



Figura 1. Lesión vegetante blanquecina en la lengua.

en el análisis histológico una proliferación de células escamosas, epidermis papilomatosa con paraqueratosis y ligera atipia celular. La tinción inmunohistoquímica resultó positiva para el VPH, lo que confirmaba nuestra sospecha inicial. Se le realizó una analítica de sangre general, que no mostró ningún dato de interés, y una serología para VIH, que resultó negativa. El paciente fue sometido a cirugía láser de dióxido de carbono, sin que mostrara signos de recurrencia tras 3 años de seguimiento.

La POF es una rara afectación de la cavidad oral y labios que consiste en la formación de múltiples crecimientos verruciformes y papilomatosos que confluyen formando placas y vegetaciones<sup>1</sup>. Se presenta más frecuentemente en varones de entre 60 y 70 años. El tabaco se muestra como el factor de mayor importancia, y algunos estudios han demostrado que la costumbre de masticar tabaco se relaciona con el proceso de forma significativa<sup>2</sup>. El consumo importante de alcohol, la mala higiene bucal, los traumatismos o irritantes crónicos y/o las situaciones de inmunosupresión también se han

visto implicadas en su etiología<sup>3</sup>. Es considerada como una variante de bajo grado de malignidad del carcinoma verrucoso de mucosa oral, y los serotipos detectados han sido el 6, el 11 y el 16 del VPH<sup>1</sup>. En ocasiones se desarrollan focos de carcinoma escamoso<sup>4</sup>, lo que hace necesario una vigilancia estrecha y un tratamiento orientado a la resolución completa<sup>5</sup>.

Con este caso se demuestra el amplio rango clínico de afectación infecciosa cutáneo-mucosa provocada por el VPH y los diferentes serotipos implicados.

Por tanto, las infecciones por el VPH, frecuentemente confundidas con infecciones fúngicas, deberían ser tenidas en mayor consideración, sobre todo por el claro potencial de transformación maligna que presentan.

### Bibliografía

1. Eversole LR. Papillary lesions of the oral cavity: Relationship to human papillomavirus. *J Calif Dent Assoc.* 2000;28:922-7.
2. Schwartz RA. Verrucous carcinoma of the skin and mucosa. *J Am Acad Dermatol.* 1995;32:1-21.
3. Grillo E, Miguel-Morrondo A, Vano-Galván S, Jaén-Olasolo P. Oral florid papillomatosis. *Rev Clin Esp.* 2012;212:93.
4. Wenzel K, Saka B, Zimmermann R, Gundlach KK, Barten M, Gross G. Malignant conversion of florid oral and labial papillomatosis during topical immunotherapy with imiquimod. *Med Microbiol Immunol.* 2003;192:161-4.
5. Yoshimura Y, Mishima K, Obara S, Narai Y, Yoshimura H, Mikami T. Treatment modalities for oral verrucous carcinomas and their outcomes: Contribution of radiotherapy and chemotherapy. *Int J Clin Oncol.* 2001;6: 192-200.

Luis Miguel Pérez-Belmonte<sup>a,\*</sup>, Elisabeth Gómez-Moyano<sup>b</sup>, Leticia Herrero-Lifona<sup>c</sup> y Francisco Jiménez-Oñate<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Medicina Interna, Hospital Comarcal de La Axarquía, Vélez-Málaga, Málaga, España

<sup>b</sup> Servicio de Dermatología, Hospital Universitario Carlos Haya, Málaga, España

<sup>c</sup> Servicio de Alergología, Hospital Universitario Carlos Haya, Málaga, España

<sup>d</sup> Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Carlos Haya, Málaga, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [luismiguelpb@hotmail.com](mailto:luismiguelpb@hotmail.com) (L.M. Pérez-Belmonte).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.04.011>

### Sensibilidad in vitro de biopelículas de micobacterias de crecimiento rápido frente a diferentes antimicrobianos

#### *In vitro* susceptibility of rapidly growing mycobacteria biofilms against different antimicrobials

Sr. Editor:

