

2 E. 16. 50



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

"ESTADO ACTUAL DE LAS MICOBACTERIOSIS
Y TUBERCULOSIS CUTANEAS".

TRABAJO MONOGRAFICO

Que para obtener el Titulo de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

ANA MARIA IBAÑEZ CARRANZA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION -----	1
I. GENERALIDADES -----	3
1.1. Antecedentes históricos -----	4
1.2. Epidemiología -----	7
1.3. Características de los agentes etiológicos -----	11
1.3.1. Clasificación -----	18
1.3.2. Constitución química -----	21
1.3.3. Requerimientos nutricionales y cultivo -----	22
1.3.4. Patogenicidad -----	26
1.4. Factores de resistencia del huésped -----	27
1.4.1. Factores no específicos -----	28
1.4.2. Factores específicos -----	29
1.4.2.1. Complicaciones de la vacunación con BCG --	31
II. CLASIFICACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS CUTANEA -----	35
2.1. Bolgest 1967 -----	36
2.2. Macotella Ruíz 1970 -----	36
2.3. Wolff, K. 1977 -----	38
2.4. Beyt, B.E., et al. 1981 -----	38
2.5. Latapí, Escalona y Estrada 1947-1984 -----	39
2.6. Descripción de cuadros clínicos de micobacteriosis y tuber- culosis cutáneas -----	40
III. DIAGNOSTICO DE LAS MICOBACTERIOSIS Y TUBERCULOSIS CUTANEAS ----	60
3.1. Aislamiento e identificación de <i>Mycobacteria</i> -----	60
3.1.1. Demostración de <i>Mycobacteria</i> en las secreciones pa- tológicas de tejidos -----	61
3.1.2. Aislamiento del agente causal en forma pura -----	63
3.1.3. Identificación de <i>Mycobacteria</i> -----	72
3.2. Pruebas cutáneas diferenciales -----	80
3.3. Estudio histopatológico -----	88
3.4. Estudio completo del paciente -----	89
3.5. Prueba terapéutica -----	90
3.6. Diagnóstico diferencial de las micobacteriosis cutáneas --	91
IV. TRATAMIENTO -----	92
4.1. Tratamiento para tuberculosis cutánea ocasionada por <i>Mycobacterium tuberculosis</i> -----	94

	Pág.
4.2. Tratamiento para enfermedad cutánea ocasionada por <i>Mycobacteria</i> diferente de <i>M. tuberculosis</i> -----	96
V. RESUMEN Y COMENTARIOS -----	105
VI. CONCLUSIONES -----	110
VII. APENDICES -----	112
Apéndice A. Medios de cultivo utilizados en el aislamiento de <i>Mycobacteria</i> . -----	112
1. Medio de Lowenstein-Jensen -----	112
2. Agar con ácido oleico de Dubos -----	113
3. Caldo de Middlebrook 7H9 -----	114
4. Agar de Middlebrook y Cohn 7H10 -----	115
Apéndice B. Procedimientos de laboratorio utilizados en el diagnóstico -----	117
1. Colección y manejo de especímenes clínicos -----	117
2. Procedimientos de laboratorio para microscopía -----	117
3. Procedimientos de laboratorio para el aislamiento ----	121
4. Incubación de cultivos -----	124
5. Tiempo de incubación -----	124
6. Inoculación en animales de laboratorio -----	124
7. Determinación de la temperatura óptima de aislamiento y el rango de crecimiento -----	125
8. Determinación de fotorreactividad de <i>Mycobacteria</i> ----	126
Apéndice C. Pruebas bioquímicas utilizadas en la identificación de <i>Mycobacteria</i> -----	128
1. Prueba de niacina -----	128
2. Prueba de nitrato reductasa -----	129
3. Prueba de catalasa -----	130
4. Prueba de catalasa a 68°C -----	130
5. Prueba de hidrólisis de Tween 80 -----	131
6. Prueba de arilsulfatasa -----	132
7. Prueba de ureasa -----	132
8. Prueba de utilización de hierro -----	133
Apéndice D. Pruebas de inhibición de crecimiento para <i>Mycobacteria</i> -----	134
1. Prueba de inhibición de crecimiento de <i>Mycobacteria</i> por hidracida del ácido carboxílico-2-tiofeno -----	134
2. Prueba de tolerancia a 5% de NaCl -----	134
VIII. BIBLIOGRAFIA -----	136

