



È utile il test Quantiferon nella Micobatteriosi atipica? Studio di un caso e revisione della letteratura

Beatrice Valvo¹, Vincenzo Barbaccia¹, Nicolò Rivetti¹,
Piero Marone², Valeria Brazzelli¹

¹Clinica Dermatologica, e ²S.C. Microbiologia e Virologia, Università degli Studi di Pavia,
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

È utile il test Quantiferon nella Micobatteriosi atipica? Studio di un caso e revisione della letteratura

Le micobatteriosi atipiche o micobatteriosi cutanee non tubercolari sono infezioni indotte da bacilli appartenenti alla famiglia delle micobacteriacee, ampiamente diffusi nell'ambiente, Gram positivi, asporigeni a basso grado di patogenicità. Tra questi, *M. marinum* si caratterizza per lo spiccato tropismo cutaneo, essendo responsabile del cosiddetto granuloma da piscina o granuloma da acquario, lesione granulomatosa che colpisce i frequentatori di piscine o coloro che usano immergere le mani senza guanti negli acquari. La diagnosi si basa su un'accurata anamnesi ed un attento esame obiettivo delle lesioni, nonché sull'esecuzione di esame istologico e colturale su biopsia o aspirato per l'identificazione *M. marinum*. Le colture necessitano di un lungo tempo per positivizzarsi, pertanto risulta fondamentale condurre indagini di laboratorio aggiuntive volte ad escludere le principali patologie in diagnosi differenziale con la micobatteriosi atipica, tra queste in particolare l'infezione tubercolare. Presentiamo il caso di un paziente affetto da micobatteriosi atipica da *M. marinum* di difficile inquadramento diagnostico, in cui le indagini di laboratorio non sono state di aiuto.

Utility of Quantiferon test in Atypical mycobacterial infections: a case report and review of literature

Atypical mycobacterial infection is a term applied to infections caused by mycobacteria other than *M. tuberculosis* e *M. leprae*. Atypical mycobacteria are slender, nonmotile, non-spore forming acid-fast bacilli, found in many environmental areas. *M. marinum* is a slow-growing photochrome micobacterium that can cause human disease, sometimes referred to as swimming pool granuloma or fish tank granuloma, by penetration through impaired skin barrier. Diagnosis requires an accurate history, a careful physical examination, as well as histological studies and microbiological cultures to identify the causative agent. Since cultures may be negative or take months to be completed, it is essential to conduct additional laboratory investigations with the aim of excluding the main differential diagnosis and in particular tuberculosis. We present the case of a patient with a *M. marinum* skin infection of difficult diagnostic overview, in which laboratory tests were not useful.

Introduzione

Le micobatteriosi atipiche (MA) o micobatteriosi cutanee non tubercolari sono infezioni indotte da bacilli appartenenti alla famiglia delle micobacteriacee [1]. Si tratta di bacilli Gram positivi, asporigeni ed a basso grado di patogenicità, distinti in micobatteri a crescita lenta, di cui fanno parte *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. kansasii*, *M. scrofuloderm*, *M. szulgai*, *M. avium complex*, e micobatteri a crescita rapida come *M. fortuitum complex*, *M. abscessus* e *M. haemophilum* [2]. Due specie in particolare presentano spiccato tropismo per la cute: *M. marinum* e *M. ulcerans*. Le micobatteriosi cutanee atipiche, a differenza delle infezioni dovute a micobatteri patogeni obbligati (*M. tuberculosis* e *M. leprae*), sono generalmente correlate ad esposizione ambientale (suolo od acqua contaminati), in occasione della quale si verifica una inoculazione diretta attraverso lesioni di continuo della cute e solo raramente a contagio interumano [3]. *M. marinum* è un micobatterio reperibile sia in acque dolci che salate, preferibilmente temperate, responsabile del cosiddetto granuloma da piscina o granuloma da acquario, lesione granulomatosa che colpisce i frequentatori di piscine o coloro che usano immergere le mani senza guanti negli acquari. Isolato nel 1926 a Philadelphia in un pesce, è stato identificato come potenziale patogeno per l'uomo nel 1951 [4-5]. L'infezione è rara, si stima infatti che negli USA colpisca circa 0.27 abitanti ogni 100,000 [6]. Presentiamo qui il caso di un paziente affetto da MA da *M. marinum* di difficile inquadramento, in cui le indagini di laboratorio non sono state di ausilio diagnostico.