Las enfermedades causadas por micobacterias atípicas o no tuberculosas, y especialmente por micobacterias de crecimiento rápido (MCR), son un fenómeno cada vez más extendido en todo el mundo<sup>1,2</sup>. De entre los muchos factores que inciden en el aumento de casos comunicados se incluyen la ubicuidad de dichos microorganismos en el medio ambiente y la capacidad de los mismos para formar biopelículas<sup>3,4</sup>. Dicha característica les hace ser especialmente resistentes a antibióticos comúnmente utilizados para tratar infecciones micobacterianas en la práctica clínica actual (como son,

por ejemplo, amikacina, ciprofloxacino o claritromicina)<sup>5</sup>. Algunos estudios estiman que la resistencia a antibióticos de las bacterias que se encuentran formando parte de una biopelícula es unas 1.000-1.500 veces mayor en comparación con las células planctónicas<sup>6</sup>, aunque hay pocos estudios relacionados con dicha resistencia en biopelículas formadas por MCR<sup>5,7,8</sup>.

El objetivo de este estudio es determinar la influencia de la formación de biopelículas por MCR en la sensibilidad frente a distintos antimicrobianos mediante un sistema estandarizado. Para ello, se estudiaron las cepas tipo *Mycobacterium abscessus* DSM 44196, *Mycobacterium chelonae* ATCC 19235, *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6841, *Mycobacterium mageritense* ATCC 700351, *Mycobacterium mucogenicum* DSM 44124, *Mycobacterium peregrinum* ATCC 14467 y *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607. Los antibióticos estudiados fueron amikacina (AN), claritromicina (CLR) y ciprofloxacino (CIP) (Sigma, Alemania). Se estableció la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las cepas estudiadas mediante la técnica de microdilución en caldo para MCR de acuerdo con el protocolo

**Tabla 1**

Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima de erradicación de la biopelícula (CMEB) de las diferentes cepas frente a ciprofloxacino (CIP), claritromicina (CLR) y amikacina (AN)

	<i>M. abscessus</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. mageritense</i>	<i>M. mucogenicum</i>	<i>M. peregrinum</i>	<i>M. smegmatis</i>
<i>CMI (μg/ml)</i>							
CIP	2	0,06	0,5	0,5	2	0,12	0,25
CLR	0,03	1	2	8	<0,03	<0,03	2
AN	8	1	4	8	1	<1	<1
<i>CMEB (μg/ml)</i>							
CIP	1.024	256	512	1.024	256	4.096	512
CLR	4.096	4.096	>4.096	2.048	2.048	4.096	4.096
AN	4.096	>4.096	4.096	>4.096	>4.096	>4.096	>4.096

recomendado por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)<sup>9</sup>. Para determinar la concentración mínima de erradicación de la biopelícula (CMEB), la biopelícula se desarrolló siguiendo el protocolo basado en el sistema de Calgary usando las placas MBEC™ Biofilm Inoculator (Innovotech, Canadá)<sup>10</sup>. Dichas placas se inocularon con una suspensión de densidad óptica 0,5 MacFarland obtenida a partir de las cepas incubadas en Middlebrook 7H9 (7H9). Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C en agitación (80 rpm) durante 96 h. A continuación las proyecciones de material plástico sobre las que se desarrolló la biopelícula se lavaron con PBS estéril y se introdujeron en placas de 96 pocillos que contenían diluciones seriadas de los 3 antibióticos, y se incubaron a 37 °C durante 48 h. Trascorrido dicho tiempo, las tapas con las proyecciones se lavaron de nuevo con PBS y se sonicaron durante 5 min introduciéndolas en placas con 7H9 sin antibióticos. Estas placas se incubaron a 37 °C en atmósfera normal durante 7 días, tras lo cual se realizó la lectura visual de la CMEB. Se decidió utilizar la temperatura de 37 °C (en lugar de 30 °C, temperatura recomendada para el estudio de sensibilidad convencional) con el objetivo de utilizar unas condiciones más similares a las existentes en las biopelículas asociadas a infecciones en humanos (que habitualmente se desarrollan a temperaturas más próximas a los 37 que a los 30 °C). Por otra parte, se trata de la temperatura recomendada por el fabricante. En cualquier caso, y previamente a la realización de los estudios, se comprobó la capacidad de las cepas estudiadas de crecer a 37 °C.

