



Localizador: 14011

La infección por micobacterias no tuberculosas, una visión desde la perspectiva dermatológica

Nontuberculous mycobacterial infection, a view from the dermatological perspective

María Alexandra Mancheno-Valencia,* Roberto Arenas-Guzmán,* Erika Margarita Carrillo-Casas,* Ramón Fernández-Martínez,* Sonia Toussaint-Caire,* Rigoberto Hernández-Castro,* Iris Galván-Martínez,† Tamar Hajar-Serviansky†

Palabras clave:

Micobacterias no tuberculosas, micobacteriosis atípicas.

Key words:

Nontuberculous mycobacteria, atypical mycobacteriosis.

RESUMEN

Las micobacterias no tuberculosas causan una gran variedad de enfermedades, especialmente en pacientes. En humanos, se han clasificado en cuatro síndromes clínicos principales: enfermedad pulmonar, linfadenitis, enfermedad cutánea y enfermedad diseminada. Entre éstas, la pulmonar crónica es la más común. La incidencia ha aumentado con los años, tanto en huéspedes con alteraciones de la inmunidad como en inmuno-competentes. Su prevalencia se ha incrementado rápidamente, en parte debido a condiciones de inmunosupresión como el sida (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) y, además, la disponibilidad de nuevas tecnologías en métodos de laboratorio, como la cromatografía líquida de alto rendimiento, PCR (por sus siglas en inglés, *polymerase chain reaction*) con restricción de patrones enzimáticos, secuenciación del gen 16S rRNA (por sus siglas en inglés, *ribosomal ribonucleic acid*) y estudios de homología de DNA (por sus siglas en inglés, *deoxyribonucleic acid*), que permiten una mayor recuperación y certeza en la identificación de nuevas especies de micobacterias no tuberculosas.

ABSTRACT

Nontuberculous mycobacteria cause a variety of diseases, especially in immunocompromised patients. It has been classified into four main clinical syndromes in humans: pulmonary disease, lymphadenitis, skin disease and disseminated disease. Among these, the chronic lung disease is the most common form. The incidence has increased over the years, both in hosts with impaired immunity as well as in healthy persons. Its prevalence has increased rapidly, in part because of diseases causing immunosuppression, such as AIDS (acquired immune deficiency syndrome) and also related to the availability of new technologies in laboratory methods, such as the high performance liquid chromatography, PCR (polymerase chain reaction) with restriction enzyme patterns, 16S rRNA (ribosomal ribonucleic acid) gene sequencing and DNA (deoxyribonucleic acid) homology studies which allow greater certainty in the recovery and identification of new species of nontuberculous mycobacteria.

INTRODUCCIÓN

Las micobacterias son bacterias aerobias en forma de bastón, ligeramente curvadas, miden de 2 a 4 μm de largo y 0.2 a 0.5 μm de ancho, no forman esporas, son inmóviles, resisten a la decoloración con ácido, son de crecimiento lento y poseen un genoma con alto contenido de guanina y citosina (61-71%) en su DNA.¹

Con fines prácticos, se establecen tres grupos de micobacterias en función de las entidades nosológicas que ocasionan:

- El complejo *Mycobacterium tuberculosis* se encuentra formado por las especies *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*, que provocan la tuberculosis (TB).

- M. leprae* y *M. lepromatosis*, que causa la lepra.²
- Las micobacterias no tuberculosas (MNT), las cuales son micobacterias distintas de *M. tuberculosis* y *M. leprae*.^{3,4} Se les ha denominado también micobacterias atípicas, ya que en las primeras descripciones de la enfermedad, hace aproximadamente 70 años,⁵ fueron consideradas como cepas infrecuentes de *M. tuberculosis*.⁶

Existen alrededor de 150 especies de MNT, de las cuales aproximadamente la mitad son consideradas como una fuente potencial de enfermedad para el ser humano.⁷ Son ubicuas en la naturaleza⁸ y se han aislado de fuentes tan diversas como suelo, polvo, agua y leche, así como de una gran variedad de animales.⁹

* Hospital General
«Dr. Manuel Gea González».
† Práctica privada.

Recibido: 28/Abril/2014.
Aceptado: 08/Mayo/2014.



