

Expertos Invitados

● LA SULFONILUREA COMBINADA CON INSULINA MEJORA EL CONTROL GLUCEMICO EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2



Columnista Experto de SIIC
Dra. Carole A. Cull

University Research Lecturer. Specialization field: Medical statistician

Introducción

El enfoque tradicional de manejo de la hiperglucemia en pacientes con diabetes tipo 2 ha sido el de un proceso lento, progresivo, que se inicia con cambios en el estilo de vida, continúa con agentes orales y finalmente pasa a la administración de insulina. Este enfoque está cuestionado (1) desde de la publicación de los resultados del *UK Prospective Diabetes Study* (UKPDS), que demostró que la política de control intensivo de la glucemia con sulfonilurea, insulina o metformina en pacientes con sobrepeso, iniciado inmediatamente después del diagnóstico, reduce sustancialmente el riesgo de complicaciones diabéticas (2). Los resultados del UKPDS apoyan un enfoque más acelerado del control de la glucemia en la diabetes tipo 2, con monoterapia al principio, y utilización precoz de politerapia para lograr un valor de HbA_{1c} inferior al 7%, que es el recomendado actualmente (3). De todos modos, persiste la preocupación acerca del aumento de las tasas de hipoglucemia y del peso en pacientes que usan estos regímenes de tratamiento más intensivos.

En 15 de los 23 centros participantes del UKPDS se mantuvo a los pacientes con la monoterapia asignada por tanto tiempo como fuera posible, para poder evaluar si alguna de ellas puede prevenir o retardar la aparición de enfermedad microvascular. A pesar del uso precoz de monoterapia oral o insulínica, se notó hiperglucemia progresiva en todos los grupos de pacientes (2). En 8 de los 23 centros se usó un protocolo modificado con el agregado de insulina basal cuando con dosis máximas de sulfonilurea no se podía mantener la glucemia de ayunas (GA) < 6 mmol/l. Los resultados de este subestudio demostraron que el agregado precoz de insulina puede mejorar significativamente el control de la glucemia, sin promover mayor hipoglucemia o ganancia de peso (4). En esta revisión se resumen los resultados de dicho subestudio (estudio 2) y se discute el papel de la politerapia con las preparaciones actualmente disponibles.

Métodos y resultados

Los pacientes del estudio 2, derivados a 8 hospitales del Reino Unido entre abril de 1987 y marzo de 1991 con diagnóstico reciente de diabetes tipo 2 (GA > 6 mmol/l en dos ocasiones), no tenían características diferentes de los del resto del estudio. Los criterios de exclusión y los detalles del protocolo (5) junto con los métodos de reclutamiento y ensayos clínicos y bioquímicos ya han sido descritos (2,6). En el estudio 2 se incluyeron 826 pacientes. De ellos, 242 (29%) fueron aleatoriamente asignados a un tratamiento convencional de control de la glucemia, comenzando con dieta, mientras que 584 (71%) recibieron tratamiento de control intensivo de la glucemia. De estos últimos, 245 (30%) fueron tratados con insulina basal sola (I), mientras que 339 (41%) recibieron una sulfonilurea con agregado precoz de insulina (S & I): 169 (20%) recibió clorpropamida, y 170 (21%) glipizida.

El objetivo del tratamiento convencional de control de la glucemia era lograr la mejor GA posible

sólo con dieta, pero cuando la GA aumentaba a >15.0 mmol/l o había síntomas de hiperglucemia, los pacientes eran secundariamente aleatorizados a tratamiento farmacológico con clorpropamida (28%), glipizida (28%) o insulina (44%) en dosis suficientes como para aliviar los síntomas y mantener una GA 6.0 mmol/l. Además se adicionaba insulina soluble humana si los niveles de glucemia preprandial permanecían >7 mmol/l.

El 59% de los 826 pacientes eran hombres, 79% de raza blanca, 5% afrocaribeños y 16% indoasiáticos. La edad promedio al momento del diagnóstico era 52 años (desviación estándar [DE] = 9). Al momento de la aleatorización la GA promedio era de 8.3 (rango intercuartilo [RIC], 7.2-10.1) mmol/l, peso promedio 81 kg (DE = 17), índice de masa corporal 28.8 (DE = 5.8), y presión arterial 132 (DE = 20) mm Hg y 81 (DE = 10) mm Hg. Durante el estudio, hubo aumento sostenido en la proporción de pacientes a los que el tratamiento con sulfonilurea resultaba insuficiente, y 53% de ellos requirieron tratamiento adicional con insulina además de la insulina basal (22% de los que recibían clorpropamida y 16% de los que recibían glipizida), al igual que los que recibían insulina sola (21%, P = 0.18).

Tanto los pacientes del grupo S ± I como los del I mantuvieron niveles de GA significativamente por debajo del grupo de tratamiento convencional (figura 1).

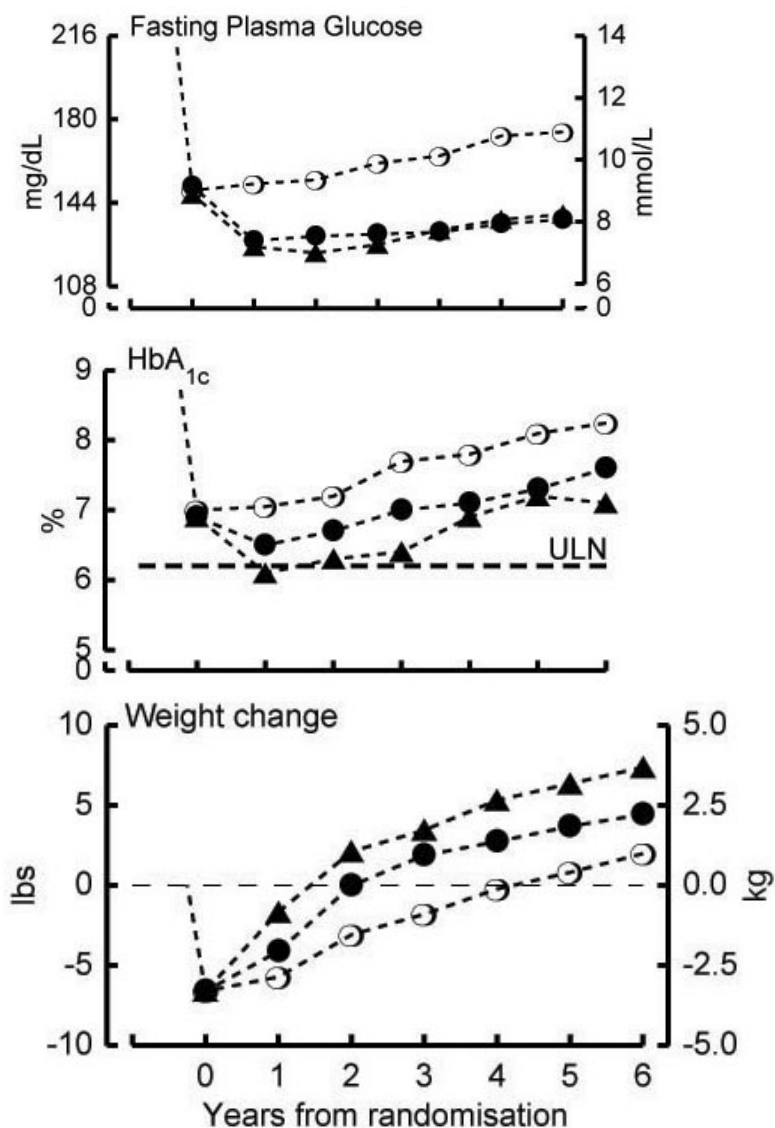


Figura 1. Fasting plasma glucosa: glucemia en ayunas
 ULN: límite superior de normalidad
 Weight change: modificación en el peso
 Years from randomisation: años a partir de la aleatorización.

La HbA_{1c} promedio a lo largo de los seis años fue significativamente inferior para el grupo S ± I (6.6% [6.0-7.6]) que para los que recibieron solamente insulina (7.1% [6.2-8.01]; P = 0.0066). La proporción de pacientes con HbA_{1c} vs. 35%; P = 0.011). Las dosis promedio (RIC) de insulina a los seis años era inferior en el grupo S ± I (0.24 U/kg [0.16-0.40]) que en el grupo I (0.31 U/kg [0.24- 0.40]; P = 0.0049). No hubo diferencias entre clorpropamida y glipizida. Mientras que la ganancia de peso fue mayor en los grupos de control intensivo en comparación con el de tratamiento convencional, no hubo diferencias estadísticamente significativas al ajustar según las diferencias en el peso inicial. Los episodios más importantes de hiperglucemia ocurrieron con menos frecuencia en el grupo S ± I (1.6% por año) comparado con el grupo I (3.2% por año; P = 0.0033).

Discusión

La politerapia con agentes con diferente acción farmacológica se está volviendo cada vez más común (7) (1). En numerosos ensayos clínicos se ha comentado la combinación de insulina con una sulfonilurea (8) (9) (10), con reducción de HbA_{1c} en la mayoría, pero no en todos los estudios (11). Estas combinaciones han sido revisadas por Buse y sujetas a metaanálisis por Johnson (12). La reducción en HbA_{1c} ha sido generalmente lograda con una dosis inferior de insulina, menos hipoglucemia y menor ganancia de peso que cuando se usa insulina sola. El estudio 2 del UKPDS coincide con ellos, pero adicionalmente contiene dos características especiales: la insulina se usó al principio de la resistencia a la sulfonilurea, y el estudio duró seis años.