INTRODUCCION

En México, la tuberculosis en cualquiera de sus localizaciones es muy común, principalmente la pulmonar, siguiéndole en frecuencia la de ganglios linfáticos, mucosa enteral, genitales, huesos, piel, glándulas suprarrenales, meninges, nervios y articulaciones.

La piel, al igual que todos los órganos del cuerpo, es atacada por *Mycobacterium tuberculosis*, quizá el microorganismo patógeno de mayor ubicuidad en el mundo y en el organismo, ya que todos los aparatos y sistemas pueden ser atacados por él. Por otro lado, se ha encontrado en los últimos años que la piel puede ser atacada además, por *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium avium*, así como por diversas *Mycobacteria* diferentes de las especies mencionadas y que algunos autores designan como atípicas; éstas últimas, son causantes importantes de trastornos dermatológicos. Sin embargo, es importante destacar que el número de lesiones de tuberculosis en la piel es infinitamente menor que el de cualquier otra localización.

La tuberculosis de la piel en México, se ve con relativa frecuencia en casi todo el país (un caso por cada 145 enfermos de la piel), sobre todo si se compara con otros países en donde la tuberculosis cutánea no existe. Pero la enfermedad a menudo pasa inadvertida, además de que el cuadro clínico de ésta es muy polimorfo y depende del estado inmunológico y general del organismo, virulencia de los bacilos, forma de penetración y localización de éstos en la piel.

Aún cuando en México se tiene conocimiento de la tuberculosis cutánea en su forma cualicuativa desde antes de la conquista, en que era designada como "quechpalanaliztli", en años posteriores aún no era bien conocida, inclusive en 1960 se detectaron en una campaña contra la lepra, muchos casos de tuberculosis cutánea en Querétaro, Guanajuato, Jalisco y Guerrero.

Desgraciadamente el médico general posee poca información al respecto, siendo un hecho lamentable debido a que la tuberculosis cutánea y las otras microbacteriosis de la piel son de los trastornos cutáneos más curables actualmente, por lo que es necesario y urgente tener conocimiento de su existencia, tratamiento y dentro del diagnóstico, de la diferenciación de *Mycobacteria*.

I. GENERALIDADES

Lo mismo que a nivel de otros órganos, la tuberculosis puede manifestarse también en la piel, esta localización es poco frecuente y algunas de sus formas clínicas son, en el presente, extremadamente raras.

En los últimos años se ha observado un descenso impresionante de la frecuencia de tuberculosis pulmonar, descenso que desgraciadamente no ha sido acompañado de uno similar de las formas extrapulmonares, cuya frecuencia o bien es estacionaria o tiende a aumentar.

La tuberculosis de la piel es producida sobre todo por *M. tuberculosis* var. *hominis*, pero se ha señalado la frecuencia de *M. tuberculosis* var. *bovis*. Además, en recientes investigaciones se han encontrado con bastante frecuencia como agentes etiológicos de esta enfermedad, a *M. tuberculosis* var. *avium*, *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. intracellulare*, *M. ulcerans*, *M. kansasii*, *M. zshulgai* y *M. scrofulaceum* (92).

En la piel, la tuberculosis se presenta así misma en una gran variedad de expresiones clínicas, esto es debido al fenómeno de la potencialidad de la piel para reaccionar con muy diferentes manifestaciones dermatológicas frente a un mismo agente etiológico. La tuberculosis de la piel puede presentarse clínicamente como placas, úlceras, lesiones verrugosas, nódulos, tumores papilomatosos, reacciones vegetativas e infiltrados cicatriciales (89).

