

Lipotransferencia complicada con micobacteriosis atípicas. Reporte de dos casos y revisión de la literatura

Alejandro Schcolnik Cabrera¹, Rigoberto Hernández Castro², María Elisa Vega Memije³, Roberto Arenas Guzmán⁴ y Ramón Felipe Fernández Martínez^{4*}

¹Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.; ²Departamento de Ecología de Agentes Patógenos, Hospital General «Dr. Manuel Gea González», México, D.F.; ³División de Dermatología, Hospital General «Dr. Manuel Gea González», México, D.F.; ⁴Sección de Micología, Hospital General «Dr. Manuel Gea González», México, D.F.

Resumen

La lipotransferencia es un método que ha evolucionado dentro del área de la cirugía estética y reconstructiva para modificar el contorno corporal del individuo; sin embargo, se ha asociado ocasionalmente con infecciones con diverso grado de morbilidad. Reportamos dos casos de pacientes a quienes se les realizó una lipotransferencia de la zona abdominal y la cintura hacia las nalgas, y que cursaron con infección posquirúrgica. Mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del ADN extraído de una muestra de tejido y de un cultivo, con posterior secuenciación, se identificaron como agentes causales Mycobacterium chelonae y M. massiliense.

PALABRAS CLAVE: Lipotransferencia. Infección posquirúrgica. Micobacterias de crecimiento rápido.

Abstract

*Lipotransference is a technique that has evolved within the aesthetic and reconstructive surgery area to change body shape in the individual. However, it has been associated occasionally with infections of varying degrees of morbidity and mortality. We report two cases of patients who underwent abdominal and waist area lipotransference to buttocks, and who developed postoperative infection. Using polymerase chain reaction of DNA extracted from a tissue sample and from a culture, with subsequent sequencing, *Mycobacterium chelonae* and *M. massiliense* were identified as causative agents. (Gac Med Mex. 2014;150 Suppl 3:311-6)*

Corresponding author: Ramón Felipe Fernández Martínez, ramfer2@hotmail.com

KEY WORDS: Lipotransference. Postsurgical infection. Rapidly growing mycobacteria.

Introducción

Métodos como la liposucción y la lipoinyección se han empleado desde 1977 y 1985, respectivamente, para tratar y corregir en quirófano defectos estructurales y estéticos de la piel y los tejidos blandos¹. Con la combinación de ambas técnicas se realiza una té-

nica denominada lipotransferencia, que, siendo un trasplante de tejido graso autólogo, asegura una reducción de la probabilidad de rechazo inmune por el paciente^{2,3}; no obstante, persisten riesgos propios de las técnicas quirúrgicas, como ciertas infecciones. Reportes previos de crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus* en el sitio de la herida han sido ampliamente documentados^{4,5}, pero existen vacíos en el conocimiento de la tasa de incidencia de infección por otros microorganismos. En este artículo se reportan dos casos de pacientes con infección por dos especies pertenecientes al género *Mycobacterium* tras la práctica de un procedimiento de lipotransferencia.

Correspondencia:

*Ramón Felipe Fernández Martínez
Sección de Micología
Hospital General «Dr. Manuel Gea González»
Av. Calzada de Tlalpan, 4800, Tlalpan, Sección XVI
14080, México, D.F.
E-mail: ramfer2@hotmail.com

Fecha de recepción: 16-07-2014
Fecha de aceptación: 04-08-2014



Figura 1. Placas, abscesos, nódulos y fistulas.