El agua potable es considerada el mayor reservorio para las MNT.⁴

Por lo general, las especies ambientales constituyen patógenos de baja virulencia en los humanos.¹⁰

EPIDEMIOLOGÍA

Los patógenos más frecuentemente aislados dependen en gran parte del área geográfica.¹¹

Antes de la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), las principales micobacterias patógenas pulmonares eran *M. kansasii*, *M. avium avium* y *M. avium intracellulare*.⁷ Desde los primeros reportes de sida, la incidencia de infecciones por MNT ha aumentado rápidamente,¹² con una prevalencia de 25 a 50% en Estados Unidos y Europa.¹³

En el caso particular de las infecciones por MNT en piel o articulaciones en pacientes sin inmunodeficiencias, es frecuente encontrar el antecedente de traumatismos o inyecciones de esteroides, lo cual no se reporta en pacientes con deterioro de la inmunidad.¹⁴

En México existe poca información acerca de la epidemiología molecular de las especies de micobacterias. En 2009, Alvarado-Esquível y colaboradores¹⁵ reportaron su experiencia con el estudio a través de métodos moleculares para determinar las especies de micobacterias presentes en 30 cultivos y 42 muestras de tejido embebido en parafina. De los 72 extractos de DNA, encontraron positividad en 26 (36.1%) y 23 (31.9%) para especies de micobacterias por PCR o ensayo por sonda lineal, respectivamente. Se encontraron *M. tuberculosis complex* y *M. genus* en ganglios linfáticos; *M. genus* en muestras de cerebro y vagina, *M. tuberculosis* en líquido sinovial. Se aislaron *M. gordonae*, *M. smegmatis*, *M. kansasii*, *M. genus*, *M. fortuitum*/*M. peregrinum* y *M. tuberculosis* en orina. *M. chelonae*/*M. abscessus* se encontraron en líquido pericárdico y *M. kansasii* en aspirado gástrico.

FISIOPATOLOGÍA

Tradicionalmente, las MNT han sido divididas en diferentes grupos basados en la morfología de las colonias, la velocidad de crecimiento y pigmentación, factores que se consideran en el sistema de clasificación de Runyon, descrito en 1959 (Tabla 1).¹⁶

CUADRO CLÍNICO

La enfermedad ocurre usualmente en pacientes con enfermedad pulmonar previa o con condiciones de inmunode-

presión,¹⁷ pero también se puede encontrar en sujetos sin condiciones predisponentes aparentes.^{3,18,19} Se adquiere en la mayoría de los casos del ambiente, aunque la vía de entrada y la fuente pueden diferir entre los individuos.^{3,18}

Los sitios de infección abarcan los tejidos blandos, huesos, articulaciones y tracto genitourinario; sin embargo, la enfermedad pulmonar, linfadenitis y la infección diseminada son los problemas más comunes (Tabla 2).¹⁸

Tabla 1. Clasificación de Runyon.

A. Crecimiento lento	
I. Fotocromógenas	<i>M. kansasii</i> , <i>M. marinum</i> , <i>M. xenopi</i> , <i>M. simiae</i>
Producen cristales amarillos por exposición a la luz	
II. Escotocromógenas	<i>M. scrofulaceum</i> , <i>M. xenopi</i> , <i>M. gordonae</i> , <i>M. flavescens</i> , <i>M. szulgai</i>
Desarrollan un pigmento amarillo brillante en la luz y en la oscuridad	
III. No cromógenas	<i>M. avium-intracellulare</i> , <i>M. ulcerans</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. celatum</i> , <i>M. shimoidei</i> , <i>M. gastri</i> , <i>M. malmoense</i> , <i>M. nonchromogenicum</i>
No producen pigmento o producen una pequeña cantidad de pigmento amarillo pálido. Expuestas a la luz brillante no intensifican su coloración	
B. Crecimiento rápido	
IV. No cromógenas	<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>M. flavescens</i> , <i>M. neoaurum</i> , <i>M. vaccae</i> , <i>M. phlei</i> , <i>M. thermoresistible</i> , <i>M. canariensis</i> , <i>M. cosmeticum</i> , <i>M. monacense</i> , <i>M. psychrotolerans</i>

Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. Med Clin North Am. 1959; 43: 273-290. Tomado y modificado de: Arenas R. Micobacteriosis atípicas. En: Arenas R. Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento. 4ta. ed. México: Mc Graw Hill; 2009, pp. 395-397.

Tabla 2. Principales micobacterias ambientales que pueden causar enfermedad en seres humanos.

Species	Principales sitios de infección
<i>M. avium</i> ^a	Pulmonar
<i>M. intracellulare</i>	Ganglios linfáticos
<i>M. scrofulaceum</i>	Pulmonar, Ganglios linfáticos
<i>M. kansasii</i>	Pulmonar
<i>M. xenopi</i>	Pulmonar
<i>M. malmoense</i>	Pulmonar
<i>M. fortuitum</i>	Tejidos blandos/heridas quirúrgicas
<i>M. chelonae</i>	Tejidos blandos/heridas quirúrgicas
<i>M. ulcerans</i>	Tejidos blandos
<i>M. marinum</i>	Tejidos blandos/heridas quirúrgicas

^a El complejo de *M. avium intracellulare* (MAC), también es conocido como *M. avium intracellulare scrofulaceum* (MAIS). Tomado de Davies, PDO. The mycobacterioses. Imaging. 2008; 20: 252-263.



Figura 1. Granuloma de las piscinas. Nódulos eritemato-violáceos con diseminación linfangítica (nódulos esporotricoides).