La tuberculosis cutánea tiene un curso eminentemente crónico, necesitando años para ocasionar las mismas destrucciones que otras infecciones

hacen en pocas semanas, como la sífilis.

La tuberculosis de la piel se considera, en general, una tuberculosis de reinfección, como primoinfección es muy rara, se ha observado espontáneamente en niños que conviven con pacientes con tuberculosis pulmonar o en personas que trabajan con animales o materiales contaminados. También se ha observado como primoinfección en la vacunación con BCG y entonces se produce el complejo primario: un nódulo en el sitio de la inoculación, linfagitis que a menudo pasa inadvertida y la adenitis regional.

La mayoría de los enfermos con tuberculosis cutánea ya han tenido primoinfección habitualmente pulmonar y por una reinfección endógena a partir de un foco primario, o exógena por llegada de nuevos microorganismos y sobre todo de acuerdo al estado inmunológico del huésped, se van a producir lesiones en la piel de un gran polimorfismo, que en ocasiones parecen de diferente etiología. Estos cuadros clínicos son de gran importancia, porque si no son tratados adecuada y oportunamente, ocasionan invalideces y hacen individuos débiles sociales, al quedar afectados en lo físico o en lo estético.

1.1. Antecedentes históricos

En México, se sabe de la tuberculosis cutánea en su forma coalicuativa, se conocía desde antes de la conquista con el nombre de "quechpalanaliztli", pero es hasta el siglo pasado que se tiene conocimiento de ella.

Algunas formas de tuberculosis de la piel, especialmente el lupus vulgar, fueron descritas repetidamente en el Siglo XVII y XVIII y el término lupus lo emplearon algunos de los antiguos investigadores. Bayle fue el primero en descubrir que la tuberculosis no se limitaba a los - -

pulmones, sino que podía afectar cualquier entidad del cuerpo.

El lupus vulgar es una de las formas más antiguamente identificadas, en 1814 Willan la llamó "lupus" que quiere decir lobo, aludiendo a su localización en la nariz y a su tendencia destructiva. En 1865 Villemain probó que la tuberculosis era infecciosa, pero la tuberculosis cutánea continuó diagnosticándose erróneamente, como otras dermatosis.

En 1897, González Ureña presenta en la Academia de Medicina en la Ciudad de México, un trabajo estadístico en que señala dos casos de lupus y en 1908 presenta su trabajo "La tuberculosis de la piel en la Ciudad de México", donde comunica 46 enfermos de tuberculosis cutánea entre 5,268 casos de enfermedad dermatológica, aunque entre ellos menciona algunos de lupus eritematoso.

Aunque desde 1882 Robert Koch había descubierto al agente etiológico de la tuberculosis y reproducido la enfermedad en animales de experimentación, este descubrimiento constituyó un avance extraordinario en contra de la enfermedad, pues permite de manera definitiva identificar al agente causal de diferentes cuadros clínicos de la tuberculosis. Este hecho, por las limitaciones de la época, como eran la falta de medios de detección de la enfermedad y la ausencia de un tratamiento específico contra ésta, estuvo postergado por más de 60 años, hasta cuando Waksman en 1944, descubrió la estreptomycinina y la puso en práctica en la curación de la tuberculosis, convirtiéndose así en una enfermedad curable.

Es así, como solamente después del descubrimiento de la tuberculina, la vacuna BCG, el mejoramiento de pruebas inmunológicas y la implantación de medidas terapéuticas específicas, fue posible la total identificación de los cambios que el bacilo podía causar en la piel.

Ya a principios de 1932, Pinner había postulado que microorganismos del género *Mycobacterium* podían invadir tejido humano y dar como consecuencia formación de tubérculos característicos. Seguido a esto hubo aislamientos de *Mycobacteria* de abscesos subcutáneos y enfermedades ulcerativas de la piel.

En 1940, se empieza a dar importancia en México a la tuberculosis cutánea debido al llamado de atención del profesor Richard Volk de Viena.