Caso 1

Paciente de 27 años de edad, sometida cinco meses antes a un procedimiento de liposucción del abdomen y la cintura con implante de grasa en las nalgas. Cuatro semanas después inició con fiebre, ataque al estado general y presencia de masas subcutáneas de hasta 10 cm de diámetro, dolorosas y calientes, algunas de las cuales drenaron material purulento posteriormente (Fig. 1). Fue tratada al inicio con ceftriaxona, dicloxacilina y diclofenaco, así como con limpiezas quirúrgicas y desbridación con bloqueo epidural y aplicación de *vacuum assisted closure* (VAC) en nueve ocasiones, con una mejoría parcial (Fig. 2). Se tomaron muestras para realizar una biopsia, un frotis teñido con Ziehl-Neelsen (ZN) y un cultivo en medio de Lowenstein-Jensen. En la biopsia se encontró: capa córnea en red de canasta y epidermis con acantosis irregular; en dermis profunda y hasta el tejido celular subcutáneo, edema entre las fibras de colágena, proliferación vascular, infiltrado inflamatorio compuesto por neutrófilos, linfocitos e histiocitos que formaban células gigantes y algunas áreas de necrosis; fibrosis septal en el tejido adiposo. Las tinciones con ácido peryódico de Schiff (PAS) y ZN fueron negativas para estructuras parasitarias, con diagnóstico histopatológico de reacción granulomatosa y supurativa. El frotis fue negativo. El cultivo fue positivo y sometido a una extracción de ADN y PCR con secuenciación del producto obtenido; se definió el agente causal: *M. chelonae*. La obtención de ADN y la PCR de tejido y material purulento fueron negativos. Con este hallazgo la paciente continuó siendo tratada con desbridaciones y doxiciclina (100 mg cada 12 h), moxifloxacino (400 mg cada 24 h) y linezolid (600 mg cada 12 h) durante cuatro meses, con lo que se logró la curación completa. Las secuelas consistieron en irregularidades en el volumen de las nalgas y múltiples cicatrices (Fig. 3).



Figura 2. Tratamiento con desbridación y VAC.

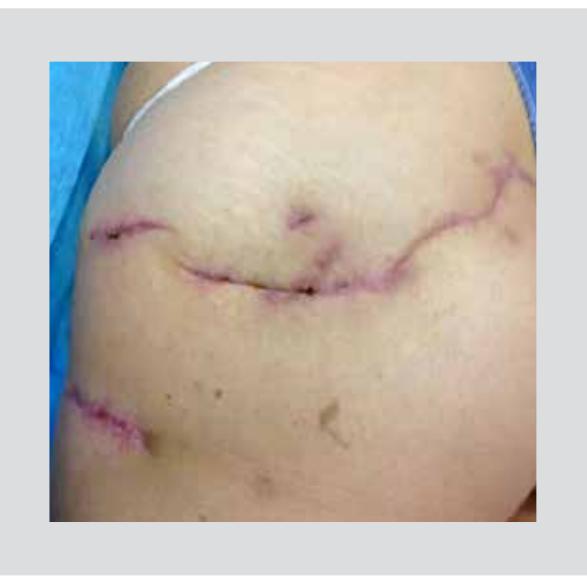


Figura 3. Secuelas: irregularidades en el contorno corporal y cicatrices.

Caso 2

Paciente de 33 años de edad, que había sido sometida a una lipotransferencia de una forma similar al caso previo. Tres semanas después inició con la presencia

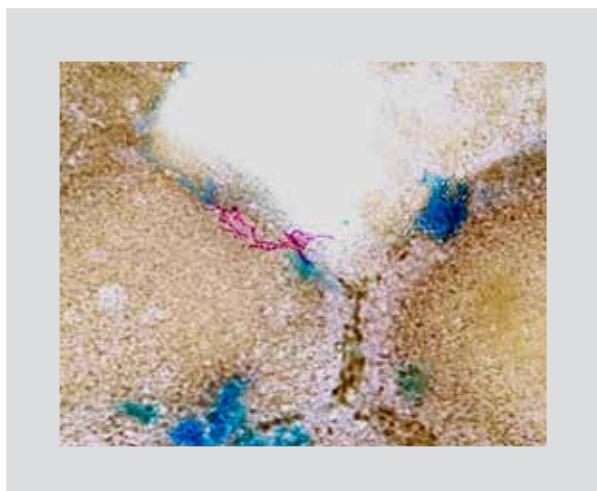


Figura 4. Frotis teñido con ZN: bacilos ácido alcohol resistentes.

de áreas induradas profundas en las nalgas y placas superficiales de hasta 5 cm, con eritema, dolor y aumento de la temperatura, así como nódulos que posteriormente drenaron material purulento. Fue tratada al inicio con múltiples antibióticos, como cefalosporinas y penicilinas, sin mejoría. Se tomaron muestras para biopsia, frotis y cultivo. En el frotis teñido con ZN se encontraron bacilos ácido alcohol resistentes. En la biopsia se reportó: epidermis ortoqueratósica en red de canasta y sin alteraciones aparentes; dermis reticular superficial y media con infiltrado inflamatorio denso difuso conformado por linfocitos, histiocitos, algunos neutrófilos y células plasmáticas que formaban granulomas y rodeaban extensas áreas de necrosis; en otro fragmento se observó tejido de granulación y un discreto infiltrado inflamatorio de polimorfonucleares y linfocitos; las tinciones con PAS y Gomiri-Grocott fueron negativas a elementos fúngicos y con ZN no se observaron bacilos ácido alcohol resistentes. El diagnóstico histopatológico fue de dermatitis granulomatosa tuberculoide con áreas de necrosis, con la nota de que los datos eran compatibles con micobacteriosis atípica cutánea. El frotis teñido con ZN fue positivo para bacilos ácido alcohol resistentes (Fig. 4), pero el cultivo en medio de Lowenstein-Jensen fue negativo, por lo que se realizó la extracción de ADN de una muestra de tejido directamente, una PCR y la secuenciación del producto obtenido, y se encontró *M. massiliense*. Se recomendó al médico tratante el empleo de moxifloxacino (400 mg cada 24 h) y claritromicina (500 mg cada 12 h), y la paciente mejoró. Sin embargo, unas semanas después presentó una reactivación del cuadro clínico, por lo que se propuso