Caso clinico

È giunto alla nostra osservazione un ragazzo di 17 anni, in apparente buona salute, che presentava una placca eritemato-violacea ulcerata, non dolente, localizzata al IV dito della mano destra (Figura 1). La lesione era presente da circa 40 giorni ed era stata già trattata dal curante con penicilline per os per 7 giorni senza beneficio. All'esame obiettivo non erano presenti linfadenopatie distrettuali. L'anamnesi era risultata negativa per viaggi in paesi tropicali, tuttavia il paziente era frequentatore di una piscina e possedeva un acquario. Sono quindi state avanzate alcune ipotesi diagnostiche: in relazione all'anamnesi ed all'aspetto clinico è stato ipotizzato che si trattasse di una MA, tuttavia la diagnosi differenziale comprendeva la leishmaniosi cutanea, la micosi profonda ed, in ultima analisi, anche la tubercolosi cutanea. Il paziente è stato sottoposto a due biopsie cutanee per esame istologico e colturale; sono stati eseguiti tamponi colturali per batteri aerobi e anaerobi, miceti, e sierologia per leishmania. Tutte le indagini sono risultate negative. L'esame istopatologico della biopsia cutanea ha mostrato iperplasia pseudoepiteliomatosa associata a processi flogistici con componente granulomatosa e gigantomocellulare (Figura 2); le colorazioni speciali Giemsa, Mucicarminio, PAS e Ziehl-Neelsen sono risultate negative. In relazione all'anamnesi, all'aspetto clinico della lesione ed alla negatività delle indagini diagnostiche, in attesa dell'esito degli esami colturali e nel sospetto clinico di MA, è stata iniziata terapia con doxiciclina, che non ha portato a miglioramento clinico. Inoltre, a distanza di 5 giorni dall'inizio della terapia, è comparsa una nuova lesione papulosa localizzata al III spazio interdigitale della mano destra, che è andata rapidamente in contro a suppurazione (Figura 3). A 50 giorni dal prelievo l'esame colturale era ancora negativo. Al fine di escludere la diagnosi di tubercolosi cutanea, sono stati eseguiti l'intradermoreazione di Mantoux, esame di elezione per lo screening dell'infezione tubercolare, in grado di documentare l'avvenuto contatto del paziente con *M. tuberculosis*, che ha fornito un risultato debolmente positivo (6 mm), ed il test Quantiferon-TB Gold, esame dotato di specificità più elevata rispetto al precedente, utile nella diagnosi di malattia tubercolare attiva e di infezione

tubercolare latente, che ha fornito un risultato positivo. In considerazione della positività di tali test, della mancata risposta alla terapia antibiotica con doxiciclina, dell'aspetto clinico e dell'esame istologico, in accordo con il collega infettivologo, è stata iniziata la terapia antitubercolare ex-adjuvantibus (rifampicina, etambutolo e isoniazide). Dopo pochi giorni dall'inizio della terapia antitubercolare però, a 60 giorni dal prelievo per l'indagine colturale, è stato finalmente possibile isolare *M. Marinum*, potendo così confermare il sospetto clinico di micobatteriosi cutanea atipica. Sulla scorta dei dati forniti dell'antibiogramma, che mostrava solo una parziale sensibilità dell'organismo isolato alla doxiciclina, farmaco di prima scelta per il trattamento della MA da *M. Marinum*, si è deciso di sottoporre il paziente a terapia associativa con rifampicina e claritromicina per 3 mesi, ottenendo così una completa remissione clinica delle lesioni cutanee.