En 1947, Latapí propone la clasificación que sigue a la fecha la Escuela Mexicana de Dermatología. En 1952, este mismo autor y sus colaboradores usan la isoniacida contra la tuberculosis cutánea, con lo cual los casos parecen disminuir. Pero a partir de 1960 se empiezan a encontrar muchos casos en Querétaro, Michoacán, Guanajuato y Jalisco, y aún a la fecha son los estados en donde el índice de tuberculosis cutánea es alto, dentro de la República Mexicana.

Hasta 1948 se piensa casi únicamente en *M. tuberculosis* y *M. bovis* como agentes etiológicos de la tuberculosis de la piel, pero a finales de los años cuarenta y a principio de los cincuenta hay un gran número de trabajos acerca de la tuberculosis de la piel causada por *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* en el humano.

A *M. ulcerans* lo descubrieron en Australia en 1948 Mac Callum *et al.*, encontrándolo como causante de la enfermedad de Bairnsdale que se presenta como ulceración de la piel.

En 1951, Norden y Linnel aislaron por primera vez al bacilo ácido-resistente atípico *M. marinum* de una lesión granulomatosa en la piel, a la cual se les llamó granuloma de las piscinas. Luego se menciona a este mismo microorganismo como causante también de una lesión parecida a la

esporotricosis. En 1975, Smith *et al* reportan su transmisión por un insecto vector (113). Hanke *et al* reportan en 1980 a *M. marinum* como la bacteria atípica más comúnmente reportada como causante de enfermedad de la piel (57).

M. chelonae fue descrito por primera vez en 1953 por Moore y Fre- richs como causante de enfermedad en el hombre, se aisló de un absceso subcutáneo, y a esta comunicación se suceden muchas más, se le menciona como causante de una enfermedad cutánea tuberculoide, también se le ha descrito como causante de abscesos después de la vacunación contra difte- ria-tétanos y de poliomielitis por Barghans y Stanford (10) en 1973.

M. kansasii, fue mencionado por primera vez como causante de infec- ción cutánea en 1965 por Mabery *et al*.

Los primeros trabajos que se tienen de *M. avium* como causante de en- fermedad en humano son de 1966, en que Koenig, Collins y Heysel, des- criben haber encontrado al microorganismo como causante de problemas cu- táneos, siempre en personas con tuberculosis diseminada.

M. szulgai es la micobacteria atípica más recientemente encontrada como causante de infecciones en la piel, según Sybert *et al* mencionan en 1977 (120).

En México, Escalona reporta en 1975, que en la consulta externa del servicio de Dermatología del Hospital General de la Ciudad de México, la tuberculosis cutánea alcanza una incidencia que oscila entre el 2 y 3%, cada año, de los enfermos estudiados por primera vez (40).

1.2. Epidemiología

La incidencia de la tuberculosis de la piel causada por *M. tuberculosis*

ha mostrado una disminución constante durante las últimas 5 ó 6 décadas pasadas, solamente que ésta se ha acompañado de un importante aumento en las enfermedades cutáneas causadas por las *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* (70).

En los Estados Unidos, la tuberculosis de la piel siempre ha sido una enfermedad rara. En Europa media representa aproximadamente 1% de los casos clínicos dermatológicos vistos, el mismo porcentaje se presenta en México. Las dos formas clínicas más frecuentes a nivel mundial en el lupus vulgar (más de 50%) y la tuberculosis colicuvativa, pero hay diferencias considerables en la incidencia de las diferentes regiones geográficas. En la Ciudad de México la tuberculosis nodular profunda es la más común (32.79%) y le sigue la tuberculosis verrugosa (29.18%) según consta en los archivos del Centro Dermatológico Pascua (1964-1981).

En tiempos de crisis, como después de las dos guerras mundiales, ocurrieron con más frecuencia ciertas formas de tuberculosis de la piel. La mala nutrición, acompañada con bajas de nivel de vida, puede ser la explicación de estos resurgimientos.

El estado socioeconómico bajo se ve acompañado de un alto índice de tuberculosis cutánea, especialmente el lupus vulgar.