al cirujano la desbridación quirúrgica, a lo que se negó, así como a la adición al tratamiento de linezolid. La paciente continúa con lesiones, ataque al estado general y febrícula un año y medio después de establecerse el diagnóstico.

En ambos casos las cánulas empleadas para la lipotransferencia se mantuvieron en charolas con cloruro de benzalconio (*n*-alquilmetil bencil cloruro de amonio) antes de realizar el procedimiento.

Tipificación de los agentes patógenos

La extracción de ADN fue realizada utilizando el sistema comercial DNeasy (Qiagen, La Jolla, CA, EE.UU.). La amplificación del gen de la subunidad 16S rRNA se realizó mediante PCR; en este sentido se utilizaron los iniciadores (5'-ggatcctttgatcctggctcaggac-3' y 5'-acttgacgtcgccccacccttcctc-3') diseñados de la secuencia de la 16S rRNA de la cepa de *Nocardia asteroides* ATCC 49872 (número de acceso: AY191251) para amplificar un producto de 1,109 pares de bases. Las condiciones de amplificación utilizadas fueron: un ciclo de desnaturalización inicial de 95 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 96 °C durante 30 s, alineación a 70 °C durante 1 min y extensión a 72 °C durante 1 min, y un ciclo de extensión final a 72 °C durante 5 min. Los productos de amplificación fueron visualizados en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio. Los productos de la PCR se purificaron mediante el sistema comercial QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, La Jolla, CA, EE.UU.) siguiendo las indicaciones del fabricante.

La secuencia de nucleótidos fue determinada en ambas direcciones mediante el método *Taq FS Dye Terminator Cycle Sequencing Fluorescence-Based Sequencing*. La secuencia completa de nucleótidos fue sometida a la base de datos del GenBank para buscar homologías mediante el sistema Blast. La secuencia mostró el 100% de identidad con los microorganismos mencionados: *M. cheloneae* y *M. masiliense*.

Discusión

La lipotransferencia es un método novedoso del campo de la cirugía plástica y reconstructiva, cuyo empleo está experimentando un incremento notorio, incluido el de algunas versiones más sofisticadas, como la asistida por células, que mediante la angiogénesis mediada por células madre de tejido adiposo mejora la supervivencia celular^{2,3,6,7}. Sin embargo, han

aparecido complicaciones severas, como infecciones de la piel y de los tejidos blandos, debido principalmente a una desinfección inadecuada del material quirúrgico, en primera instancia, por sumersión en compuestos derivados de amonio cuaternario, como el cloruro de benzalconio⁷⁻⁹. Existen en la literatura reportes de casos de infección por bacterias pertenecientes a la flora normal del sitio de incisión, pero resulta alarmante el creciente número de casos generados por especies pertenecientes al género *Mycobacterium*, y entre éstas, de las micobacterias de crecimiento rápido (MCR).

Por histología, es reconocido que el tejido adiposo constituye el 15-25% de la masa corporal total y que está ampliamente distribuido por el cuerpo humano^{10,11}. Se ha visto que existen otros tejidos, además de los pulmones y linfonodos, donde pueden resguardarse las micobacterias en estado latente, y, gracias al empleo del modelo murino 3T3-L1, se ha demostrado la habilidad de los adipocitos de actuar como macrófagos y fagocitar partículas, incluyendo microorganismos vivos. Más aún, el estado de maduración celular de los adipocitos se correlaciona con el acúmulo de gotas lipídicas y con la permisividad de las micobacterias de encontrarse en estado estático, ya que los preadipocitos similares a fibroblastos permiten la replicación del bacilo en un lapso de 40 h, mientras que el macrófago la tolera en la mitad de tiempo, posiblemente por el alto consumo de oxígeno inducido en los adipocitos diferenciados¹⁰.