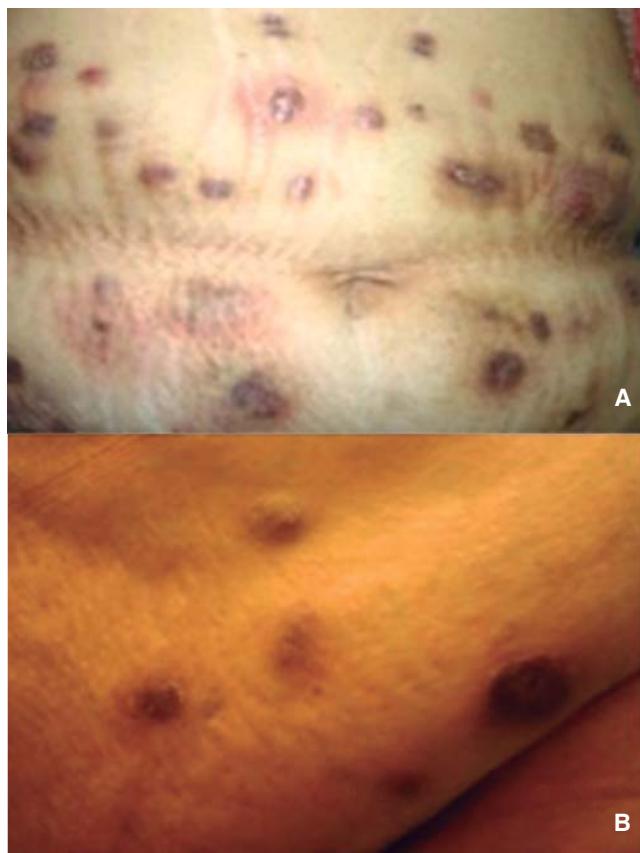


Figura 2. Abscesos por micobacterias no tuberculosas. A) Nódulos eritemato-violáceos con salida de material purulento, diseminados al abdomen de una paciente, la infección coincide con la aplicación previa de mesoterapia. B) Acercamiento.

- Piel y tejidos blandos

- Granuloma de las piscinas. Frecuentemente relacionado con el contacto con agua o pescado, traumatismos o heridas quirúrgicas.¹⁹ La topografía predominante es la mano, codo, rodilla y pie. La infección causada por *M. marinum* es la más conocida; se conoce también con el nombre de «granuloma de las piscinas». Las lesiones se desarrollan dos o tres semanas después de la infección; se presentan como nódulos únicos, múltiples o esporotricoides (*Figura 1*).^{3,20} Luego de uno a tres años, las lesiones podrían sanar espontáneamente y dejar una cicatriz residual.⁶
- Úlcera de Buruli. También llamada «micobacteriosis cutánea ulcerosa», se presenta debido a infección por *M. ulcerans*²¹ y es la tercera enfermedad más frecuente causada por micobacterias (tras la TB y la lepra). Esta especie puede ser inoculada en la piel intacta a través de traumatismos menores o puede colonizar lesiones preexistentes en la piel, donde los organismos proliferan y posteriormente causan las úlceras características.²² Despues de un periodo de incubación de aproximadamente tres meses, se generan úlceras anfractuosas de crecimiento rápido con amplias zonas de necrosis, especialmente en extremidades inferiores de niños y adolescentes. Las lesiones son indoloras y la enfermedad no es fatal, pero puede dar lugar a cicatrices invalidantes.¹⁹ Su reservorio natural se encuentra en lagos y ríos.
- Abscesos por micobacterias. Se adquieren a través de heridas o inoculación traumática durante procedimientos quirúrgicos o cosméticos (*Figura 2*). Entre las especies más relevantes se encuentran *M. haemophilum*,²³ *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus* y, más recientemente, *M. goodii*²⁴ y *M. masiliense*.²⁵

- Infecciones diseminadas. Se desarrollan con mayor frecuencia en pacientes severamente inmunocomprometidos, en especial aquellos con sida.³ Cuando se trata de enfermedad diseminada secundaria a *M. chelonae*, se observa padecimiento primariamente cutáneo, con nódulos rojos dolorosos, abscedados, que afectan con mayor frecuencia a extremidades inferiores.¹⁷

DIAGNÓSTICO

Debido a que las micobacterias son ubicuas en el ambiente, identificarlas y establecer la relación causal depende de una apropiada obtención de la muestra y estrictas prácticas de laboratorio para excluir una posible contaminación. Se debería considerar en el diagnóstico diferencial de cual-

quier infección crónica, fiebre de origen desconocido o enfermedad clínica localizada (abscesos, úlceras, nódulos o infiltrados) que no respondan al tratamiento antibiótico.²⁶

Histopatología

El estudio histológico convencional es de utilidad, ya que permite una estrategia rápida de aproximación diagnóstica de micobacteriosis. Sin embargo, frecuentemente carece de datos característicos durante los tres primeros meses²⁷ debido a que la morfología depende principalmente del tiempo de evolución de la lesión y del grado de inmunosupresión del paciente.²⁸

