones de piel originadas por micobacterias del medio ambiente, como resultado de traumas en la piel, son cada vez más frecuentes. Entre las causas de estos traumas se incluyen procedimientos quirúrgicos (cirugía de tórax, implante de prótesis valvulares, etc.), agentes físicos, escoriaciones, heridas punzantes y/o penetrantes, inyecciones, etc. (8,19).

Desde 1936 se describen en la literatura abscesos ocasionados por micobacterias de crecimiento rápido (MCR) después de la administración de vacunas y drogas, así como de productos no reconocidos o aprobados por la Food Drug Administration (FDA). En la mayoría de los casos se han involucrado como agentes causales a *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium abscessus* y *Mycobacterium chelonae*, las cuales están presentes en el medio ambiente y han sido aisladas de aguas potables y residuales, así como del suelo y el polvo. En 1998, estas especies fueron señaladas en infecciones adquiridas por pacientes sometidos a cirugía estética (liposucción, lipoescultura y mamoplastia), implicándose como fuente de infección a la solución de violeta de genciana utilizada en el marcaje (3, 16, 15, 21, 26). También se ha reportado un caso de infección por *M. bovis* BCG después de mesoterapia (18).

Si bien se han asociado las técnicas de cirugía estética, antes mencionadas, con el desarrollo de infecciones por micobacterias, no hay reportes en la literatura de infección mixtas de micobacterias asociadas a nocardias (3). En las infecciones cutáneas causadas por nocardias los pacientes generalmente tienen historia de trauma local y contacto con suelo. Las lesiones incluyen celulitis, pústulas, pioderma y síndrome linfocutáneo que se confunde con esporotricosis (5). Las especies de nocardias habitan generalmente en el suelo, pertenecen a los actinomicetos aerobios que se asocian a micetoma y su factor de riesgo más importante es el contacto frecuente con el suelo o con la materia vegetal. La especie frecuentemente involucrada en estas infecciones es la *Nocardia brasiliensis* (13,27).

El diagnóstico etiológico de estas patologías no es fácil y generalmente se basa en el hallazgo bacteriológico y mediante técnicas de cultivo. En este sentido, durante los últimos años, las técnicas de diagnóstico basadas en la biología molecular, particularmente aquellas derivadas de la PCR, se han convertido en una importante herramienta de apoyo (8, 17).

## **Objetivo**

Describir algunos casos de coinfección por micobacterias y nocardias, como consecuencia del tratamiento de la obesidad por mesoterapia.

## **Materiales y métodos**

### Pacientes

Presentamos 11 casos de pacientes de sexo femenino con rango de edad entre los 19 a 67 años, a quienes se les inyectó en diversas oportunidades, como tratamiento reductor, una sustancia denominada "lipotrofina", constituida por una mezcla de solución fisiológica, aminofilina y lidocaína. Uno o dos meses después de la aplicación de la sustancia, los pacientes presentaron nódulos eritemato-violáceos en número variable, dolorosos, con contenido sero-purulento, localizados en las áreas de inoculación (Figura 1). Ocho de las pacientes habían recibido tratamiento con quinolonas y macrólidos durante dos meses aproximadamente, sin mejoría clínica de la sintomatología. Las otras tres pacientes no habían recibido tratamiento.

### Estudio Microbiológico

Se estudiaron un total de 9 muestras de secreción purulenta de abscesos cerrados y 1 biopsia de piel. Todas las muestras se procesaron de acuerdo a la metodología convencional (1, 22, 24).

### Amplificación por PCR

A partir de dos muestras clínicas de pacientes (una secreción purulenta y una biopsia de piel) se realizó el aislamiento del ADN siguiendo el protocolo descrito (12). El ADN aislado se utilizó como blanco de amplificación por PCR para las secuencias nucleotídicas *IS6110* (específica del complejo *M. tuberculosis*) (14, 25) y de *mpt40* (específica de *M. tuberculosis*) (10). Se utilizó ADN de *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (TMC102) como control positivo y como control de inhibición 150 fg del ADN obtenido a partir de la cepa *M. smegmatis* 1008, la cual posee una secuencia *IS* modificada. Adicionalmente se amplificó un segmento de la  $\beta$ -globina humana como control de aislamiento del ADN. Otros controles negativos utilizados incluyeron agua destilada y ADN extraído de *Candida spp*, *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia asteroides*.