Los resultados obtenidos de CMI y CMEB se muestran en la *tabla 1*. De acuerdo con ellos, se puede concluir que las MCR, cuando se encuentran formando parte de una biopelícula, presentan una resistencia a antimicrobianos muy superior respecto a las micobacterias en estado planctónico, variando desde <100 veces en el caso de *M. mucogenicum* cuando se expone a ciprofloxacino, hasta >100.000 veces en el caso de *M. abscessus* y *M. peregrinum* cuando se exponen a claritromicina.

De entre los antimicrobianos estudiados, ciprofloxacino resultó ser el más activo frente a biopelículas de micobacterias de crecimiento rápido, mientras que claritromicina y amikacina no mostraron prácticamente actividad frente a las mismas. Este dato debería tenerse en cuenta a la hora de plantear las opciones terapéuticas en infecciones causadas por MCR asociadas a la formación de biopelículas.

## Bibliografía

1. Van Ingen J, Hoefsloot W, de Lange WC, Magis-Escurra C, Dekhuijzen PN, Boeree MJ, et al. Nontuberculous mycobacteria: Clinically relevant. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2010;154:A1178.
2. Hoefsloot W, van Ingen J, Andrejak C, Angeby K, Bauriaud R, Bemer P, et al. The geographic diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from pulmonary samples: an NTM-NET collaborative study. *Eur Respir J.* 2013;42:1604–13.
3. Esteban J, Martin-de-Hijas NZ, Kinnari TJ, Ayala G, Fernandez-Roblas R, Gadea I. Biofilm development by potentially pathogenic non-pigmented rapidly growing mycobacteria. *BMC Microbiol.* 2008;8:184.
4. Martin-de-Hijas NZ, Garcia-Almeida D, Ayala G, Fernandez-Roblas R, Gadea I, Celdran A, et al. Biofilm development by clinical strains of non-pigmented rapidly growing mycobacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15:931–6.
5. Ortiz-Perez A, Martin-de-Hijas N, Alonso-Rodriguez N, Molina-Manso D, Fernandez-Roblas R, Esteban J. Importance of antibiotic penetration in the antimicrobial resistance of biofilm formed by non-pigmented rapidly growing mycobacteria against amikacin, ciprofloxacin and clarithromycin. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:79–84.
6. Wu JA, Kusuma C, Mond JJ, Kokai-Kun JF. Lysostaphin disrupts *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms on artificial surfaces. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3407–14.
7. Bardouniotis E, Ceri H, Olson ME. Biofilm formation and biocide susceptibility testing of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium marinum*. *Curr Microbiol.* 2003;46:28–32.
8. Bardouniotis E, Huddleston W, Ceri H, Olson ME. Characterization of biofilm growth and biocide susceptibility testing of *Mycobacterium phlei* using the MBEC assay system. *FEMS Microbiol Lett.* 2001;203:263–7.
9. Woods GL, Brown-Elliott BA, Desmond EP, Hall GS, Heifets L, Pfyffer GE, et al. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes; approved standard. Document M24-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2003.
10. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: New technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol.* 1999;37:1771–6.

María-Carmen Muñoz-Egea\*, María García-Pedrazuela  
y Jaime Esteban

Departamento de Microbiología Clínica, IIS-Fundación Jiménez Díaz,  
Madrid, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [mcmunozegea@fdj.es](mailto:mcmunozegea@fdj.es) (M.-C. Muñoz-Egea).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.04.010>