No sería de esperar que la combinación de sulfonilurea e insulina, ambas productoras de aumento de los niveles de insulina, logren mejor control de la glucemia que la insulina sola en dosis mayores. Sin embargo, como una modifica la glucemia de ayunas y la otra la prandial, la mejora en el control nocturno y la reducción de la toxicidad de la glucosa pueden permitir que las sulfonilureas actúen en forma más efectiva durante la ingesta de alimentos (13). La reducción de la hipoglucemia coincide con el hecho de que la sulfonilurea permite la normal regulación negativa de la insulina endógena cuando cae la glucemia. Esta separación de los requerimientos de insulina basal de los prandiales es fácil de enseñar y permite que el inicio de la terapia insulínica sea simple y segura (DeWitt & Dugdale 2003).

En el estudio 2 del UKPDS no se vieron diferencias en la ganancia de peso al usar la politerapia comparada con insulina sola y otros estudios demostraron menor ganancia de peso (14). Se notó menor ganancia de peso con insulina glargine que con insulina basal NPH (8). Es posible que la insulina glargina brinde mejor cobertura basal con menor riesgo de hipoglucemia (15). La falta de ganancia de peso, el uso de nuevos dispositivos para las inyecciones y la menor tasa de hipoglucemia con la insulina glargina puede hacer que los pacientes acepten más fácilmente la terapia con insulina.

Los resultados del estudio 2 del UKPDS muestran los beneficios de la combinación de sulfonilurea con insulina, mientras que otros estudios evidencian resultados similares con el tratamiento con metformina e insulina (16). Nosotros apoyamos la necesidad de agregar insulina en forma precoz, tan pronto como el tratamiento oral sea inadecuado, con el fin de lograr los objetivos. El tiempo que se deberá continuar administrando sulfonilurea una vez que se empezó el tratamiento con insulina dependerá principalmente de que del aporte endógeno de insulina sea adecuado. La función de las células beta no fue formalmente evaluada en el UKPDS, pero la incapacidad de mantener un control glucémico preprandial adecuado puede ser un buen indicador de que la secreción endógena de insulina no es adecuada y que la sulfonilurea no es más efectiva.

Una vez que se ha establecido qué valor de HbA_{1c} es adecuado para el paciente, se iniciarán cambios en el estilo de vida y tratamiento con monoterapia oral si este valor es excedido, y no se deberá esperar a que haya un aumento en los síntomas o que aparezcan complicaciones. Se debe considerar la politerapia con insulina en forma precoz en el proceso, antes de pasar al tratamiento con insulina sola.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nathan DM. Initial management of glycemia in type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* 2002;347:1342-1349.
2. UKPDS Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-853.
3. Standards of Medical Care for patients with Diabetes Mellitus: ADA Position statement. *Diabetes Care* 2002;25(supplement 1):33-49.
4. Wright A, Burden ACF, Paisey RB, Cull CA, Holman RR. Efficacy of addition of insulin over 6 years in patients with type 2 diabetes in the U. K. Prospective Diabetes Study (UKPDS 57). *Diabetes Care* 2002;25:330-336.
5. UKPDS Group. UK Prospective Diabetes Study VIII: Study design, progress and performance. *Diabetologia* 1991;34:877-890.
6. UKPDS Group. UK Prospective Diabetes Study XI: Biochemical risk factors in type 2 diabetic patients at diagnosis compared with age-matched normal subjects. *Diabetic Medicine* 1994;11:534-544.
7. Buse J. Combining insulin and oral agents. *American Journal of Medicine* 2000;108 (6A):23S-32S.
8. Rosenstock J, Schwartz SL, Clark CM. Basal insulin therapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:631-636.
9. Yki-Jarvinen H, Ryysey L, Nikkila K. Comparison of bedtime insulin regimens in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomised controlled trial. *Annals of Internal Medicine* 1999;130:389-396.
10. Yki-Jarvinen H, Dressler A, Ziemer M. Less nocturnal hypoglycemia and better post-dinner glucose control with bedtime insulin glargine compared with bedtime NPH insulin during insulin combination therapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:1130-1136.
11. Stehouwer AU, DeVries MHA, Lumeij JH. Combined bedtime insulin-daytime sulphonylurea regimen compared with two different daily insulin regimens in type 2 diabetes: effects on HbA (1c) and hypoglycaemia rate - a randomised trial. *Diabetes-Metabolism research and reviews* 2003;19:148-152.
12. Johnson JL, Wolf SL, Kabadi UM. Efficacy of insulin and sulphonylurea combination therapy in type II diabetes. A meta-analysis of the randomised placebo-controlled trials. *Archives of Internal Medicine* 1996;156:259-264.
13. Riddle MC. Timely Addition of Insulin to Oral Therapy for Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2002;25:395-396.
14. Yki-Järvinen H, Kauppila M, Kujansuu E, Lahti J, Marjanen T, Niskanen L, et al. Comparison of insulin regimens in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* 1992;327:1426-1433.
15. Fritsche A, Schweitzer MA, Haring HU. Glimepiride combined with morning insulin glargine, bedtime neutral protamine Hagedorn insulin, or bedtime insulin glargine in patients with type 2 diabetes - A randomized, controlled trial. *Annals of Internal Medicine* 2003;138:952-959.
16. Aviles-Santa L, Sinding J, Raskin P. Effects of metformin in poorly controlled insulin-treated type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of Internal Medicine* 1999;131:182-188.

MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS RECIENTEMENTE RECONOCIDAS EN HUMANOS



Columnista Experto de SIIC
Dra. Barbara Brown-Elliott

Senior Research Scientist. Mycobacteriology

Introducción

Al disminuir el uso de métodos menos eficientes y confiables para la identificación de las micobacterias no tuberculosas (MNT), tales como las tasas de crecimiento y pigmentación, y el análisis bioquímico, y al surgir técnicas moleculares más exactas y cuantificables, el número de especies de MNT reconocidas está aumentando rápidamente (1).

En el centro de esta nueva taxonomía genotípica de MNT está el gen ARNr 16S, una secuencia de aproximadamente 1 500 nucleótidos codificada por el ADN ribosómico (ADNr) 16S. Si bien es un gen altamente conservado dentro del genoma de las micobacterias, hay segmentos de nucleótidos que varían entre especies. Dos regiones hipervariables, conocidas como regiones A y B, que corresponden a las posiciones 130-210 y 430-500, respectivamente, de *Escherichia coli*, son los

sitios de diferenciación entre la mayoría de las especies de micobacterias (1,2).

La proteína de shock térmico de 65 kDa (hsp 65) también está altamente conservada en el genoma de las micobacterias, pero muestra mucha mayor diversidad alélica que el gen ARNr 16S. Una porción variable de este gen, una secuencia de 441 pb también conocida como fragmento Telenti (2,3), está siendo utilizada para secuenciamiento o análisis de patrón de enzima de restricción por PCR (ARP) como otra forma de comparación molecular de especies.

Otros métodos de laboratorio que han facilitado mucho la identificación de nuevas especies incluyen la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, *high performance liquid chromatography*), la cromatografía de gas-líquido (GLC, *gas liquid chromatography*), y la cromatografía de capa fina (TLC, *thin layer chromatography*), que analizan los ácidos micólicos y los ácidos grasos de la pared celular (4).

Los análisis de cultivos y bioquímicos, y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana aún son usados en la identificación de las MNT, especialmente entre las especies de micobacterias de crecimiento rápido (MCR).

Micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido (MCR)

El *Mycobacterium mucogenicum*, antes llamado microorganismo tipo *M. chelonae* u OTMC, fue reconocido por primera vez en 1982 como el responsable del brote de peritonitis en dos unidades de diálisis (5). En 1995, fue oficialmente bautizado como *M. mucogenicum* (6). Esta especie se encuentra más frecuentemente como contaminante en las muestras respiratorias. Sin embargo, también se ha informado infección a nivel de los catéteres venosos centrales, y es la situación en la que con más frecuencia se cita a esta especie como patógena. En una serie de 20 casos de enfermedades clínicas causadas por *M. mucogenicum*, 9 (45%) fueron de la sangre y catéteres de pacientes con vías centrales infectadas. La especie es sensible a muchas drogas incluyendo aminoglucósidos, cefoxitina, claritromicina, quinolonas, imipenem, linezolid, y generalmente sulfonamidas. La susceptibilidad a las tetraciclinas es variable. Taxonómicamente, la especie tradicionalmente se caracteriza por su susceptibilidad a cefalotina (7). El patrón de HPLC se caracteriza por dos grupos de picos separados. Recientemente, el análisis de secuencia del gen ARNr 16S mostró que una de las cepas examinadas tenía una discordancia de 40 bases dentro de la región hipervariable B. De igual modo, se notó más de un patrón ARP de hsp (1).

Mycobacterium goodii (así denominada por Robert Good, ex director del *Mycobacteriology Branch of the Centers for Disease Control and Prevention* [CDC]) es uno de los dos miembros recientemente descritos del grupo de *M. smegmatis*. En una serie de 28 infecciones por *M. goodii*, 12/18 (43%) fueron infecciones de heridas postraumáticas; 21% fueron casos de neumonía lipoidea, y otro 21% se asoció a sepsis por catéter e infecciones de heridas posquirúrgicas (8).