La sensibilidad de la microscopia está influenciada por varios factores (prevalencia y severidad del infiltrado, el tipo de muestra, la calidad de la muestra, el número de micobacterias presentes en la muestra, el método de procesamiento, técnica y calidad de la tinción).^{29,30} Tomando en cuenta estos factores, la sensibilidad de la microscopia se ha calculado en 22-65%.³¹

En las lesiones tempranas, se observa un infiltrado inflamatorio perivasicular e intersticial compuesto por linfocitos y neutrófilos. Las lesiones evolucionadas se caracterizan por mostrar granulomas que pueden ser incipientes o bien formados. Un granuloma se define como la colección de histiocitos, usualmente epitelioides. Existen varios tipos de granulomas;³² los que se encuentran con mayor frecuencia en los casos de micobacteriosis son:

- Granuloma sarcoidal «desnudo»: no presenta células inflamatorias diferentes a histiocitos epiteliales (Figura 3).

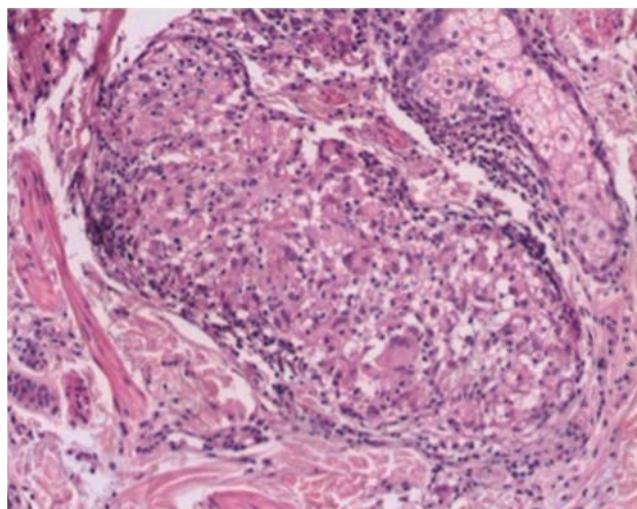


Figura 3. Granuloma sarcoidal.

- Granuloma tuberculoide: histiocitos epitelioides aliñeados en empalizada rodeados por linfocitos y células plasmáticas (Figura 4).
- Granuloma supurativo: absceso presente en una colección de histiocitos epitelioides (Figura 5).

Tinciones especiales

La microscopia con tinciones ácido-alcohol resistentes es la herramienta más rápida y menos costosa para la identificación de infecciones por micobacterias.³¹ Su

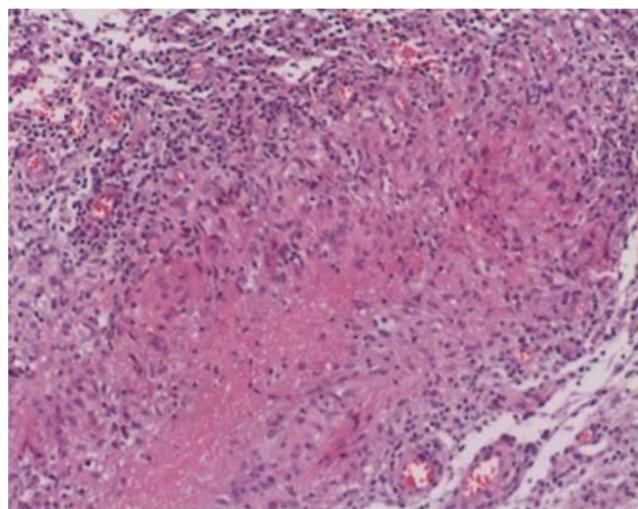


Figura 4. Granuloma tuberculoide.

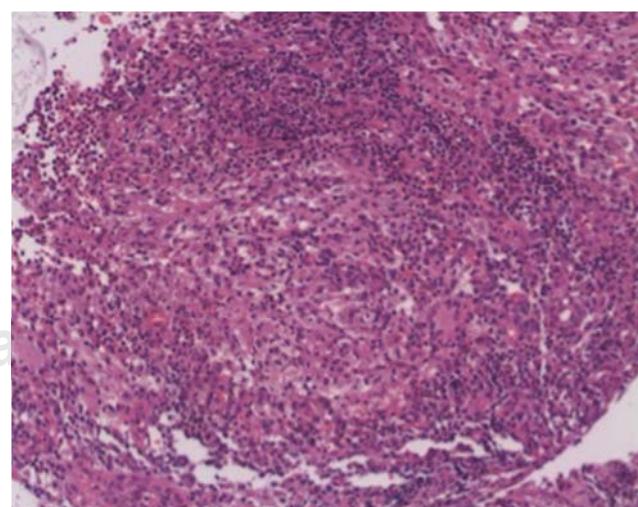


Figura 5. Granuloma supurativo.