A diferencia de *M. tuberculosis*, el conocimiento sobre los mecanismos inmunológicos y patogénicos originados por micobacterias atípicas es aún limitado. Este grupo bacteriano fue clasificado en 1950 por Runyon, según su patrón de pigmentación, en cuatro grupos; aquellas que cuentan con un cultivo positivo dentro de los primeros siete días son reconocidas como MCR. Estos bacilos son causantes de celulitis, abscesos, infecciones en heridas posquirúrgicas e infecciones diseminadas en individuos inmunodeprimidos o en pacientes sanos con un historial de procedimientos quirúrgicos como la lipotransferencia, y, ya que es común la ausencia de los síntomas habituales en infecciones sistémicas, resulta complicado el diagnóstico clínico directo¹¹.

Para su estudio, las micobacterias pueden dividirse en micobacterias de crecimiento lento o rápido. En el primer grupo encontramos a las fotocromógenas, como *M. kansasi* y *M. marinum*, a las escotocromógenas, como *M. scrofulaceum* y *M. gordonae*, y a las no cromógenas, como *M. ulcerans* y *M. avium-intracellulare*;

entre las MCR están las no cromógenas, como *M. chelonae-M. abscessus*, *M. smegmatis* y *M. fortuitum*, y las no cultivables, representadas por *M. leprae*¹².

Cerca del 90% de las infecciones por MCR son debidas a *M. chelonae-M. abscessus*, *M. smegmatis* y *M. fortuitum*^{13,14}. Dentro de las MCR, el complejo *M. chelonae-M. abscessus* ha demostrado ser el más patógeno en humanos, por su reconocida resistencia a los antibióticos^{15,16}, y *M. abscessus* por sí mismo se asocia con infección crónica e incurable en la mayoría de los pacientes, por su menor concentración de glucopeptolípidos para movilización, formación de biofilms y mantenimiento de la integridad de la pared celular¹⁶, junto con su capacidad de reorganización de la superficie celular desde un morfotipo liso a uno rugoso¹⁷. Además, se sabe que para el reconocimiento de *M. abscessus* se requiere dectina-1, que, junto con la tirosin cinasa Syk, activa al inflamasoma NLRP3¹⁸, y por esta vía se promueve una respuesta inmune de tipo Th1, ya que *M. abscessus* es de las pocas MCR que dependen del interferón γ para su adecuado control¹⁹.

Las cepas del complejo *M. fortuitum-M. chelonae* son resistentes a diversos desinfectantes, como yodopovidona al 10%, formaldehído acuoso al 2% y glutaraldehído alcalino al 2%⁹, y se han relacionado frecuentemente con brotes nosocomiales en sujetos susceptibles²⁰. A pesar de que los compuestos de amonio cuaternario se consideran desinfectantes de bajo poder, se ha convertido en una práctica común entre grupos locales de cirugía realizar procedimientos menores ambulatorios o cosméticos empleando estas soluciones tras una limpieza inicial con agua y jabón comercial⁹.

Ya que ha sido reportado que el empleo de soluciones desinfectantes convencionales de amonio cuaternario destruye sólo el 90-95% de los bacilos *M. fortuitum*, *M. massiliense* y del complejo *M. chelonae-M. abscessus*⁷, son necesarios métodos de esterilización más efectivos como clorhexidina y esterilización con autoclave. La clorhexidina es una solución tópica reconocida como el antiséptico más empleado, que posee una eficacia de amplio espectro, con la capacidad de ser micobacteriostático y esporostático al atravesar por difusión pasiva la membrana externa o la pared celular bacterianas y alterar el equilibrio osmótico de estos microorganismos patógenos^{21,22}. Además, en altas concentraciones posee un efecto bifásico con coagulación inicial de los constituyentes intracelulares²¹. Por su actividad residual en la piel se previene la recolonización de organismos cutáneos y alarga su

efecto de antisepsia. Por todo ello, el lavado de manos con clorhexidina es considerado la intervención más importante para prevenir la diseminación de patógenos en los hospitales²². Por otro lado, el empleo de calor por autoclave tiene la capacidad de destruir rápidamente todos los microorganismos, incluyendo la esporas bacterianas y priones, sin ser tóxico para el paciente ni agresivo para el ambiente, por lo que es considerado el mejor método de esterilización y es extensamente empleado para el material que tolera altas temperaturas, como el instrumental quirúrgico y el equipo para el cuidado del paciente crítico²³.