Adicionalmente, a partir del ADN obtenido de las micobacterias aisladas, se amplificaron dos segmentos de la secuencia nucleotídica del gen *hsp65* (PCR1 y PCR2). El producto de PCR1 se digirió con las enzimas *HaeIII* y *BstEII* y el del PCR2 con *Sau96I* y *CfoI* y se utilizó el análisis del patrón de restricción polimórfica (PRA) para identificar a las micobacterias a nivel de especie (4, 6, 7).

### **Resultados**

En 5 de las 9 muestras de secreción purulenta estudiadas mediante coloración de Gram se observaron abundantes polimorfonucleares (PMN), bacilos grampositivos cortos, delgados y bacilos grampositivos débiles, delgados. En la coloración de Ziehl Neelsen (ZN), se detectaron bacilos ácido-alcohol resistentes (BAR), curvos, cortos, delgados y BAR débiles.

En cuanto a los cultivos, sólo se obtuvo crecimiento en dos de las muestras, las cuales correspondían a pacientes que no habían recibido tratamiento. El crecimiento se observó al quinto día en agar sangre (AS) y entre los 8 y 12 días en medio Löwenstein Jensen (L-J). Las colonias en AS se caracterizaron por ser rugosas, estrelladas, adheridas al medio, hemolíticas y de color crema-pardo. Mediante la coloración de Gram se caracterizaron como bacilos grampositivos cortos, algunos con tendencia a la ramificación, mientras que en la coloración ZN se observaron como bacilos no ácido-alcohol resistente. Estas colonias se subcultivaron en los medios de Sablac, Agar cerebro corazón y L-J incubados a diferentes temperaturas (30°C, 37°C y 45°C). En los dos primeros medios, se observó crecimiento al tercer día a las diferentes temperaturas, mientras que en L-J hubo crecimiento entre los siete y doce días, y solo a 37°C. Sobre la base de las características tintoriales y morfológicas de las colonias mencionadas, las mismas se identificaron presuntamente como *Nocardia spp*.

En cuanto al crecimiento en el medio L-J se observaron tres tipos de colonias con morfologías aparentemente diferentes: una de color crema de bordes irregulares, convexa y seca, otra de color crema, rastrera y la tercera de bordes regulares, de color beige. En la coloración ZN se observaron BAR cortos, fusiformes, bipolares y algunos presentaban corpúsculos. De los tres tipos de colonias se lograron separar dos, las cuales se identificaron como *Mycobacterium spp* y *Nocardia spp*

respectivamente. En el tercer tipo de colonia se evidenció una mezcla de BAR, los cuales no pudieron ser separados bacteriológicamente.

Las cepas presuntamente identificadas como *Nocardia spp* y *Mycobacterium spp*, fueron posteriormente identificadas a nivel de especie en los Departamentos de Micología y Bacteriología del Instituto Nacional de Higiene y en el Laboratorio de Micobacterias de División de Tuberculosis y Enfermedades Pulmonares Ministerio de Salud y Desarrollo Social como *Nocardia brasiliensis* y *M. chelonae* respectivamente.

La *M. chelonae* aislada fue estudiada por métodos de diagnóstico molecular, mediante amplificación por PCR de las secuencias IS6110, mpt40 y hsp65 dando resultados negativos para IS6110 y mtp40 y positivos para la secuencia hsp65. El patrón de restricción polimórfica fue compatible con *M. chelonae* (Figura 2). La colonia que contenía la mezcla de dos tipos de BAR, también se sometió a estudios de PCR, obteniéndose amplificación positiva para las secuencias IS6110 y mtp40 específicas del complejo tuberculoso y de *M. tuberculosis* respectivamente (Figura 2). Resultados similares se observaron en las dos muestras procesadas directamente (secreción purulenta y biopsia de piel).

Debido a estos hallazgos, las pacientes fueron incluídas en el tratamiento antituberculoso recomendado por el Programa Nacional de Control de Tuberculosis y con trimetropin sulfametoxazol, con buena respuesta terapéutica, sin efectos colaterales de importancia. El tratamiento se hizo extensivo a las demás pacientes y en todas ellas la respuesta fue satisfactoria

## **Discusión**

La tuberculosis continúa siendo un problema de primer orden a escala mundial, aunque representa un pequeño porcentaje de las consultas dermatológicas. La incidencia de la tuberculosis cutánea es variable: en Europa es menor del 0,1%, en India cerca del 0,15-0,25%. En nuestro país se sitúo entre 0,2-0,09% para el quinquenio 1989-1993 (17). Debido a que la infección por estos microorganismos en la piel es poco frecuente, no es sospechada y permanece sin diagnóstico. A nivel clínico se requiere de un extenso diagnóstico diferencial, el cual se logra en forma definitiva mediante cultivo de las muestras y el aislamiento de *M. tuberculosis*. En la práctica, sin embargo, en muchas ocasiones el diagnóstico se basa en la correlación entre los hallazgos clínicos e histológicos, la positividad a la tuberculina y la respuesta favorable al tratamiento antituberculoso (17, 23a).