sensibilidad se ve afectada por varios factores, como la prevalencia y severidad de la enfermedad por MNT, el tipo de espécimen, la calidad de la muestra, el número de MNT presentes, el método de procesado, el método de centrifugación y, especialmente, la técnica de tinción y la calidad del observador.^{31,33}

Se sugiere reportar un resultado negativo después de examinar con aceite de inmersión al menos 300 campos microscópicos. Una microscopia realizada correctamente puede ser tediosa y consumir mucho tiempo. En ocasiones, la fatiga puede dar lugar al reporte de un resultado falso negativo, disminuyendo aún más la sensibilidad de la prueba.³⁴

Los métodos principales de tinción alcohol-ácido resistentes son la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) y la tinción de Kinyoun.³⁵ Para la realización de la ZN se debe tener un frotis seco y fijado, el cual adquiere su coloración gracias al contacto de fucsina y calor; se procede a decolorar con alcohol-ácido y se adiciona azul de metileno para obtener la coloración de contraste. Las MNT se ven de color rosa sobre un fondo azul (*Figura 6*). El método de Kinyoun es una modificación del ZN que excluye el paso del calentamiento durante la fijación y, por lo tanto, usa una concentración mayor de fucsina básica.³⁶ La tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) es positiva en solamente un 9 a 13% de infecciones por *M. marinum* localizadas.³⁷ Estudios cuantitativos han mostrado que se requieren al menos 5,000 a 10,000 bacilos por milímetro de muestra para permitir la detección de micobacterias en estos casos.³⁸

Otras tinciones que pueden ser de utilidad son auramina-rodamina y fite-faraco.³⁹ La tinción de auramina-rodamina facilita la observación gracias al contraste que se obtiene al aplicar fluorocromos a las MNT, que resaltan contra un fondo más oscuro. Sin embargo, puede teñir otras bacterias dañadas por medicamentos antituberculosos y conducir a un mayor número de resultados falsos-positivos.²⁹

Cultivos

El cultivo de micobacterias se considera el estándar de oro para el diagnóstico de micobacteriosis atípicas;²⁷ sin embargo, puede requerir de tres a seis semanas y la detección microscópica de bacilos ácido-alcohol resistentes requiere un gran número de bacterias en la muestra (10⁴/mL).¹

El diagnóstico depende de la identificación de la micobacteria infectante usando medios de cultivo estandarizados, así como métodos especiales. La mayoría de las MNT puede crecer en medios específicos, tales como Lowenstein-Jensen (LJ) (*Figura 7*), Middlebrook y Dubos-Broth/Agar.⁴⁰ En el medio de LJ se ha visto una sensibilidad de 70-80% para detección de *M. marinum*,⁴¹ aunque se han descrito resultados mucho menores en otras series.⁴²

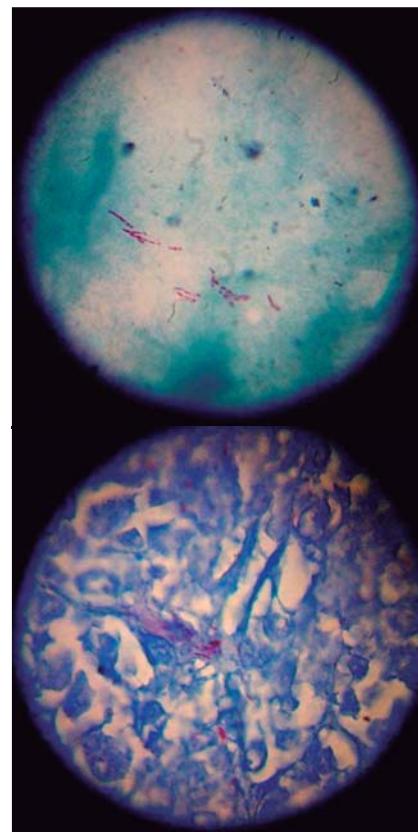


Figura 6. Observación de bacilos con el método de Kinyoun.



Figura 7. Cultivo en Lowenstein-Jensen.

Sistemas radiométricos como el medio BACTEC han demostrado una mayor sensibilidad para el cultivo de MAC.^{40,43}

Para identificar la mayoría de las micobacterias de importancia médica se puede analizar su grado de crecimiento, pigmentación de las colonias y pruebas bioquímicas: producción de niacina, reducción de nitrato, hidrólisis de tween-80, arilsulfatasa, ureasa, reducción de telurito, catalasa (cuantitativa y cualitativa), crecimiento en agar MacConkey y tolerancia al cloruro de sodio. Sin embargo, estas pruebas son laboriosas y pueden no ser concluyentes para algunas cepas.²⁶

Técnicas moleculares

La reacción en cadena de polimerasa es un método sensible (88%) y específico (83%) para el diagnóstico de infección por MNT;³⁸ sin embargo, el diagnóstico final debe fundamentarse en un correcto estudio clínico del paciente y otras pruebas diagnósticas complementarias, como el crecimiento en cultivo de micobacterias y los hallazgos histopatológicos.