Discussione

M. marinum è un micobatterio fotocromogeno a crescita lenta, appartenente al I gruppo della classificazione di Runyon, che cresce ottimamente a 25-30°C. Isolato per la prima volta nei pesci nel 1926, è stato identificato come potenziale patogeno per l'uomo nel 1951 [4-5]. Le principali fonti di contagio sono rappresentate da ferite e abrasioni, per lo più in corso di manutenzione di acquari, lavoro in certi tipi di industria, bagni in piscine, laghi o perfino mari contaminati [5]. Generalmente l'infezione si manifesta sotto forma di lesioni singole o multiple in forma di noduli, papule o placche verrucose sulla pelle, che possono ulcerarsi e determinare la formazione di granulomi ascessualizzati suppuranti. Le sedi più comunemente interessate sono le estremità [6-7]. Le lesioni compaiono dopo un tempo di incubazione variabile da 2 a 8 settimane [1]. Nonostante queste lesioni siano spesso indolenti e non vi sia presenza di adenopatia regionale, nel 30% dei casi può verificarsi un interessamento delle strutture profonde e, nei pazienti immunodepressi, è possibile l'insorgenza di lesioni disseminate con setticemia [5]. Di norma il decorso è lento, con risoluzione spontanea in un periodo di 1-6 anni. Seguono esiti cicatriziali per lo più blandi e superficiali.

Dal punto di vista terapeutico possono essere adottate diverse strategie, in relazione alla gravità delle lesioni. Gli antibiotici più comunemente utilizzati sono le tetracicline (doxiciclina), i macrolidi e l'associazione trimetoprim-sulfametassozolo o rifampicina-etambutolo. Il periodo medio di terapia per le infezioni superficiali varia da 6 settimane a 6 mesi, mentre le infezioni profonde devono essere trattate per un periodo più prolungato (da 6 a 18 mesi) [8].

Per porre diagnosi di MA da *M. marinum* sono necessari un'accurata anamnesi, un attento esame obiettivo delle lesioni, nonché un esame istologico e colturale su biopsia o aspirato. La biopsia tissutale mostra solo nel 46% dei casi reperti anatomopatologici caratteristici costituiti dalla presenza di un infiltrato dermico a componente prevalentemente linfo-istio-plasmacellulare, con granulomi che frequentemente presentano reazione caseosa; inoltre l'epidermide può mostrare acantosi ed iperplasia pseudoepiteliomatosa [9]. Solo nel 13-17% dei casi sono visibili (con colorazione Ziehl-Neelsen) bacilli nell'essudato, nel materiale caseoso o in sede intracellulare [10-11]. L'isolamento colturale di *M. marinum* su terreno Lowestein-Jensen a 30-33°C da materiale biotico o aspirato permette di confermare la diagnosi. Recenti studi hanno tuttavia calcolato che la positività colturale si ottiene dopo un tempo medio di 25 giorni e che l'identificazione batterica, corredata di antibiogramma, necessita di ulteriori 26 giorni. Da ciò pertanto emerge come intercorrano in media 2.3 mesi dal campionamento del materiale all'identificazione di *M. marinum* [11]. Inoltre, a seconda delle serie, solo il 3-55% delle colture di *M. marinum* risulta essere positivo [10, 12].