Con el uso de técnicas bioquímicas y de cultivo convencionales, los cultivos de *M. goodii* están estrechamente relacionados con *M. smegmatis* en casi el 80% de los casos. Su característica fenotípica más distintiva es la lectura negativa de arilsulfatasa a los 3 días y la habitual pigmentación tardía amarilla, luego de 10-14 días de incubación (9). Los cultivos de *M. goodii* tienen un patrón de HPLC, una secuencia 16S y un patrón ARP hsp 65 únicos. Los cultivos son susceptibles a amikacina, tetraciclinas, imipenem, quinolonas, sulfonamidas, y etambutol. Al igual que otros miembros del grupo *M. smegmatis*, son típicamente resistentes a claritromicina. La prueba de susceptibilidad en discos a tobramicina puede ser útil en la identificación fenotípica de la especie. Un tamaño de zona intermedio (11-30 mm) no coincide con el de los cultivos de *M. smegmatis* que tiene zonas > 30 mm, ni con el tercer miembro de este grupo, *M. wolinskyi*, que tiene zonas ≤ 10 mm (8).

M. wolinskyi, llamada así por Emanuel Wolinsky, un pionero en los estudios de MNT, es la segunda especie nueva que se debe reconocer dentro del grupo de *M. smegmatis*. En cultivos y análisis bioquímicos convencionales, *M. wolinskyi* es similar a *M. smegmatis*. La alta concentración inhibitoria mínima (CIM) de tobramicina (2-8 µg/ml) distingue a esta especie de otros miembros del grupo *M. smegmatis*. Si bien los cultivos de *M. wolinskyi* tienen perfiles de HPLC similares a los

de *M. smegmatis*, *M. wolinskyi* se caracteriza por picos más altos en el primer grupo (1,8).

Por hibridación ADN-ADN, los cultivos están más relacionados con *M. mageritense*. Al igual que esta cepa, *M. wolinskyi* carece de la inserción de citosina en la hélice 10 dentro de la región hipervariable A del gen ARNr 16S. El ARP hsp 65 divide a la cepa en dos subgrupos únicos (1).

M. immunogenum es el nombre que se da a una MCR recientemente descrita, similar a *M. abscessus* y *M. chelonae*, pero con un patrón ARP hsp 65 único. El organismo crece en forma óptima a 25-30 °C. Por análisis de secuencia de ARNr 16S, los cultivos se diferencian fácilmente de *M. chelonae* y *M. abscessus*. *M. immunogenum* tiene dos copias del operon ADNr (a diferencia de *M. chelonae* y *M. abscessus*, que tienen una sola) (1,10).

M. immunogenum se asoció por primera vez a una neumonitis por hipersensibilidad con líquidos contaminados con metales entre trabajadores de una planta industrial (11). Posteriormente se asociaron cultivos de *M. immunogenum* con pseudobrotos respiratorios a partir del agua de broncoscopios contaminados, úlceras corneanas, líquido sinovial, drenajes cutáneos, sangre, y catéteres (10).

La susceptibilidad a antibióticos es similar a *M. chelonae*, excepto por la resistencia a tobramicina. Los cultivos son generalmente susceptibles a amikacina y claritromicina, y resistentes a ciprofloxacina, doxiciclina, cefoxitina, y sulfametoxazol (10).

M. mageritense fue recuperada por primera vez en 1997 de cultivos de esputo de cinco pacientes en España (12). A fines de 2002, Wallace y col. informaron de seis cultivos de esputo, lavado bronquial, sangre, drenaje sinusal, y dos infecciones de heridas quirúrgicas de pacientes en EE.UU., recuperados entre los años 1999-2000 (13).

Bioquímicamente, los cultivos eran similares a los miembros sorbitol positivos del tercer complejo biovariable *M. fortuitum* (positivo para uso de manitol e inositol) excepto por su capacidad de utilizar ramnosa como fuente de carbono (1,13,14). *M. mageritense* se caracteriza en la región B del ADNr 16S, por una secuencia diferente de la que comparten otros organismos relacionados con *M. smegmatis*. La comparación de las secuencias del gen ARNr 16S, hsp 65 y sod A identifica a este grupo entre los miembros del complejo *M. fortuitum* y las MCR termorresistentes, incluyendo el grupo *M. smegmatis*. También se caracterizan por un patrón HPLC único (1).

Al igual que otras MCR clínicamente importantes, los cultivos de *M. mageritense* son resistentes a la mayoría de las drogas antituberculosas incluyendo isoniazida, etambutol, capreomicina, y D-cicloserina. Además, los cultivos son susceptibles a las quinolonas y al sulfametoxazol, tienen una susceptibilidad variable o intermedia a cefoxitina, amikacina y doxiciclina, y son resistentes a tobramicina y claritromicina (13).

El tercer complejo biovariante *Mycobacterium fortuitum* fue reconocido por primera vez en 1966 por Brönicke, que dividió a los cultivos del grupo *M. fortuitum* en tres subgrupos basados en los patrones de utilización de carbohidratos (15). Posteriormente, Pattyn y col. renombraron a los subgrupos como *M. fortuitum* biovariante *fortuitum*, *M. fortuitum* biovariante *peregrinum*, y un tercer grupo biovariante sin nombre (16).

Sobre la base de la utilización de sorbitol y varias otras características, a los miembros del grupo de la tercera biovariante no nominada se los designó como tercera biovariante de *M. fortuitum*, sorbitol positivo, y tercera biovariante de *M. fortuitum*, sorbitol negativo (14). Por análisis de secuencia de ADNr 16S, ambos grupos son heterogéneos, y por estudios comparados ADN-ADN, se sospechó que habían dos o más variedades presentes. Actualmente, se han demostrado cinco especies diferentes (17), habiéndose propuesto los nombres de *M. bonicke* y *M. porcinum* para la mayoría del grupo sorbitol negativo, y *M. houstonense* para el grupo sorbitol positivo (17,18).

Se recuperaron especímenes del tercer complejo biovariante de muestras respiratorias, sangre, heridas, catéteres, e infecciones de tejidos blandos (14,17,18).

Si bien *M. porcinum* fue reconocido por Tsukamura (19) como agente causal de linfadenitis en los cerdos ya en 1983, no fue hasta hace poco que se demostró por estudios de secuenciación de ADNr 16S que esta especie es totalmente idéntica a algunos miembros del tercer complejo biovariante sorbitol negativo de *M. fortuitum* (18). Todos los miembros del tercer grupo biovariante sorbitol negativo tienen patrones de susceptibilidad a antibióticos similares, con CIM intermedias o susceptibles a cefoxitina y claritromicina, en contraste con miembros del grupo sorbitol positivo (*M. houstonense*), que son resistentes a claritromicina y cefoxitina (14,18).

MCR pigmentadas

Mycobacterium elephantis fue descrita en 2000 por Shojaei y col. a partir de un absceso pulmonar letal en un elefante (20). Posteriormente, Turenne y col. informaron de 11 casos en seres humanos en Canadá, 10 de esputo y uno de un ganglio linfático cervical (21). Si bien la patogenicidad del cultivo en las muestras respiratorias es cuestionable, parece ser cierto que el que se recuperó a partir del ganglio linfático fue indicador de infección real (1,21). Por secuencia de ADNr 16S y ARP de hsp 65, los cultivos son únicos. Por sus características bioquímicas y de cultivo se asemejan a *M. flavescens* (1).

Varias otras especies de MCR se agregaron a los grupos pigmentados y no pigmentados. Las especies que sólo se informaron por una única cepa, o cuya patogenicidad es dudosa o nula, sólo serán mencionadas en forma concisa. Para mayor información, véase la tabla 1.

[Tabla 1. Especies humanas y ambientales recientemente reconocidas de micobacterias no tuberculosas.](#)

Entre las MCR pigmentadas, *M. novocastrense* sólo fue aislada en una ocasión a partir de una lesión granulomatosa (22). Las especies MCR no pigmentadas que han sido denominadas en base a una sola cepa incluyen a *M. neworleansense* (17), *M. brisbanense* (17), *M. concordense* (17), *M. hassiacum* (23), y *M. septicum* (17,24,25). Todas las especies con excepción de *M. hassidium* parecen ser definitivamente patógenas. Las especies no pigmentadas de patogenicidad cuestionable o no patógenas incluyen a *M. alves* (26), *M. brumae* (27), *M. confluentis* (28), y *M. holsaticum* (29). *M. chlorophenicum* (30), *M. frederiksbergense* (31), *M. hodleri* (32), *M. madagascariense* (33), *M. murale* (34), y *M. venbaalenii* (35) son todas MCR pigmentadas que hasta el momento sólo se aislaron del ambiente y no se consideran patógenas.

Micobacterias de crecimiento lento no pigmentadas

Mycobacterium branderi fue descrita originalmente en 1995 en una colección de nueve cepas de micobacterias de crecimiento lento (36). Los cultivos se caracterizaron bioquímicamente y por análisis de lípidos y se determinó que eran posiblemente un nuevo grupo de microorganismos (el grupo Helsinki). Posteriormente, el organismo fue denominado *M. branderi*, por Eljas Brander, ex director del *Tuberculosis Laboratory of the National Public Health Institute* en Helsinki, Finlandia, responsable de la recolección de cepas. Por cromatografía de capa fina, la composición de ácidos micólicos es similar a la de las especies de crecimiento lento incluyendo al complejo *M. avium* (CMA), y *M. scrofulaceum*, siendo los patrones GLC y HPLC idénticos a los de *M. celatum*. *M. branderi* puede distinguirse del CMA por una prueba de arilsulfatasa positiva y de *M. shimoidei* por una prueba de hidrólisis Tween 80 negativa. En los cultivos en agar Middlebrook 7H10 se puede diferenciar *M. branderi* de *M. xenopi* tomando como criterios la presencia de colonias lisas y con forma de cúpula, aumento del crecimiento a 25 °C y la falta de pigmento (1,36).