La subunidad 16S rRNA es el polirribonucleótido más utilizado para la identificación de especies, cuenta con más de 90.000 secuencias de numerosos géneros bacterianos en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).⁴⁴ Otros genes empleados con frecuencia son hsp65, ropB y sod.⁴⁵⁻⁴⁷

TRATAMIENTO

El tratamiento efectivo de las infecciones por MNT incluye procedimientos quirúrgicos y administración de antibióticos.⁴⁸

Tratamiento médico: Idealmente, el tratamiento médico de las infecciones por MNT debería ser sustentado sobre los perfiles de sensibilidad a medicamentos de las MNT más frecuentes de cada lugar, por lo que el reconocimiento de la especie causal constituye el paso clave para el manejo de estas infecciones.⁴⁹ Se sugiere una combinación de antibióticos administrados por tiempo suficiente para asegurar la curación completa y minimizar recurrencias.⁵⁰ Se recomienda la administración de amikacina con ciprofloxacina⁵¹ o amikacina con cefoxitina⁴⁸ en el caso de pacientes con una sospecha clínica firme para infección por MNT y que se encuentran a la espera de resultados de pruebas de sensibilidad a antimicrobianos.

M. kansasii es generalmente susceptible al tratamiento antituberculoso convencional (rifampicina, etambutol, estreptomicina e isoniazida), con la excepción de pirazinamida.⁵² En cepas resistentes a rifampicina o isoniazida, se recomienda claritromicina, fluoroquinolonas (levofloxacina o moxifloxacina) y, en particular, linezolid, solos o combinados.⁵³⁻⁵⁵

El tratamiento de *M. ulcerans* comprende amino-glucósidos, macrólidos, quinolonas y rifampicina,⁵⁶ a lo cual se añade el tratamiento quirúrgico como una piedra fundamental de su manejo.⁵⁷

En infecciones causadas por el grupo de *M. fortuitum*, la terapia incluye amikacina, cefoxitina, imipenem y fluoroquinolonas. La claritromicina y la doxiciclina son agentes orales efectivos.⁵¹ El tratamiento recomendado para infecciones causadas por *M. cheloneae* y *M. abscessus* incluye claritromicina en combinación con un agente inyectable, tal como amikacina y cefoxitina. Cuando se trata de infecciones localizadas, la cirugía se usa para mejorar el tratamiento de estos pacientes al disminuir la cantidad de bacterias y remover a los organismos cubiertos por biofilms.^{58,59}

Las cepas de *M. marinum* son susceptibles a claritromicina, sulfonamidas, tetraciclinas, rifampicina y etambutol;¹⁷ se requiere administrar dos o tres medicamentos para infecciones cutáneas significativas o enfermedad diseminada.⁶⁰ Para infecciones severas, se recomienda una combinación con rifampicina y etambutol,¹⁹ mientras que en el caso de las infecciones locales o no complicadas se indica monoterapia con claritromicina, minociclina, doxiciclina y trimetoprima-sulfametoxazol.^{58,61} La duración del tratamiento es de tres a seis meses para infección localizada y 12 o más meses para enfermedad diseminada.⁶²

Profilaxis: Se recomienda quimioprofilaxis para MAC en pacientes con cuentas de CD4 < 50 células/uL sin evidencia de infección, con claritromicina o azitromicina, el último puede ser combinado con rifabutina.¹⁷

Correspondencia:

María Alexandra Mancheno-Valencia

División de Dermatología del Hospital General

«Dr. Manuel Gea González»

Av. Calzada de Tlalpan núm. 4800,

Col. Tlalpan, Sección XVI, 14080, México, D.F.