Por otra parte, las infecciones cutáneas por micobacterias no tuberculosas (MNT), generalmente son causadas por micobacterias del medio ambiente como *M.chelonae*, *M.fortuitum* y *M. abscessus*, entre otras. Estas infecciones ocurren a menudo como complicaciones posteriores a heridas postquirúrgicas, inoculaciones accidentales o por inyecciones de vacunas o drogas contaminadas (3, 9,20, 26). El aislamiento de *M. chelonae* en las muestras estudiadas concuerda con estos reportes, y podría asociarse a la contaminación de la sustancia inyectada. Sin embargo, la coinfección de micobacterias con nocardias no es referida en la bibliografía consultada.

Aunque, en la actualidad, la mayor parte de los casos de nocardiosis se observan en pacientes debilitados o inmunosuprimidos, en un 15 al 20% de los mismos no se encuentra un factor predisponente que permita sospechar o suponer un defecto en las defensas celulares. En 1983

Hay reportó varios casos en un período de 20 meses, y en todos los pacientes incluidos había antecedentes de traumatismo local y de contacto con el suelo. Las lesiones se presentaban como celulitis, pústulas, piodermia y un síndrome linfocutáneo semejante a la esporotricosis. En algunos de estos casos se encontraba implicado *N. brasiliensis* (15).

En los resultados aquí reportados, se detectó la presencia de *Nocardia brasiliensis* y *M. chelonae* en 2 de los pacientes estudiados. Adicionalmente se encontró una tercera colonia, la cual estaba compuesta de al menos dos tipos diferentes de BAR. Éstos no pudieron ser separados, probablemente debido a diferencias en la velocidad de crecimiento entre ellos. Sin embargo, se evidenció por PCR la presencia de IS6110, la cual es característica de micobacterias del complejo tuberculosis y la secuencia *mtp40* aparentemente exclusiva de *M. tuberculosis*. Estos resultados nos indican la presencia de *M. tuberculosis* en la muestra, y nos inducen a pensar en una posible contaminación de la sustancia inyectada con estas bacterias. Las causas epidemiológicas de esta infección mixta no pudieron ser investigadas, ya que no tuvimos acceso al producto administrado, ni al personal médico y paramédico que realizó la mesoterapia.

En conclusión, los casos aquí expuestos, demuestran la existencia de infecciones mixtas por micobacterias y nocardias, derivadas del tratamiento de la obesidad por mesoterapia. En tal sentido, el uso combinado del diagnóstico clínico y bacteriológico, así como de técnicas de diagnóstico molecular, es de gran utilidad en el estudio de este tipo de infecciones. Los casos presentados en este trabajo constituyen un ejemplo de cómo los métodos de identificación fenotípica concuerdan con los resultados obtenidos por los métodos de identificación genotípica.

Como recomendación final, y dada la severidad de la infección micobacteriana sumada a la nocardiosis, es indispensable que el clínico especializado en estos procedimientos prevenga tales infecciones con el uso de medidas asépticas adecuadas. Adicionalmente se requiere por parte del Estado un mayor control de estos procedimientos estéticos, los cuales se hacen muchas veces en locales inapropiados y por personal poco calificado.

## Bibliografía

1. **Blaine L. et al.** Nocardia, Rhodococcus, Streptomyces, Oerkovia and Others Aerobic Actinomycetes of Medical Importance. Manual of Clinical Microbiology. Cap.30. Sixth Ed. 1995.
2. **Böddinghaus B., Rogall T., Flohr T., Blöcker H., Böttger E C.** 1990. Detection and identification of Mycobacteria by Amplification of rRNA. J. Clin. Microbiol. 28(8): 1751-1759.
3. [Bonafe JL, Grigorieff-Larrue N, Bauriaud R.](#) 1992. Atypical cutaneous mycobacterium diseases. Results of a national survey. Ann Dermatol Venereol. 119(6-7):463-70.
4. [Cousins D, Francis B, Dawson D.](#) Multiplex PCR provides a low-cost alternative to DNA probe methods for rapid identification of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. J Clin Microbiol 1996; 34(9):2331-3.
5. [Del Portillo P, Murillo LA, Patarroyo ME.](#) Amplification of a species-specific DNA fragment of *Mycobacterium tuberculosis* and its possible use in diagnosis. J Clin Microbiol 1991; 29(10):2163-8.
6. [Del Portillo P, Thomas MC, Martinez E, Maranon C, Valladares B, Patarroyo ME, Carlos Lopez M.](#) 1996. Multiprimer PCR system for differential identification of mycobacteria in clinical samples. J Clin Microbiol 1996; 34(2):324-8.