Los cultivos originales de un paciente con enfermedad pulmonar cavitaria eran susceptibles a etambutol, estreptomina, etionamida y capreomicina, pero resistentes a las rifamicinas e isoniazida (36). Otro cultivo aislado de una infección ulcerativa en las manos fue tratado en forma exitosa con ciprofloxacina, trimetoprima-sulfametoxazol y claritromicina (37,38).

M. genavense fue descrita por Bottger y col. (39) en 1993 a partir de más de 30 cepas en pacientes con SIDA en Suiza. Es probablemente la especie más conocida entre la lista de las MNT.

Si bien puede haber escaso crecimiento en agar Middlebrook 7H10 suplementado con micobactina J o sangre humana, la mayoría de las cepas sólo crecen en medios líquidos (40). Dados los

exigentes requerimientos de esta especie para su cultivo, se sabe poco acerca de sus características fenotípicas. GLC, TLC y HPLC pueden ayudar en la diferenciación de esta especie, pero la identificación definitiva se logra en forma óptima usando métodos moleculares junto con las características de crecimiento y los requerimientos nutricionales especiales. La secuencia de ADNr 16S es idéntica a la de *M. simiae* y las micobacterias relacionadas (41).

La documentación clínica muestra la patogenicidad obvia para personas infectadas con HIV y para las aves. La especie puede ser responsable de enfermedad localizada y diseminada y los casos letales son comunes (39,41).

Las pruebas de susceptibilidad son un problema debido a los exigentes requerimientos para su crecimiento, y no se pudo establecer cuál es el mejor tratamiento. Sin embargo, las politerapias que incluyen claritromicina parecen ser más efectivas que las que no la incluyen (42).

M. heidelbergense fue descrita en 1997 en un niño con linfadenitis recurrente (43). Los análisis bioquímicos no son concluyentes y el patrón HPLC se asemeja mucho al de *M. malmoense*, *M. simiae*, y *M. intermedium* (43).

Por análisis de ADNr 16S, *M. heidelbergense* comparte homología completa con *M. simiae* y se relaciona filogenéticamente con *M. malmoense*. El patrón ARP hsp 65 puede ser usado para distinguir a las tres especies (43).

La escasez y contradicción de los datos de susceptibilidad indican que se necesita más información antes de poder establecer recomendaciones terapéuticas. Haas informó que las cepas originales eran susceptibles a la mayoría de los agentes antituberculosos (es decir, isoniazida, rifampicina, y etambutol); sin embargo, Pfyffer informó posteriormente de cepas resistentes a todas las drogas antituberculosas de primera y segunda línea (42-44).

M. triplex es un nuevo grupo de microorganismos que recuerda al CMA y a *M. simiae* con las pruebas bioquímicas convencionales y características de crecimiento (45). Se han recuperado cultivos de esputo, ganglios linfáticos, y líquido cefalorraquídeo (46) y, recientemente, del líquido pericárdico y peritoneal en personas que recibieron trasplantes hepáticos (1).

El análisis HPLC muestra varios patrones en este grupo de organismos, que recuerdan mucho a *M. simiae* y CMA, por lo que se les dio el epónimo "SAV" como abreviatura por *M. simiae* y CMA. El análisis comparativo de secuencias del gen ARNr 16S demostró que los organismos son nuevas especies diferentes. Si bien el análisis bioquímico no es definitivo, las especies pueden también ser identificadas por el patrón ARP hsp 65 y la secuencia 16S (47). Adicionalmente, la sonda para ácido nucleico, específica para CMA (AccuProbe, GenProbe, Inc; San Diego, CA) es no reactiva con esas cepas. Las pruebas de susceptibilidad fueron limitadas, pero la mayoría de los cultivos parecen ser resistentes a los agentes antituberculosos (1). Recientemente se informó de cultivos susceptibles a claritromicina (48).

Micobacterias de crecimiento lento pigmentadas

Mycobacterium bohemicum fue reconocida en 1998 en muestras de esputo de un paciente con tuberculosis pulmonar (49). El nombre del cultivo hace referencia a la República Checa, donde se lo recuperó por primera vez. Posteriormente, se ha examinado un gran grupo de cepas de ganglios linfáticos, piel y esputo (50,51). Estos estudios sugieren que *M. bohemicum* debe ser considerado como patógeno y que el agua natural es uno de los reservorios de la infección (1).

Se ha hipotetizado que *M. bohemicum* puede contener dos diferentes perfiles de ácidos micólicos. Por HPLC, *M. bohemicum* es similar a CMA y *M. scrofulaceum*, y los análisis bioquímicos no son concluyentes. Por GLC, los cultivos se asemejan a *M. interjectum*. Por lo tanto, se recomienda su identificación molecular (1). La información acerca de susceptibilidad es escasa y la mayoría de las cepas deben ser estudiadas antes de poder hacer recomendaciones de tratamiento.

M. celatum fue descrita por primera vez por Butler y col. en 1993 (52). Bioquímicamente, los

cultivos son similares a CMA y *M. xenopi* excepto en que crecen poco a 45 °C (42).

Se sabe que algunas cepas tienen reacción cruzada con la sonda comercial de ADN para *M. tuberculosis* debido a la presencia de una desigualdad en un nucleótido en el segmento corto del ARNr 16S que es el blanco de la sonda (53). Sin embargo, el examen cuidadoso de los patrones HPLC puede diferenciar a *M. celatum* de las otras especies similares y por lo tanto se recomienda la evaluación por HPLC o de la secuencia de ARNr 16S para la identificación definitiva (1,52).

Sólo hay información limitada de susceptibilidad además de la resistencia confirmada a rifampicina (52). Se informó que los cultivos son sensibles a amikacina, estreptomina, etambutol, rifabutina, claritromicina, y quinolonas (54,55).

M. conspicuum fue responsable de infecciones en pacientes inmunocomprometidos, incluyendo SIDA e inmunodeficiencias celulares. Bioquímicamente, el organismo es más bien inerte y único entre las otras micobacterias. De hecho, se le dio el nombre *M. conspicuum* por esa razón. Por HPLC la especie se asemeja a *M. terrae* aunque los perfiles son diferenciables por comparación. Si bien hasta la fecha se han recuperado pocas cepas, la falta de crecimiento a 37 °C pudo haber hecho que se subestime el número de cultivos (1,56).

La información de susceptibilidad es escasa, pero Springer y col. informaron que tres cultivos eran susceptibles a ciprofloxacina, amikacina, rifabutina, clofazimina, y claritromicina, con resultados susceptibles o intermedios para etambutol, kanamicina, isoniazida, estreptomina, y ofloxacina, pero resistente a rifampicina y pirazinamida (57).

M. heckeshornense fue descrita en 2000 a partir del aislamiento repetido a lo largo de 5 años de un paciente inmunocompetente con enfermedad pulmonar crónica bilateral en la clínica Heckersorn, en Berlín (57). También se obtuvo un cultivo idéntico a partir de otro paciente con enfermedad pulmonar, lo que sugiere fuertemente la patogenicidad de la especie.

Los patrones HPLC fueron prácticamente indistinguibles de *M. xenopi* y los resultados de la GLC y TLC clasificaron al organismo dentro del grupo *M. xenopi-botniense*. La identificación definitiva por 16S y análisis de secuencia espacial de ADNr 16S y 16S-23S determinó la identidad del organismo (1,57). Bioquímicamente, estos cultivos termorresistentes son negativos a la arilulfatasa de 3 días.

Con el método de proporción de agar se observó que los cultivos son susceptibles a los agentes antituberculosos, ciprofloxacina y claritromicina (57).

M. interjectum se recuperó originalmente a partir de un niño con linfadenitis crónica en Bélgica, y posteriormente de tres pacientes en Australia (58,59,60).

Fenotípicamente, *M. interjectum* se asemeja a *M. scrofulaceum* y el patrón TLC de los ácidos micólicos es similar a CMA y *M. scrofulaceum*. Por HPLC, se pueden obtener dos patrones diferentes de *M. interjectum* (1). El ADNr 16S muestra estrecha relación con *M. simiae* y otras especies "intermedias" entre las de crecimiento rápido y las de crecimiento lento (1). El nombre del organismo se refiere a su posición filogenética entre ambos grupos de micobacterias (58). También se ha sugerido que la prevalencia de esta especie pudo haber sido previamente subestimada debido a su identificación errónea como *M. scrofulacea*. Los datos de susceptibilidad son escasos, pero la especie parece ser sensible a rifampicina aunque resistente a etambutol e isoniazida.

M. intermedium también es denominada así por la posición filogenética de la especie entre las MCR y las micobacterias de crecimiento lento (61). Se identificó la primera cepa en un paciente con enfermedad pulmonar crónica. Bioquímicamente la especie es similar a *M. asiaticum*. Sin embargo, las diferencias en la morfología de las colonias distingue a ambas. Por CTL, la especie no puede ser diferenciada de *M. simiae*, *M. malmoense* y *M. genovense*. Por HPLC, la especie presenta un patrón distintivo (1). La secuencia de nucleótidos en el análisis de ADNr 16S se superpone a la de *M. simiae* y especies relacionadas de crecimiento lento. Se informó que los primeros cultivos eran susceptibles a múltiples agentes, incluyendo ciprofloxacina, amikacina, rifabutina, clofazimina, y

claritromicina. Los cultivos tuvieron sensibilidad intermedia a etambutol, kanamicina, isoniazida, y estreptomina, y resistencia a rifampicina. Sin embargo, hay poca información de susceptibilidad y se necesitan más datos antes de poder establecer el tratamiento óptimo (42).