Tel: +52 (55) 4000 3000

E-mail: aleja_mv@yahoo.com

BIBLIOGRAFÍA

1. Godoy MJ, Orozco L, Hernández C, Da Mata O, De Waard J, González-Rico S. Identificación de micobacterias no tuberculosas: comparación de métodos bioquímicos y moleculares. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2008; 28: 96-104.
2. Han XY, Sizer KC, Thompson EJ et al. Comparative sequence analysis of *Mycobacterium leprae* and the new leprosy-causing *Mycobacterium lepromatosis*. *J Bacteriol.* 2009; 191: 6067-6074.
3. Arenas R. Micobacteriosis atípicas. In: Arenas R, ed. Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento. 4th ed. México: Mc Graw Hill; 2009. pp. 395-397.
4. Falkinham JO. The changing pattern of nontuberculous mycobacterial disease. *Can J Infect Dis.* 2003; 14: 281-286.
5. Pinner M. Atypical acid fast microorganisms. *Am Rev Tuberc.* 1935; 32: 424-445.
6. Palenque E. Skin disease and nontuberculous atypical mycobacteria. *Int J Dermatol.* 2000; 39: 659-666.
7. Falkinham JO 3rd. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9: 177-215.
8. Saleeb P, Olivier KN. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease: new insights into risk factors for susceptibility, epidemiology, and approaches to management in immunocompetent and immunocompromised patients. *Curr Infect Dis Rep.* 2010; 12: 198-203.
9. Chapman JS. The ecology of the atypical mycobacteria. *Arch Environ Health.* 1971; 22: 41-46.
10. Falkinham JO 3rd. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J Appl Microbiol.* 2009; 107: 356-367.
11. Baquero-Artigao F. Infección pediátrica por micobacterias no tuberculosas. *An Pediatr (Barc).* 2005; 62: 458-466.
12. Zakowski P, Fligiel S, Berlin GW, Johnson L, Jr. Disseminated *Mycobacterium avium*-intracellular infection in homosexual men dying of acquired immunodeficiency. *JAMA.* 1982; 248: 2980-2982.
13. Horsburgh CR, Jr. Epidemiology of mycobacterial diseases in AIDS. *Res Microbiol.* 1992; 143: 372-377.
14. Sanders JW, Walsh AD, Snider RL, Sahn EE. Disseminated *Mycobacterium scrofulaceum* infection: a potentially treatable complication of AIDS. *Clin Infect Dis.* 1995; 20: 549.
15. Alvarado-Esquível C, García-Corral N, Carrero-Dominguez D et al. Molecular analysis of *Mycobacterium* isolates from extra-pulmonary specimens obtained from patients in Mexico. *BMC Clin Pathol.* 2009; 9: 1.
16. Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med Clin North Am.* 1959; 43: 273-290.
17. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 175: 367-416.
18. Davies P. The mycobacterioses. *Imaging.* 2008; 20: 252-263.
19. Tortoli E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15: 906-910.
20. Blackwell V. *Mycobacterium marinum* infections. *Curr Opin Infect Dis.* 1999; 12: 181-184.
21. Walsh DS, Portaels F, Meyers WM. Buruli ulcer (*Mycobacterium ulcerans* infection). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102: 969-978.
22. Ross BC, Johnson PD, Oppedisano F et al. Detection of *Mycobacterium ulcerans* in environmental samples during an outbreak of ulcerative disease. *Appl Environ Microbiol.* 1997; 63: 4135-4138.
23. Saubolle MA, Kiehn TE, White MH, Rudinsky MF, Armstrong D. *Mycobacterium haemophilum*: microbiology and expanding clinical and geographic spectra of disease in humans. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9: 435-447.
24. Brown BA, Springer B, Steingrube VA et al. *Mycobacterium wolinskyi* sp. nov. and *Mycobacterium goodii* sp. nov., two new rapidly growing species related to *Mycobacterium smegmatis* and associated with human wound infections: a cooperative study from the International Working Group on Mycobacterial taxonomy. *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49 Pt 4: 1493-1511.
25. 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: 850-855.
26. Katoch VM. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). *Indian J Med Res.* 2004; 120: 290-304.
27. Witteck A, Ohlschlegel C, Boggian K. Delayed diagnosis of atypical mycobacterial skin and soft tissue infections in non-immunocompromised hosts. *Scand J Infect Dis.* 2008; 40: 877-880.
28. Santa Cruz DJ, Strayer DS. The histologic spectrum of the cutaneous mycobacterioses. *Hum Pathol.* 1982; 13: 485-495.
29. Lipsky BA, Gates J, Tenover FC, Plior JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis.* 1984; 6: 214-222.
30. Peterson EM, Nakasone A, Platon-DeLeon JM, Jang Y, de La Maza LM, Desmond E. Comparison of direct and concentrated acid-fast smears to identify specimens culture positive for *Mycobacterium* spp. *J Clin Microbiol.* 1999; 37: 3564-3568.
31. Salfinger M, Pfyffer GE. The new diagnostic mycobacteriology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994; 13: 961-979.
32. Ackerman A. Atypical mycobacterial / deep fungal infections. In: Ackerman A, ed. *Histologic diagnosis of inflammatory skin disease.* 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. pp. 215-225.
33. Kent P, Kubica G. Public health mycobacteriology. A guide for a level III laboratory. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention 1985.
34. Somoskovi A, Mester J, Hale YM, Parsons LM, Salfinger M. Laboratory diagnosis of nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med.* 2002; 23: 585-597.
35. Somoskovi A, Hotaling JE, Fitzgerald M, O'Donnell D, Parsons LM, Salfinger M. Lessons from a proficiency testing event for acid-fast microscopy. *Chest.* 2001; 120: 250-257.
36. Kinyoun JJ. A note on uhlenhuth's method for sputum examination, for *Tubercle bacilli*. *Am J Public Health (NY).* 1915; 5: 867-870.
37. Weitzl S, Eichhorn PJ, Pandya AG. Nontuberculous mycobacterial infections of the skin. *Dermatol Clin.* 2000; 18: 359-377, xi-xii.
38. Abdalla CM, de Oliveira ZN, Sotto MN, Leite KR, Canavez FC, de Carvalho CM. Polymerase chain reaction compared to other laboratory findings and to clinical evaluation in the diagnosis of cutaneous tuberculosis and atypical mycobacteria skin infection. *Int J Dermatol.* 2009; 48: 27-35.
39. Smith MB, Schnadig VJ, Boyars MC, Woods GL. Clinical and pathologic features of *Mycobacterium fortuitum* infections. An emerging pathogen in patients with AIDS. *Am J Clin Pathol.* 2001; 116: 225-32.