In considerazione della difficoltà per giungere alla conferma diagnostica e dei lunghi tempi richiesti, risulta frequentemente necessario condurre indagini di laboratorio aggiuntive volte ad escludere le principali patologie che vanno in diagnosi differenziale con la MA, tra queste in particolare l'infezione tubercolare. L'intradermoreazione secondo Mantoux, test cutaneo introdotto nella pratica clinica nel 1890, consiste nell'iniezione intradermica di una miscela di antigeni micobatterici estratti dal bacillo tubercolare (derivato proteico purificato, PPD) e nell'interpretazione dell'infiltrato cutaneo che si viene eventualmente a formare, indice dell'avvenuto contatto del paziente con *M. tuberculosis*. Dal 2001 il test Quantiferon-TB Gold risulta il metodo più diffuso ed affidabile per la diagnosi sia di malattia tubercolare attiva che di infezione tubercolare latente. Si tratta di un test diagnostico in vitro che utilizza un cocktail peptidico che simula le proteine ESAT-6, CFP-10 e TB7.7 (p4) per stimolare le cellule del sangue intero eparinizzato. La rilevazione dell'interferone- γ mediante il dosaggio immunoenzimatico ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) consente di identificare le risposte in vitro agli agenti peptidici associati all'infezione da *M. tuberculosis*. Le proteine ESAT-6, CFP-10 e TB7.7 (p4) vengono codificate da geni localizzati all'interno della Region of Difference 1 del genoma del *M. tuberculosis*, che sono assenti in tutti i ceppi vaccinali e nella maggior parte dei micobatteri non tubercolari, ad eccezione però di *M. kansasii*, *M. szulgai* e *M. marinum* [13]. Per questa ragione, i pazienti affetti da MA da *M. marinum* possono reagire agli antigeni tubercolari ESAT-6, CFP-10 e TB7.7 (p4) fornendo un risultato positivo al test [14]. Il nostro caso esprime, quindi, la complessità del percorso clinico-diagnostico per giungere ad una corretta diagnosi di MA da *M. marinum*. Infatti, pur in presenza di un sospetto clinico corretto, fondato su anamnesi, aspetto clinico della lesione ed esame istologico, si sono presentati alcuni elementi confondenti che hanno ostacolato una rapida e corretta diagnosi. Innanzitutto la mancata risposta alla terapia con doxiciclina, farmaco di scelta per il trattamento delle infezioni cutanee da *M. marinum*. Inoltre non solo è stato necessario attendere a lungo l'esito delle indagini colturali, che hanno portato all'isolamento di *M. marinum* solo a 60 giorni dall'esecuzione del prelievo, ma anche il test di Mantoux ed in particolare il test Quantiferon-TB Gold, volti ad escludere la diagnosi di tubercolosi cutanea, hanno fornito risultati falsamente positivi, indirizzandoci così verso una forma di tubercolosi cutanea per cui è stata proposta una terapia ex-adjuvantibus.

In conclusione, il test Quantiferon-TB Gold, indagine dotata di maggiore specificità rispetto alla intradermoreazione di Mantoux per la diagnosi di tubercolosi, non risulta utile a differenziare l'infezione tubercolare dalla MA da *M. marinum*. In ultima analisi occorre sottolineare come, per formulare correttamente diagnosi di MA da *M. marinum*, rivestano un ruolo centrale soprattutto anamnesi ed esame obiettivo delle lesioni, in grado di portare il clinico esperto al sospetto di infezione micobatterica atipica, nonostante spesso le indagini volte alla conferma della patologia siano a lungo negative o non diagnostiche.

Tabelle e figure



Figura 1. Placca eritemato-violacea localizzata al IV dito della mano destra.