Debido a la amplia diseminación de agentes con diversos grados de resistencia, es obligado realizar una correcta detección e identificación rápida, a nivel de especie, para el adecuado tratamiento del paciente. Con tal fin, se emplean métodos moleculares novedosos, como la secuenciación de ácidos nucleicos, y los genes blanco más recurridos son *hsp65*, *gyrB*, *recA*, *rpoB* y el gen *16S* de ARNr²⁴.

A pesar de la amplia variedad de resistencia presentada por las micobacterias ante agentes desinfectantes y de la urgente necesidad para identificarlas y tratar la infección adecuadamente, su diagnóstico en épocas anteriores puede resultar dudoso debido a los métodos empleados. Un claro ejemplo es la práctica de la biopsia, que requiere una muestra tisular de la zona afectada y el posterior análisis con tinción; no obstante, se ha demostrado que puede contar con una sensibilidad tan baja como del 50%, con una especificidad en el rango del 84.5 al 100%²⁵. Para contrarrestar lo anterior se han desarrollado nuevos métodos diagnósticos que emplean bases moleculares, como la PCR que identifica a la subunidad ribosomal *16S* bacteriana.

Gracias al análisis del gen *16S* de ARNr y de la secuenciación *rpoB* se han podido identificar nuevas especies pertenecientes al género *Mycobacterium*, como *M. conceptionense*²⁶ y *M. massiliense*, la cual, según se ha sugerido, sería una subespecie de *M. abscessus* porque ambas comparten una identidad completa en sus genes *16S* de ARNr²⁷. Esto resulta relevante, ya que, a diferencia de otras MCR, *M. massiliense* es susceptible a doxiciclina¹².

El tratamiento de las infecciones por MCR es complicado, porque suelen ser resistentes a muchos agentes de primera línea contra la tuberculosis. El *Clinical and Laboratory Standards Institute* recomienda, en primera instancia, diferenciar el grupo *M. fortuitum* de *M. chelonae*-*M. abscessus*, ya que el primero cuenta con menor resistencia a antibióticos que

el segundo²⁸. Además, muchas especies de MCR parecen ser sensibles a macrólidos de nueva generación como claritromicina, pero se ha reportado resistencia a este grupo farmacológico, conferido por la mutación en el gen *23R* del ARNr y en los genes *erm* de la micobacteria¹³.

En conclusión, podemos asegurar que el vasto campo de conocimiento sobre la interacción existente entre las MCR con su huésped tras la realización de procedimientos quirúrgicos –teniendo como ejemplo la lipotransferencia– dista de ser por completo entendido. Es necesario realizar estudios clínicos futuros sobre métodos rápidos de identificación y tratamiento efectivo para el control y la erradicación de las MCR en nuestros pacientes, para quienes es urgente modificar las técnicas de asepsia y de antisepsia con el fin de reducir la probabilidad de infección.