M. lentiflavum fue descrita en 1996 cuando se recuperaron múltiples cultivos de especímenes clínicos (62). Los cultivos mostraron un crecimiento lento a 22- 37 °C y pigmentación amarilla, las dos características de las que deriva el nombre de la especie. La TLC y la GLC no son definitivas, y los patrones de la TLC son similares a los de *M. simiae*, *M. malmoense*, *M. genavense*, y *M. intermedium*. El patrón HPLC es similar al de *M. simiae*, pero el examen cuidadoso de la cromatografía HPLC puede distinguir a ambas especies.

La secuencia ADNr 16S revela dos sequevares que difieren en dos nucleótidos y el ARP de hsp 65 muestra múltiples patrones, ninguno de los cuales se superpone con otras especies conocidas (47). La información de susceptibilidad sugiere que la especie es sensible a ciprofloxacina, claritromicina, y rifabutina, con CIM resistente o intermedia a rifampicina, isoniacida, y etambutol. Si bien muchos cultivos de *M. lentiflavum* parecen ser clínicamente significativos, se ha informado de varios casos con clara patogenicidad (1).

M. tusciae fue descrita por Tortoli y col. (63) a partir de un ganglio linfático cervical en un niño bajo tratamiento con esteroides y posteriormente en un paciente con fibrosis quística y en dos muestras de agua (1,63).

Se puede distinguir a *M. tusciae* de la mayoría de las otras micobacterias de crecimiento lento escotocromógenas usando análisis bioquímicos convencionales, HPLC, y análisis de secuencia de ADNr 16S. Los cultivos desarrollan en alrededor de 4 semanas a 25 °C y 32 °C, mientras que el crecimiento no siempre se produce a 37 °C y es negativo a 42 °C (63). La especie es sensible a claritromicina, ciprofloxacina, rifampicina, rifabutina y estreptomina (63).

M. lacus sólo fue aislada una vez a partir de tejido sinovial en un paciente con bursitis postraumática. Las regiones ADNr 16S e ITS y el patrón ARP hsp 65 son únicos (64), si bien esta especie parece estar muy relacionada por análisis de secuencia del gen ARNr 16S a *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. ulcerans*, y miembros del complejo *M. tuberculosis*. El patrón HPLC se asemeja al de *M. gastri*. La especie parece ser susceptible a todos los agentes antituberculosos, ciprofloxacina y amikacina (64).

Otros cultivos de crecimiento lento de patogenicidad cuestionable en los humanos serán mencionados brevemente. Estas nuevas especies incluyen a *M. doricum* (65), *M. kubicae* (66) y *M. palustre* (67). Entre las nuevas especies de crecimiento lento encontradas exclusivamente en el ambiente están *M. botiense* (68), *M. cookii* (69), y *M. hiberniae* (70).

Antiguos patógenos emergentes

Este es un grupo de patógenos para el hombre identificado hace más de 10 años, pero que últimamente ha registrado aumento de su prevalencia o su importancia clínica.

Mycobacterium ulcerans, la micobacteria de crecimiento lento que es el agente etiológico de la úlcera africana Buruli o de la úlcera australiana Bairnsdale, ha sido detectada recientemente en el agua, fango, pescados e insectos, a través de técnicas moleculares (71). Se observaron infecciones naturales en koalas, marsupiales, y alpacas en cautiverio en Australia. La mayoría de los cultivos se han recuperado en África, Australia, Nueva Guinea, América Central y del Sur, Malasia, e Indonesia (72,73). La enfermedad no es endémica en EE.UU. pero se la ha visto de manera esporádica luego de viajes a áreas endémicas (74). Es considerada la forma más común de enfermedad cutánea por MNT en el mundo. Produce úlceras grandes, profundas, necróticas en las extremidades, que cicatrizan con marcadas deformidades y contracturas, y que a menudo dejan a la persona con un miembro sólo funcionando parcialmente. Si bien el diagnóstico de laboratorio por métodos bioquímicos y cultivos convencionales es difícil debido a la tasa de crecimiento extremadamente lenta, a la baja temperatura óptima (28 °C) del organismo, y a la sensibilidad que tienen a los agentes utilizados en los procesos de descontaminación micobacteriana de rutina, las nuevas técnicas han optimizado en gran medida el diagnóstico más

rápido y eficiente de *M. ulcerans* (75-78). Se han elaborado también métodos de genotipificación (78,79). Usando GLC de los ácidos grasos y alcoholes, ARP y técnicas moleculares, Tonjum y col. establecieron la estrecha relación genética entre *M. marinum*, *M. ulcerans* y *M. tuberculosis* (80). Stienstra y col. han elaborado recientemente una técnica de PCR basada en la secuencia de inserción, IS-2404, para el diagnóstico de la enfermedad donde la especie es endémica (81). Debido a la dificultad en el crecimiento del organismo, se carece de información de susceptibilidad, si bien recientemente Portaels informó que la especie era susceptible a claritromicina (82). La enfermedad una vez establecida responde mal a los antibióticos, y generalmente requiere de un amplio debridamiento e injerto de piel.

Mycobacterium haemophilum es una micobacteria de crecimiento lento, exigente, con requerimientos de crecimiento especiales con compuestos que contengan hemina o hierro. El crecimiento óptimo se produce aproximadamente a los 30-32 °C, la temperatura de la piel humana, lo que puede explicar la preferencia de esta especie por sitios más fríos del cuerpo, incluyendo las extremidades (83,84,85,86).

Se ha informado la presencia del organismo en todo el mundo, Europa, Israel, Australia, Canadá, Reino Unido, Africa y EE.UU., especialmente entre pacientes inmunocomprometidos con HIV y en receptores de trasplantes (82,84-87). La enfermedad cutánea diseminada, manifestada por múltiples lesiones drenantes de la piel, con o sin osteomielitis subyacente, ha sido asociada con infección avanzada por HIV y uso prolongado de corticosteroides. Se ha visto enfermedad localizada en niños inmunológicamente normales con linfadenitis perihiliar o cervical (88-92).

Previamente, el diagnóstico de laboratorio de *M. haemophilum* recaía en el crecimiento de cepas cultivadas por 3 a 4 semanas. Recientemente se ha informado (93) el fracaso de crecimiento en agar chocolate (a menudo usado como medio primario de cultivo ya que contiene hematina) luego de 6 semanas de incubación y posterior recuperación de un caldo comercial (medio Myco/F Lytic-Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD), lo que enfatiza la necesidad de mejorar los métodos de diagnóstico de laboratorio. Por lo tanto, las técnicas moleculares y quimiotaxonómicas (análisis de ácidos micólicos y grasos) también han contribuido a una más rápida y mayor recuperación de especies (94-96). Actualmente hay pruebas de susceptibilidad estandarizadas pero varios investigadores informaron haber utilizado el método de microdilución en caldo y extracción en discos de agar con la adición de citrato de amonio férrico o hemina (90,91,97). Los agentes más activos in vitro parecen ser amikacina, claritromicina, ciprofloxacina, rifampicina y rifabutina (82). Todas las cepas parecen ser resistentes a etambutol (83,90). La mayoría de los pacientes respondieron bien a regímenes de tratamiento que incluían claritromicina y rifamicina (42).

Mycobacterium xenopi es una especie de micobacteria de crecimiento inusualmente lento, con una temperatura de crecimiento óptimo de 42-43 °C. Desde que fuera recuperada por primera vez en 1959 a partir de la piel de un sapo, *M. xenopi* quedó bien documentado como un patógeno del tracto respiratorio (98); sin embargo, recientemente esta especie también ha sido hallada en sitios extrapulmonares (99). La recuperación a partir de grifos de agua caliente sugiere que éste es probablemente el reservorio de la infección (100-102).

M. xenopi tiene un patrón HPLC único que lo distingue de CMA, la especie que más se le asemeja por análisis bioquímicos convencionales (103). El aumento de su crecimiento a 42-43 °C, su falta de crecimiento a 22 °C y la prueba de arilsulfatasa positiva pueden ayudar a diferenciar *M. xenopi* de CMA (103).

Las pruebas de susceptibilidad de *M. xenopi* pueden ser difíciles y pueden ser responsables de la falta de información de sensibilidad. Sin embargo, recientemente Schmitt y col. informaron de un tratamiento exitoso usando claritromicina, rifabutina y sparfloxacina (104), y Lounis y col. informaron del efecto bactericida de la claritromicina en los ratones (105). Posteriormente, un importante estudio prospectivo en el Reino Unido confirmó que los resultados de las pruebas de sensibilidad in vitro de drogas individuales no predicen respuesta clínica ni bacteriológica en pacientes con *M. xenopi* y que la isoniazida no cumple ninguna función en su tratamiento (106).

Mycobacterium malmoense fue descrita originalmente como patógeno en 1977 en Suecia (107). Desde entonces, sólo se ha informado de cultivos clínicos en forma esporádica en EE.UU. Un informe del CDC desde 1993 hasta mediados de 1995 encontró a sólo 6 de 60 pacientes con enfermedad debida a *M. malmoense* (108). Sin embargo, en Europa del Norte y el Reino Unido, *M. malmoense* se está volviendo un patógeno respiratorio cada vez más importante (109-111).