40. Anargyros P, Astill DS, Lim IS. Comparison of improved BACTEC and Lowenstein-Jensen media for culture of mycobacteria from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1990; 28: 1288-1291.
41. Gluckman SJ. *Mycobacterium marinum.* *Clin Dermatol.* 1995; 13: 273-276.
42. Ang P, Rattana-Apiromyakij N, Goh CL. Retrospective study of *Mycobacterium marinum* skin infections. *Int J Dermatol.* 2000; 39: 343-347.
43. Evans KD, Nakasone AS, Sutherland PA, de la Maza LM, Peterson EM. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*-M. *intracellulare* directly from primary BACTEC cultures by using acridinium-ester-labeled DNA probes. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 2427-2431.
44. Clarridge JE, 3rd. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2004; 17: 840-862, table of contents.
45. Cheng MY, Hartl FU, Martin J et al. Mitochondrial heat-shock protein hsp60 is essential for assembly of proteins imported into yeast mitochondria. *Nature.* 1989; 337: 620-625.
46. Adekambi T, Drancourt M, Raoult D. The *rpoB* gene as a tool for clinical microbiologists. *Trends Microbiol.* 2009; 17: 37-45.
47. Dong Y, Demaria S, Sun X et al. HLA-A2-restricted CD8+-cytotoxic-T-cell responses to novel epitopes in *Mycobacterium tuberculosis* superoxide dismutase, alanine dehydrogenase, and glutamine synthetase. *Infect Immun.* 2004; 72: 2412-2415.
48. 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: 1347-1352.
49. Esteban J, Garcia-Pedraza M, Munoz-Egea MC, Alcaide F. Current treatment of nontuberculous mycobacteriosis: an update. *Expert Opin Pharmacother.* 2012; 13: 967-986.
50. 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: 18-24.
51. Muthusami JC, Vyas FL, Mukundan U, Jesudason MR, Govil S, Jesudason SR. *Mycobacterium fortuitum*: an iatrogenic cause of soft tissue infection in surgery. *ANZ J Surg.* 2004; 74: 662-666.
52. Sun Z, Zhang Y. Reduced pyrazinamidase activity and the natural resistance of *Mycobacterium kansasii* to the antituberculosis drug pyrazinamide. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 537-542.
53. Van Ingen J, van der Laan T, Dekhuijzen R, Boeree M, van Soolingen D. In vitro drug susceptibility of 2275 clinical non-tuberculous *Mycobacterium* isolates of 49 species in The Netherlands. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 35: 169-173.
54. Alcaide F, Calatayud L, Santin M, Martin R. Comparative in vitro activities of linezolid, telithromycin, clarithromycin, levofloxacin, moxifloxacin, and four conventional antimycobacterial drugs against *Mycobacterium kansasii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 4562-4565.
55. Brown-Elliott BA, Crist CJ, Mann LB, Wilson RW, Wallace RJ, Jr. In vitro activity of linezolid against slowly growing nontuberculous *Mycobacteria*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 1736-1738.
56. Sarfo FS, Phillips R, Asiedu K, et al. Clinical efficacy of combination of rifampin and streptomycin for treatment of *Mycobacterium ulcerans* disease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54: 3678-3685.
57. Debacker M, Aguiar J, Steunou C, Zinsou C, Meyers WM, Portaels F. Buruli ulcer recurrence, Benin. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 584-589.
58. Esteban J, Ortiz-Perez A. Current treatment of atypical mycobacteriosis. *Expert Opin Pharmacother.* 2009; 10: 2787-2799.
59. Nessar R, Cambau E, Reyrat JM, Murray A, Gicquel B. Mycobacterium abscessus: a new antibiotic nightmare. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67: 810-818.
60. Aubry A, Jarlier V, Escolano S, Truffot-Pernot C, Cambau E. Antibiotic susceptibility pattern of *Mycobacterium marinum*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3133-3136.
61. Dolenc-Voljc M, Zolnir-Dovc M. Delayed diagnosis of *Mycobacterium marinum* infection: A case report and review of the literature. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* 2010; 19: 35-39.
62. Parrish N, Luethke R, Dionne K, Carroll K, Riedel S. Case of *Mycobacterium marinum* infection with unusual patterns of susceptibility to commonly used antibiotics. *J Clin Microbiol.* 2011; 49: 2056-2058.