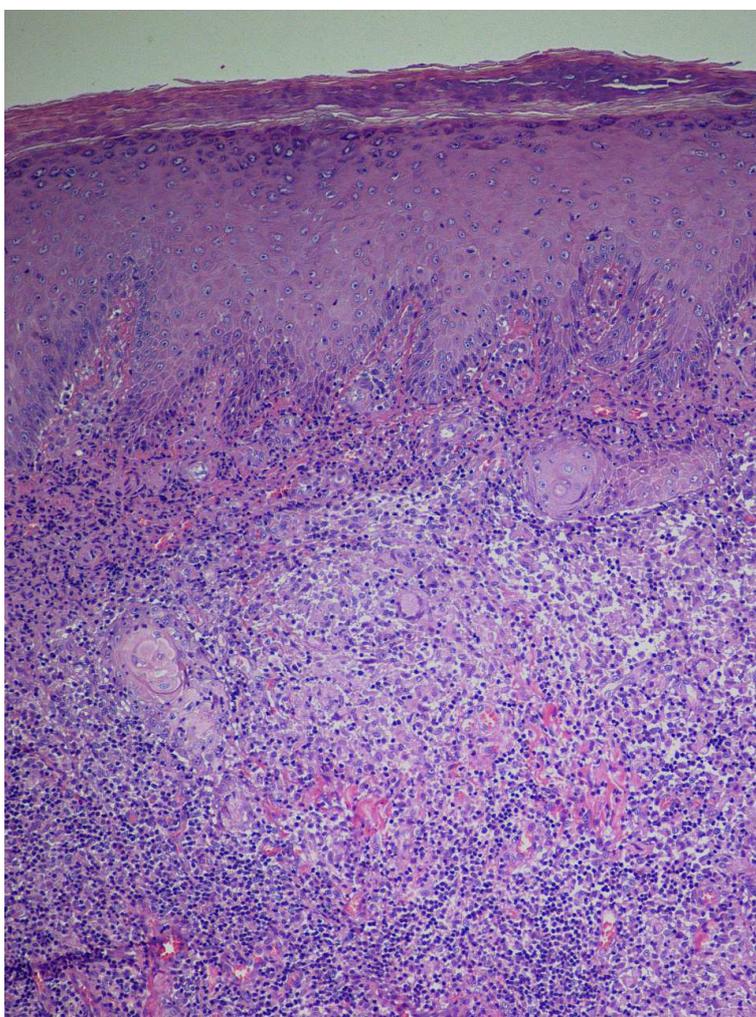


Figura 2. Iperplasia pseudoepiteliomatosa associata a processi flogistici con componente granulomatosa e gigantocellulare. Ematossilina-eosina (x100).



Figura 3. Lesione papulosa localizzata al III spazio interdigitale della mano destra (nel cerchio).

Bibliografia

1. Bhambri S, Bhambri A, Del Rosso JQ. Atypical mycobacterial cutaneous infections. *Dermatologic clinics* 2009;27:63-73.
2. Abbas O, Marrouch N, Kattar MM et al. Cutaneous non-tuberculous Mycobacterial infections: a clinical and histopathological study of 17 cases from Lebanon. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2011;25:33-42.
3. Jernigan JA, Farr BM. Incubation period and sources of exposure for cutaneous Mycobacterium marinum infection: case report and review of the literature. *Clinical infectious diseases* 2000;31:439-443.
4. Lewis FM, Marsh BJ, von Reyn CF. Fish tank exposure and cutaneous infections due to Mycobacterium marinum: tuberculin skin testing, treatment, and prevention. *Clinical infectious diseases* 2003;37:390-397.
5. Bhatti MA, Turner DP, Chamberlain ST. Mycobacterium marinum hand infection: case reports and review of literature. *British journal of plastic surgery* 2000;53:161-165.
6. Pang HN, Lee JY, Puhaindran ME et al. Mycobacterium marinum as a cause of chronic granulomatous tenosynovitis in the hand. *The Journal of infection* 2007;54:584-588.
7. King AJ, Fairley JA, Rasmussen JE. Disseminated cutaneous Mycobacterium marinum infection. *Archives of dermatology* 1983;119:268-270.
8. Fabroni C, Buggiani G, Lotti T. Therapy of environmental mycobacterial infections. *Dermatologic therapy* 2008;21:162-166.
9. Aubry A, Chosidow O, Caumes E et al. Sixty-three cases of Mycobacterium marinum infection: clinical features, treatment, and antibiotic susceptibility of causative isolates. *Archives of internal medicine* 2002;162:1746-1752.
10. Ang P, Rattana-Apiromyakit N, Goh CL. Retrospective study of Mycobacterium marinum skin infections. *International journal of dermatology* 2000;39:343-347.
11. Dodiuk-Gad R, Dyachenko P, Ziv M et al. Nontuberculous mycobacterial infections of the skin: A retrospective study of 25 cases. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2007;57:413-420.
12. Ho MH, Ho CK, Chong LY. Atypical mycobacterial cutaneous infections in Hong Kong: 10-year retrospective study. *Hong Kong medical journal* 2006;12:21-26.
13. Andersen P, Munk ME, Pollock JM et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356:1099-1104.
14. Kobashi Y, Mouri K, Yagi S et al. Clinical evaluation of the QuantiFERON-TB Gold test in patients with non-tuberculous mycobacterial disease. *The international journal of tuberculosis and lung disease* 2009;13:1422-1426.