Resultados recientes informados por Doig y col., en Escocia, indican que la especie tiene poca diversidad genética y ninguna correlación geográfica o cronológica (109). Se la puede confundir con otras micobacterias no pigmentadas de crecimiento lento, incluyendo CMA.

Se han diferenciado los cultivos usando análisis de ácidos micólicos y grasos, sonda de ADN basada en PCR y secuencias espaciadoras internas transcritas en el gen ARNr 16S (109-113). El uso de medios con pH bajo (6.0) también puede mejorar la recuperación del organismo en cultivos primarios (114).

No hay información de susceptibilidad, pero se publicaron regímenes de tratamiento exitosos con isoniazida y rifampicina con y sin escisión quirúrgica (103). También se vio erradicación microbiológica con el uso de combinaciones de isoniazida, rifampicina, y etambutol, con y sin el uso de quinolonas y macrólidos (115,116). Sin embargo, estudios recientes de la British Thoracic Society concluyeron que las pruebas de susceptibilidad a drogas antimicobacterianas individuales para estas especies no son predictoras de respuesta clínica y bacteriológica y que isoniazida no es útil en el tratamiento de *M. malmoense* (106).

BIBLIOGRAFÍA

1. Tortoli E: Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003; 16:319-354.
2. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Böttger EC, Bodmer T: Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31:175-178.
3. Steingrube VA, Gibson JL, Brown BA, Zhang Y, Wilson RW, Rajagopalan M, Wallace RJ Jr: PCR amplification and restriction endonuclease analysis of a 65- Kilodalton heat shock protein gene sequence for taxonomic separation of rapidly growing mycobacteria. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:149-153.
4. Butler WR, Guthertz LS: Mycolic acid analysis by high-performance liquid chromatography for identification of *Mycobacterium* species. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001; 14:704-726.
5. Band JD, Ward JI, Fraser DW, Peterson NJ, Silcox VA, Good RC, Ostrey PR, Kennedy J: Peritonitis due to a *Mycobacterium chelonae*-like organism associated with intermittent chronic peritoneal dialysis. *J. Infect. Dis.* 1982; 145:9-17.
6. Springer B, Böttger EC, Kirschner P, Wallace RJ Jr: Phylogeny of the *Mycobacterium chelonae*-like organism based on partial sequencing of the 16S rRNA gene and proposal of *Mycobacterium mucogenicum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995; 45:262-267.
7. Wallace RJ Jr., Silcox VA, Tsukamura M, Brown BA, Kilburn JO, Butler WR, Onyi G: Clinical significance, biochemical features, and susceptibility patterns of sporadic isolates of the *Mycobacterium chelonae*-like organism. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31:3231- 3239.
8. Brown BA, Springer B, Steingrube VA, Wilson RW, Pfyffer GE, Garcia MJ, Menendez MC, Rodriguez-Salgado B, Jost KC, Chiu SH, Onyi GO, Böttger EC, Wallace RJ Jr. *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; 49:1493-1511.
9. Wallace RJ Jr., Nash DR, Tsukamura M, Blacklock ZM, Silcox VA: Human disease due to *Mycobacterium smegmatis*. *J. Infect. Dis.* 1988; 158:52-59.
10. Wilson RW, Steingrube VA, Böttger EC, Springer B, Brown-Elliott BA, Vincent V, Jost KC Jr, Zhang Y, Garcia MJ, Chiu SH, Onyi GO, Rossmore H, Nash DR, Wallace RJ Jr: *Mycobacterium immunogenum* sp. nov., a novel species related to *Mycobacterium abscessus* and associated with clinical disease, pseudo-outbreaks, and contaminated metalworking fluids: an international cooperative study on mycobacterial taxonomy. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001; 51:1751-1764.
11. Moore JS, Christensen M, Wilson RW, Wallace RJ Jr, Zhang Y, Nash DR, Shelton B. Mycobacterial contamination of metal working fluids: Involvement of a possible new taxon of rapidly growing mycobacteria. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 2000; 61:205-213.
12. Domenech P, Jimenez MS, Menendez MC, Bull TJ, Samper S, Manrique A, Garcia MJ: *Mycobacterium mageritense* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; 47:535-540.

13. Wallace RJ Jr., Brown-Elliott BA, Hall L, Roberts G, Wilson RW, Mann LB, Crist CJ, Chiu SH, Dunlap R, Garcia MJ, Bagwell JT, Jost KC Jr: Clinical and laboratory features of *Mycobacterium mageritense*. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:2930-2935.
14. Wallace RJ Jr., Brown BA, Silcox VA, Tsukamura M, Nash DR, Steele LC, Steingrube VA, Smith J, Sumter G, Zhang Y, Blacklock Z: Clinical disease, drug susceptibility, and biochemical patterns of the unnamed third biovariant complex of *Mycobacterium fortuitum*. *J. Infect. Dis.* 1991; 163:598-603.
15. Bönicke R: The occurrence of atypical mycobacteria in the environment of man and animal. *Bull. Int. Union Tuberc. Lung Dis.* 1966; 37:361-368.
16. Pattyn SR, Magnusson M, Stanford JL, Grange JM: A study of *Mycobacterium fortuitum* (ranae). *J. Med. Microbiol.* 1974; 7:67-76.
17. Schinsky MF, Morey RE, Steigerwalt AG, Douglas MP, Wilson RW, Floyd MM, Daneshvar MI, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr, McNeil MM, Brenner DJ, Brown JM: Taxonomic variation in the *Mycobacterium fortuitum* third-biovariant complex: Description of *Mycobacterium bonickei* sp. nov., *Mycobacterium houstonense* sp. nov., *Mycobacterium neworleansense* sp. nov., *Mycobacterium concordense* sp. nov., *Mycobacterium brisbanense* sp. nov., and recognition of *Mycobacterium porcinum* from human clinical isolates. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003; (in press).
18. Wallace RJ Jr, Brown-Elliott BA, Wilson RW, Mann L, Hall L, Zhang Y, Jost KC Jr., Brown JM, Schinsky MF, Steigerwalt AG, Crist CJ, Roberts GD, Blacklock Z, Tsukamura M, Silcox V: Clinical and laboratory features of *Mycobacterium porcinum*. (In preparation).
19. Tsukamura M, Nemoto H, Yugi H: *Mycobacterium porcinum* sp. nov., a porcine pathogen. *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 1983; 33:162-165.
20. Shojaei H, Goodfellow M, Magee JG, Freeman R, Yates M, Horadagoda NU, Goodfellow M: *Mycobacterium elephantis* sp. nov., a rapidly growing non-chromogenic *Mycobacterium* isolated from an elephant. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50:1817- 1820.
21. Turenne C, Chedore P, Wolfe J, Jamieson F, May K, Kabani A: Phenotypic and molecular characterization of clinical isolates of *Mycobacterium elephantis* from human specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:1230-1236.
22. Shojaei H, Goodfellow M, Magee JG, Freeman R, Gould FK, Brignall CG: *Mycobacterium novocastrense* sp. nov., a rapidly growing photochromogenic mycobacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; 47:1205-1207.
23. Schröder K-H, Naumann L, Kroppenstedt RM, Reischl U: *Mycobacterium hassiacum* sp. nov., a new rapidly growing thermophilic mycobacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; 47:86-91.
24. Schinsky MF, McNeil MM, Whitney AM, Steigerwalt AG, Lasker BA, Floyd MM, Hogg GG, Brenner DJ, Brown JM: *Mycobacterium septicum* sp. nov. a new rapidly growing species associated with catheter-related bacteraemia. *Int. J. Syst. Evol. Micro.* 2000; 50:575-581.
25. Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr: Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15:716-746.
26. Ausina V, Luquin M, Barceló MG, Lanéelle MA, Lévy-Frébault V, Belda F, Prats G: *Mycobacterium alvei* sp. nov. *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 1992; 42:529-535.
27. Luquin M, Ausina V, Vincent-Lévy-Frébault V, Lanéelle MA, Belda F, García-Barceló M, Prats G, Daffé M: *Mycobacterium brumae* sp. nov., a rapidly growing, nonphotochromogenic mycobacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43:405-413.
28. Kirschner P, Teske A, Schröder KH, Kroppenstedt M, Böttger EC: *Mycobacterium confluentis* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1992; 42:257-262.
29. Richter E, Niemann S, Gloeckner FO, Pfyffer GE, Rüscher-Gerdes S: *Mycobacterium holsaticum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002; 52:1991-1996.
30. Häggblom MM, Nohynek LJ, Palleroni NJ, Kronqvist K, Nurmiäho-Lassila E-L, Salkinoja-Salonen MS, Klatté S, Kroppenstedt RM: Transfer of polychlorophenol- degrading *Rhodococcus chlorophenolicus* (Apajalahti et al. 1986) to the genus *Mycobacterium* as *Mycobacterium chlorophenolicum* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1994; 44:485-493.
31. Willumsen P, Karlson U, Stackebrandt E, Kroppenstedt RM: *Mycobacterium frederiksbergense* sp. nov., a novel polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *Mycobacterium* species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001; 51:1715-1722.
32. Kleespies M, Kroppenstedt RM, Rainey FA, Webb LE, Stackebrandt E: *Mycobacterium hodleri* sp. nov., a new member of the fast-growing mycobacteria capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1996; 46:683-687.
33. Kazda J, Müller HJ, Stackebrandt E, Daffe M, Müller K, Pitulle C: *Mycobacterium madagascariense* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1992; 42:524-528.
34. Vuorio R, Andersson MA, Rainey FA, Kroppenstedt RM, Kämpfer P, Busse H-J, Viljanen M, Salkinoja-Salonen M: A new rapidly growing mycobacterial species, *Mycobacterium murale* sp. nov., isolates from the indoor walls of a children's day care centre. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999; 49:25-35.
35. Khan A, Kim SJ, Paine DD, Cerniglia CE: Classification of a polycyclic aromatic hydrocarbon-metabolizing bacterium, *Mycobacterium* sp. strain PYR-1, as *Mycobacterium vanbaalenii* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002; 52:1997-2002.
36. Brander E, Jantzen E, Huttunen R, Juntunen A, Katila M-L: Characterization of a distinct group of slowly growing mycobacteria by biochemical tests and lipid analyses. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30:1972-1975.
37. Wolfe J, Turenne C, Alfa M, Harding G, Thibert L, Kabani A: *Mycobacterium branderi* from both a hand infection and a case of pulmonary disease. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 18:3896-3899.
38. Koukila-Kähkölä P, Springer B, Böttger EC, Paulin L, Jantzen E, Katila ML: *Mycobacterium branderi* sp. nov., a new potential human pathogen. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995; 45:549-553.
39. Böttger EC, Hischel B, Coyle MB: *Mycobacterium genavense* sp. nov. *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43:841-843.
40. Thomsen VØ, Dragsted UB, Bauer J, Fuursted K, Lundgren J: Disseminated infection with *Mycobacterium genavense*: a challenge to physicians and mycobacteriologists. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37:3901-3905.
41. Böttger EC: *Mycobacterium genavense*: An emerging pathogen. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1994; 13:932-936.
42. Brown-Elliott BA, Griffith DE, Wallace RJ Jr: Newly described or emerging human species of nontuberculous mycobacteria. *Infect. Dis. Clin. N. America* 2002; 16:187- 220.
43. Haas WH, Butler WR, Kirschner P, Plikaytis BB, Coyle MB, Amthor B, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Salfinger M, Crawford JT, Böttger EC, Bremer HJ: A new agent of mycobacterial lymphadenitis in children: *Mycobacterium heidelbergense* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:3203-3209.