Bibliografía

- Dessy LA, Mazzocchi M, Fioramonti P, Scuderi N. Conservative management of local *Mycobacterium chelonae* infection after combined liposuction and lipofilling. *Aesthetic Plast Surg.* 2006;30(6):717-22.
- Sterodimas A, de Faria J, Nicareta B, Pitanguy I. Tissue engineering with adipose-derived stem cells (ADSCs): current and future applications. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(11):1886-92.
- Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Hirohi T, Harii K. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. *Aesthetic Plast Surg.* 2008;32(1):48-55.
- Pereira LH, Sterodimas A. Autologous fat transplantation and delayed silicone implant insertion in a case of *Mycobacterium avium* breast infection. *Aesthetic Plast Surg.* 2010;34(1):1-4.
- Douvoyiannis M, Litman N, Dulau A, Illoite NT. Panniculitis, infection, and dermatomyositis: case and literature review. *Clin Rheumatol.* 2009;28(1):57-63.
- Illoiz YG, Sterodimas A. Autologous fat transplantation to the breast: a personal technique with 25 years of experience. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;33(5):706-15.
- Sterodimas A, de Faria J, Nicareta B, Papadopoulos O, Papalambros E, Illoiz YG. Cell-assisted lipotransfer. *Aesthet Surg J.* 2010;30(1):78-81.
- Tiwari TS, Ray B, Jost KC Jr, et al. Forty years of disinfectant failure: outbreak of postinjection *Mycobacterium abscessus* infection caused by contamination of benzalkonium chloride. *Clin Infect Dis.* 2003;36(8):954-62.
- Murillo J, Torres J, Bofill L, et al. Skin and wound infection by rapidly growing mycobacteria: an unexpected complication of liposuction and liposculpture. The Venezuelan Collaborative Infectious and Tropical Diseases Study Group. *Arch Dermatol.* 2000;136(11):1347-52.
- Neyroles O, Hernández-Pardo R, Pietri-Rouxel F, et al. Is adipose tissue a place for *Mycobacterium tuberculosis* persistence? *PLoS One.* 2006;1:e43.
- Lim JM, Kim JH, Yang HJ. Management of infections with rapidly growing mycobacteria after unexpected complications of skin and subcutaneous surgical procedures. *Arch Plast Surg.* 2012;39(1):18-24.
- del Solar M, Salomón M, Bravo F, et al. Infección cutánea por micobacterias atípicas de crecimiento rápido (MACR) debido a mesoterapia cosmética. Reporte de casos y revisión de la literatura. *Folia Dermatol Peru.* 2005;16(3):127-35.
- Nash KA, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr. A novel gene, *erm(41)*, confers inducible macrolide resistance to clinical isolates of *Mycobacterium abscessus* but is absent from *Mycobacterium chelonae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(4):1367-76.
- Viana-Niero C, Lima KV, Lopes ML, et al. Molecular characterization of *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii* in isolates collected from outbreaks of infections after laparoscopic surgeries and cosmetic procedures. *J Clin Microbiol.* 2008;46(3):850-5.
- Chopra S, Matsuyama K, Hutson C, Madrid P. Identification of antimicrobial activity among FDA-approved drugs for combating *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium chelonae*. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(7):1533-6.
- Ripoll F, Deshayes C, Pasek S, et al. Genomics of glycopeptolipid biosynthesis in *Mycobacterium abscessus* and *M. chelonae*. *BMC Genomics.* 2007;8:114.

17. Malcolm KC, Nichols EM, Caceres SM, et al. Mycobacterium abscessus induces a limited pattern of neutrophil activation that promotes pathogen survival. *PLoS One.* 2013;8(2):e57402.
18. Lee HM, Yuk JM, Kim KH, et al. Mycobacterium abscessus activates the NLRP3 inflammasome via Dectin-1-Syk and p62/SQSTM1. *Immunol Cell Biol.* 2012;90(6):601-10.
19. Rottman M, Catherinot E, Hochedez P, et al. Importance of T cells, gamma interferon, and tumor necrosis factor in immune control of the rapid grower Mycobacterium abscessus in C57BL/6 mice. *Infect Immun.* 2007;75(12):5898-907.
20. Yunker MA, Hernandez SM, Floyd MM, Sikes D, Butler WR, Metchock B. Comparison of Methods for Identification of Mycobacterium abscessus and *M. chelonae* Isolates. *J Clin Microbiol.* 2001;39(11):4103-10.
21. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):147-9.
22. Millstone AM, Passaretti CL, Perl TM. Chlorhexidine: expanding the armamentarium for infection control and prevention. *Clin Infect Dis.* 2008;46(2):274-81.
23. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know. *Clin Infect Dis.* 2004;39(5):702-9.
24. Williams KJ, Ling CL, Jenkins C, Gillespie SH, McHugh TD. A paradigm for the molecular identification of *Mycobacterium* species in a routine diagnostic laboratory. *J Med Microbiol.* 2007;56(Pt 5):598-602.
25. Lin CM, Lin SM, Chung FT, et al. Amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test for diagnosing tuberculosis pleurisy-a diagnostic accuracy study. *PLoS One.* 2012;79(9):e44842.
26. Yang HJ, Yim HW, Lee MY, Ko KS, Yoon HJ. *Mycobacterium conceptionense* infection complicating face rejuvenation with fat grafting. *J Med Microbiol.* 2011;60(Pt 3):371-4.
27. Nakanaga K, Hoshino Y, Era Y, et al. Multiple cases of cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection in a "hot spa" in Japan. *J Clin Microbiol.* 2011;49(2):613-7.
28. Cavusoglu C, Gurpinar T, Ecemis T. Evaluation of antimicrobial susceptibilities of rapidly growing mycobacteria by Sensititre RAPMYCO panel. *New Microbiol.* 2012;35(1):73-6.