7. [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(11):2969-73.
8. **Fitzgerald DA, Smith AG, Lees A, Yee L, Cooper N, Harris SC, Gibson JA**. Cutaneous Infection with *Mycobacterium abscessus*. *British J Dermatol* 1995; 132:800-804
9. **Grange JM**. Infection and disease due to the environmental mycobacteria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81(2):179-82.
10. **Herrera EA, Segovia M**. Evaluation of *mtp40* genomic fragment amplification for specific detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1996; 34(5):1108-13.
11. **Inman PM, Beck A, Brown AE, Stanford JL**. Outbreak of Infection Abscesses due to *Mycobacterium abscessus*. *Arch Derm* 1969; 100:141-147.
12. [Kolk AH, Schuitema AR, Kuijper S, van Leeuwen J, Hermans PW, van Embden JD, Hartskeerl RA](#). Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by using polymerase chain reaction and a nonradioactive detection system. *J Clin Microbiol* 1992; 30(10):2567-75.
13. **Lerner PI**. Nocardia Species. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Mandell and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2273- 2280.
14. [McHugh TD, Newport LE, Gillespie SH](#). *IS6110* homologs are present in multiple copies in mycobacteria other than tuberculosis-causing mycobacteria. *J Clin Microbiol* 1997; 35(7):1769-71.
15. Hay R J. Nocardial Infection of the skin. *J. Hyg.* .1983, 91:385-391
16. [Noel SB, Ray MC, Greer DL](#). Cutaneous infection with *Mycobacterium avium-intracellulare scrofulaceum* intermediate: a new pathogenic entity. *J Am Acad Dermatol.* 1988; 19(3):492-5.
17. **Panzarelli, A**. Tuberculosis cutánea. *Dermatología Venezolana.* 1998; 36(2):45-51.
18. [Paul C, Burguiere AM, Vincent V, Susbielle P, Bonvalet D, Dubertret L](#). BCG-induced mycobacterium infection induced by alternative medicine. *Ann Dermatol Venereol.* 1997; 124(10):710-2.
19. **Rodríguez G, Ortegon M, Camargo D, Orozco LC**. Iatrogenisc *Mycobacterium abscessus* infection: Histopathology of 71 patients. *British J Dermatol.* 1997; 137:214-218
20. [Rotman DA, Blauvelt A, Kerdel FA](#). Widespread primary cutaneous infection with *Mycobacterium fortuitum*. *Int J Dermatol* 1993; 32(7):512-4.
21. [Safranek TJ, Jarvis WR, Carson LA, Cusick LB, Bland LA, Swenson JM, Silcox VA](#). *Mycobacterium chelonae* wound infections after plastic surgery employing contaminated gentian violet skin-marking solution. *N Engl J Med* 1987; 317(4):197-201.
22. **Sandoval H, Serrano JA**. Identificación y Diagnóstico de Actinomicetos patógenos. Univ. Mexico-Xochimilco. 1996.
23. [Sehgal VN, Bhattacharya SN, Jain S, Logani K](#). Cutaneous tuberculosis: the evolving scenario. *Int J Dermatol* 1994; 33(2):97-104.
24. 23a. **Sehgal VN, Wagh SA**. Cutaneous Tuberculosis-Current Concepts. 1990. *International J. of Dermatology* 29(4): 237-250
25. **Sommers HM, McClartchy KJ**. Laboratory Diagnosis of the Mycobacterioses. Cummitech. 16. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1983

26. [Thierry D, Brisson-Noel A, Vincent-Levy-Frebault V, Nguyen S, Guesdon JL, Gicquel B.](#) Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* insertion sequence *IS6110*, and its application in diagnosis. J Clin Microbiol 1990; 28(12):2668-73.
27. **Torres J, Murillo J, Bofill L, Rios A, Iransquin E, Isturiz R, Guzman M, Rubino L, Cordido M.** Rapidly growing mycobacterial infection following liposuction and liposculpture-  
-Caracas, Venezuela, 1996-1998. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1998; 47(49):1065-7.
28. **Velasco MP, Vitala Corell JJ.** Tuberculosis Cutanea. Piel 1999; 14(8):397-410.