44. Pfyffer GE, Weder W, Strässle A, Russi EW: *Mycobacterium heidelbergense* species nov. infection mimicking a lung tumor. *Clin. Infect. Dis.* 1998; 27:649-650.
45. Floyd MM, Guthertz LS, Silcox VA, Duffey PS, Jang Y, Desmond EP, Crawford JT, Butler WR: Characterization of an SAV organism and proposal of *Mycobacterium triplex* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34:2963-2967.
46. Tortoli E, Piersimoni C, Kirschner P, Bartoloni A, Burrini C, Lacchini C, Mantella A, Muzzi G, Passerini-Tosi C, Penati V, Scarparo C, Simonetti MT, Böttger EC: Characterization of mycobacterial isolates phylogenetically related to, but different from *Mycobacterium simiae*. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:697-702.
47. Wilson RW, Wallace RJ Jr., Mann LB: Use of PCR restriction fragment analysis (PRA) for separation of *Mycobacterium simiae*-*lentiflavum*-*triplex* complex. Presented at the 101st General Meeting of the American Society for Microbiology. Orlando, FL, May 20-24, 2001.
48. Cingolani A, Sanguinetti M, Antinori A, Larocca LM, Ardito F, Posteraro B, Federico G, Fadda G, Ortona L: Disseminated mycobacteriosis caused by drug-resistant *Mycobacterium triplex* in a human immunodeficiency virus-infected patient during highly active antiretroviral therapy. *Clin. Infect. Dis.* 2000; 31:177-179.
49. Reischl U, Emler S, Horak Z, Kaustova J, Kroppenstedt RM, Lehn N, Naumann L: *Mycobacterium bohemicum* sp. nov., a new slow-growing scotochromogenic mycobacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1998; 48:1349-1355.
50. Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, Suutari M, Paulin L, Rudbäck E, Tortoli E, Vincent V, Mattila R, Katila M-L: Characterization of *Mycobacterium bohemicum* isolated from human, veterinary, and environmental sources. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39:207-211.
51. Tortoli E, Bartoloni A, Manfrin V, Mantella A, Scarparo C, Böttger E: Cervical lymphadenitis due to *Mycobacterium bohemicum*. *Clin. Infect. Dis.* 2000; 30:210-211.
52. Butler WR, O'Connor SP, Yakrus MA, Smithwick RW, Plikaytis BB, Moss CW, Floyd MM, Woodley CL, Kilburn JO, Vadney FS, Gross WM: *Mycobacterium celatum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43:539-548.
53. Butler WR, O'Connor SP, Yakrus MA, Gross WM: Cross-reactivity of genetic probe for detection of *Mycobacterium tuberculosis* with newly described species *Mycobacterium celatum*. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32:536-538.
54. Tortoli E, Piersimoni C, Bacosi D, Bartoloni A, Betti F, Bono L, Burrini C, De Sio G, Lacchini C, Mantella A, Orsi PG, Penati V, Simonetti MT, Böttger EC: Isolation of the newly described species *Mycobacterium celatum* from AIDS patients. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:137-140.
55. Piersimoni C, Tortoli E, de Lalla F, Nista D, Donato D, Bornigia S, De Sio G: Isolation of *Mycobacterium celatum* from patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.* 1997; 24:144-147.
56. Springer B, Tortoli E, Richter I, Grünwald R, Rüscher-Gerdes S, Uschmann K, Suter F, Collins MD, Kroppenstedt RM, Böttger EC: *Mycobacterium conspicuum* sp. nov., a new species isolated from patients with disseminated infections. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:2805-2811.
57. Roth A, Reischl U, Schönfeld N, Naumann L, Emler S, Fischer M, Mauch H, Lodenkemper R, Kroppenstedt RM: *Mycobacterium heckeshornense* sp. nov., a new pathogenic slowly growing *Mycobacterium* sp. causing cavitary lung disease in an immunocompetent patient. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38:4102-4107.
58. Springer B, Kirschner P, Rost-Meyer G, Schroder KH, Kroppenstedt RM, Böttger EC: *Mycobacterium interjectum*, a new species isolated from a patient with chronic lymphadenitis. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31:3083-3089.
59. Lumb R, Goodwin A, Ratcliff R, Stapledon R, Holland A, Bastian I: Phenotypic and molecular characterization of three clinical isolates of *Mycobacterium interjectum*. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:2782-2785.
60. De Baere T, Moerman M, Rigouts L, Dhooge C, Vermeersch H, Verschraegen G, Vanechoutte M: *Mycobacterium interjectum* as a causative agent of cervical lymphadenitis. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39:725-727.
61. Meier A, Kirschner P, Schröder K-H, Wolters J, Kroppenstedt RM, Böttger EC: *Mycobacterium intermedium* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43:204-209.
62. Haase G, Kentrup H, Skopnik H, Springer B, Böttger EC: *Mycobacterium lentiflavum*: an etiologic agent of cervical lymphadenitis. *Clin. Infect. Dis.* 1997; 25:1245-1246.
63. Tortoli E, Kroppenstedt RM, Bartoloni A, Caroli G, Jan I, Pawlowski J, Emler S: *Mycobacterium tusciae* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999; 49:1839-1844.
64. Turenne C, Chedore P, Wolfe J, Jamieson F, Broukhanski G, May K, Kabani A: *Mycobacterium lacus* sp. nov., a new slow-growing non-chromogenic clinical isolate. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002; 52:2135-2140.
65. Tortoli E, Piersimoni C, Kroppenstedt RM, Montoya-Burgos JI, Reischl U, Giacometti A, Emler S: *Mycobacterium doricum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001; 51:2007-2012.
66. Floyd MM, Gross WM, Bonato DA, Silcox VA, Smithwick RW, Metchock B, Crawford JT, Butler WR: *Mycobacterium kubicae* sp. nov., a slowly growing, scotochromogenic *Mycobacterium*. *Int. J. Syst. Evolution. Microbiol.* 2000; 50:1811-1816.
67. Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, Tortoli E, Suutari M, Seppäo J, Paulin L, Katila ML: *Mycobacterium palustre* sp. nov., a potentially pathogenic slow-growing mycobacterium isolated from veterinary and clinical specimens, and Finnish stream water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002; 52:1519-1525.
68. Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, Suutari M, Tortoli E, Paulin L, Katila M-L: *Mycobacterium xenopi* and related organisms isolated from stream waters in Finland and description of *Mycobacterium botniense* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50:283-289.
69. Kazda J, Stackebrandt E, Smida J, Minnikin DE, Daffe M, Parlett JH, Pitulle C: *Mycobacterium cookii* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1990; 40:217-223.
70. Kazda J, Cooney R, Monaghan M, Quinn PJ, Stackebrandt E, Dorsch M, Daffe M, Müller K, Cook BR, Tarnok ZS: *Mycobacterium hiberniae* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43:352-357.
71. Portaels F, Chemlal K, Elsen P, Johnson PDR, Hayman JA, Hibble J, Kirkwood R, Meyers WM: *Mycobacterium ulcerans* in wild animals. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2001; 20:252-264.
72. Lunn HF, Connor DH, Wilks NE, et al: Buruli (mycobacterial) ulceration in Uganda. *East Afr. Med. J.* 1965; 12:275-288.
73. Cook A: Mengo hospital notes 1897, Makerere Medical School Library. *Br. Med. J.* 1970; 2:378-379.
74. Lindo SD, Daniels F Jr: Buruli ulcer in New York City. *J. Am. Med. Assoc.* 1974; 228:1138-1139.
75. Portaels F, Aguiar J, Fissette K, Fonteyne PA, De Beenhouwer H, de Rijk P, Guédénon A, Lemans R, Steunou C, Zinsou C, Dumonceau JM, Meyers WM: Direct detection and identification of *Mycobacterium ulcerans* in clinical specimens by PCR

- and oligonucleotide-specific capture plate hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:1097-1100.
76. Ross BC, Marino L, Oppedisano F, Edwards R, Robins-Browne RM, Johnson PDR: Development of a PCR assay for rapid diagnosis of *Mycobacterium ulcerans* infection. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:1696-1700.
 77. Roberts B, Hirst R: Immunomagnetic separation and PCR for detection of *Mycobacterium ulcerans*. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:2709-2711.
 78. Stinear T, Davies JK, Jenkin GA, Portaels F, Ross BC, Oppedisano F, Purcell M, Hayman JA, Johnson PDR: A simple PCR method for rapid genotype analysis of *Mycobacterium ulcerans*. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38:1482-1487.
 79. Jackson K, Edwards R, Leslie DE, Hayman J: Molecular method for typing *Mycobacterium ulcerans*. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33:2250-2253.
 80. Tønjum T, Welty DB, Jantzen E, Small PL: Differentiation of *Mycobacterium ulcerans*, *M. marinum*, and *M. haemophilum*: mapping of their relationships to *M. tuberculosis* by fatty acid profile analysis, DNA-DNA hybridization, and 16S rRNA gene sequence analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36:918-925.
 81. Stienstra Y, van der Werf TS, Guarner J, Raghunathan PL, Spotts Whitney EA, van der Graff WTA, Asamoia K, Tappero JW, Ashford DA, King CH: Analysis of an IS2404- based nested PCR for diagnosis of buruli ulcer disease in regions of Ghana where the disease is endemic. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41:794-797.
 82. Portaels F, Traore H, De Ridder K, Meyers WM: In vitro susceptibility of *Mycobacterium ulcerans* to clarithromycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998; 42:2070-2073.
 83. 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.
 84. Wayne LG, Sramek HA: Agents of newly recognized or infrequently encountered mycobacterial diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 1992; 5:1-25.
 85. Wolinsky E: Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1979; 119:107-159.
 86. Sompolinsky D, Lagziel A, Naveh D, Yankilevitz. *Mycobacterium haemophilum* sp. nov., a new pathogen of humans. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1978; 28:67-75.
 87. Zappe CH, Barlow D, Zappe H, Bolton IJ, Roditi D, Steyn LM: 16S rRNA sequence analysis of an isolate of *Mycobacterium haemophilum* from a heart transplant patient. *J. Med. Microbiol.* 1995; 43:189-191.
 88. Dobos KM, Quinn FD, Ashford DA, Horsburgh CR, King CH: Emergence of a unique group of necrotizing mycobacterial diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5:367-378.
 89. Bernard EM, Edward FF, Kiehn TE, Brown ST, Armstrong D: Activities of antimicrobial agents against clinical isolates of *Mycobacterium haemophilum*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37:2323-2326.
 90. Kiehn TE, White M: *Mycobacterium haemophilum*: An emerging pathogen. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1994; 13:925-931.
 91. Kristjansson M, Bieluch VM, Byeff PD: *Mycobacterium haemophilum* infection in immunocompromised patients: case report and review of the literature. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13:906-910.
 92. Armstrong KL, James RW, Dawson DJ, Francis PW, Masters B: *Mycobacterium haemophilum* causing perihilar or cervical lymphadenitis in healthy children. *J. Pediatr.* 1992; 121:202-205.
 93. Sampaio JLM, Alves VAF, Leão SC, de Magalhães VD, Martino MDV, Mendes CMF, de Oliveira Misiara AC, Miyashiro K, Pasternak J, Rodrigues E, Rozenbaum R, Sant Anna Filho CA, Teixeira SRM, Xavier AC, Figueiredo MS, Leite JPG: *Mycobacterium haemophilum*: Emerging or underdiagnosed in Brazil? *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8:1359- 1360.
 94. Samra Z, Kaufmann L, Zeharia A, Ashkenazi S, Amir J, Bahar J, Reischl U, Naumann L: Optimal detection and identification of *Mycobacterium haemophilum* in specimens from pediatric patients with cervical lymphadenopathy. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37:832-834.
 95. Artenstein AW, Fritzingler D, Gasser RA Jr, Skillman LP, McEvoy PL, Hadfield TL: Infection due to *Mycobacterium haemophilum* identified by whole cell lipid analysis and nucleic acid sequencing. *Clin. Infect. Dis.* 1994; 19:1155-1157.
 96. Portaels F, Dawson DJ, Larsson L, Rigouts L: Biochemical properties and fatty acid composition of *Mycobacterium haemophilum*: Study of 16 isolates from Australian patients. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31:26-30.
 97. Thibert L, Lebel F, Martineau B: Two cases of *Mycobacterium haemophilum* infection in Canada. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28:621-623.
 98. Schwabacher H: A strain of mycobacterium isolated from skin lesions of a cold- blooded animal, *xenopus laevis*, and its relation to atypical acid fast bacilli occurring in man. *J. Hygiene* 1959; 57:57-67.
 99. Prigogine T, Stoffels G, Fauville-Dufaux M, Trolin C, Raftopoulos C: Primary psoas muscle abscess due to *Mycobacterium xenopi*. *Clin. Infect. Dis.* 1998; 26:221-222.
 100. Bennett SN, Peterson DE, Johnson DR, Hall WN, Robinson-Dunn B, Dietrich S. Bronchoscopy-associated *Mycobacterium xenopi* pseudoinfections. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 150:245-250.
 101. Goslee S, Wolinsky E: Water as a source of potentially pathogenic mycobacteria. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1976; 113:287-292.
 102. Yates MD, Pozniak A, Uttley AHC, Clarke R, Grange JM: Isolation of environmental mycobacteria from clinical specimens in South-East England: 1973-1993. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 1997; 1:75-80.
 103. Marx CE, Fan K, Morris AJ, Wilson ML, Damiani A, Weinstein MP: Laboratory and clinical evaluation of *Mycobacterium xenopi* isolates. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1995; 21:195-202.
 104. Schmitt H, Schnitzler N, Riehl J, Adam G, Sieberth H-G, Haase G: Successful treatment of pulmonary *Mycobacterium xenopi* infection in a natural killer cell-deficient patient with clarithromycin, rifabutin, and sparfloxacin. *Clin. Infect. Dis.* 1999; 29:120- 124.
 105. Lounis N, Truffot-Pernot C, Bentoucha A, Robert J, Ji B, Grosset J: Efficacies of clarithromycin regimens against *Mycobacterium xenopi* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45:3229-3230.
 106. Campbell IA, and the Research Committee of the British Thoracic Society: First randomised trial treatments for pulmonary disease caused by *M. avium-intracellulare*, *M. malmoense*, and *M. xenopi* in HIV negative patients: rifampicin, ethambutol and isoniazid versus rifampicin and ethambutol. *Thorax.* 2001; 56:167-172.
 107. Schröder KH, Juhlin I: *Mycobacterium malmoense* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1977; 27:241-246.
 108. Buchholz UT, McNeill MM, Keyes LE, Good RC: *Mycobacterium malmoense* infections in the United States,

- January 1993 through June 1995. Clin. Infect. Dis. 1998; 27:551-558.
109. Doig C, Muckersie L, Watt B, Forbes KJ: Molecular epidemiology of Mycobacterium malmoense infections in Scotland. J. Clin. Microbiol. 2002; 40:1103-1105.
 110. Alberts WM, Chandler KW, Solomon DA, Goldman AL: Pulmonary disease caused by Mycobacterium malmoense. Am. Rev. Respir. Dis. 1987; 135:1375-1378.
 111. Portaels F, Denef M, Larsson L: Pulmonary disease caused by Mycobacterium malmoense. Comments on the possible origin of infection and methods for laboratory diagnosis. Tubercle 1991; 72:218-222.
 112. Glennon M, Cormican MG, Ni RU, Heginbothom M, Gannon F, Smith T: A Mycobacterium malmoense-specific DNA probe from the 16S/23S rRNA intergenic spacer region. Mol. Cell. Probes. 1996; 10:337-345.
 113. Roth A, Fischer M, Hamid ME, Michalke S, Ludwig W, Mauch H: Differentiation of phylogenetically related slowly growing mycobacteria based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences. J. Clin. Microbiol. 1998; 36:139-147.
 114. Heginbothom ML, Lindholm-Levy PJ, Heifets LB: Susceptibilities of Mycobacterium malmoense determined at the growth optimum pH (pH 6.0). Int. J. Tuberc. Lung Dis. 1998; 2:430-434.
 115. Schäfer H, Ewig S, Hasper E, Pakoš E, Wilhelm K, Lüderitz B: Bronchopulmonary infection with Mycobacterium malmoense presenting as a bronchoesophageal fistula. Tuberc. Lung Dis. 1996; 77:287-290.
 116. Zenone T, Boibieux A, Tigaud S, Fredenucci J-F, Vincent V, Peyramond D: Nontuberculous mycobacterial tenosynovitis: Report of two cases. Clin. Infect. Dis. 1998; 26:1467-1468.

Trabajos Distinguidos, Serie Clínica Médica, integra el Programa SIIC de Educación Médica
Continua