La tuberculosis de la piel tiene una distribución mundial pero prevalece en regiones con clima frío, húmedo y con pocas horas de luz solar (132).

En nuestra república es a la Ciudad de México, a quien corresponde el mayor número de casos, debido quizás a que es el lugar de estudio, luego el Estado de México, Puebla, Oaxaca, Veracruz, Tlaxcala y Guerrero.

La enfermedad cutánea es un problema frecuente en los países latinoamericanos, en Centro América tiene una frecuencia de 0.06%. En Perú alcanza un porcentaje del 3%. En cambio, en Cuba y República Dominicana, se considera rara esta afección. Brasil y Uruguay acusan cifras bajas.

En México en 1972, Aceves Ortega comunica un estudio realizado en Guadalajara y alrededores, en donde se presenta aproximadamente un caso por cada 220 enfermos examinados. Estrada (41) en 1977 comunica que comparativamente con la tuberculosis pulmonar, la casuística de tuberculosis cutánea en Guerrero es de 13%, siendo la forma clínica más frecuente la tuberculosis verrugosa, siguiéndole el lupus vulgar, la ocupación más frecuente fue la escolar, luego el ama de casa, albañiles y un chofer.

Durante los setenta se ha encontrado un alto porcentaje de enfermedades micobacterianas debidas a *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*. Estas últimas se han aislado del medio ambiente, suelo, polvo, agua, leche y animales, de todos éstos, el agua se ha reportado como fuente de las *Mycobacteria* potencialmente patógenas; así, *M. kansasii* se ha aislado del agua del grifo; de agua de norias se ha aislado *M. intracellulare* y otras como *M. marinum*, por lo que el agua sirve como una fuente de enfermedades humanas. También se han aislado de agua de acuarios y piscinas. A este respecto, Goslee y Wolinsky (52) en 1976, realizaron un estudio encontrando trabajos que mencionan al agua como fuente de *Mycobacteria* patógena en una amplia variedad de países del mundo.

Los pacientes con inmunidad celular menoscabada, representan la cuarta parte de casos de enfermedad por *M. kansasii*, su distribución es mundial, pero prevalece en Estados Unidos. No hay predominio racial y los hombres son afectados aproximadamente 3 veces más que las mujeres (60).

Ciertas formas de tuberculosis cutánea afectan a un sexo más que al otro, por ejemplo, el lupus vulgar es dos veces más frecuente en la mujer, mientras que la tuberculosis verrugosa es más a menudo encontrada en hombres. La tuberculosis nodular profunda en 82% de los casos se observa en mujeres, se cree que el sexo femenino está más frecuentemente afectado debido a que las mujeres conservan más años que los varones las características de la piel (47).

Es evidente la existencia de predisposiciones raciales aún no bien conocidas; por ejemplo, en los japoneses que padecen con igual frecuencia que los europeos tuberculosis pulmonar, es excepcional la tuberculosis de la piel. La invasión de la piel por *M. tuberculosis* ocurre en forma atípica en razas susceptibles y en comunidades donde la incidencia de tuberculosis pulmonar es alta (102). Igualmente, hay una alta incidencia en asiáticos (23), así como en países occidentales (115).

En cuanto a la edad concierne, la tuberculosis miliar generalizada se ve casi exclusivamente en menores de edad, lo mismo pasa con el complejo primario tuberculoso cutáneo que, aunque es muy raro, se encuentra en niños quienes generalmente conviven con adultos tuberculosos (88), es común también en gente relacionada con la medicina, y en personas que trabajan con animales y materiales contaminado. La tuberculosis colicativa usualmente ocurre en adolescentes y el lupus vulgar puede afectar en cualquier edad.

Se han visto erupciones cutáneas en tuberculosis congénita aunque sólo en raras ocasiones, en hijos de madres que padecen tuberculosis (88, 98).

La edad de mayor frecuencia en que se presenta la tuberculosis cutánea en la Ciudad de México, oscila entre los 11 y los 30 años, y la edad

más comúnmente registrada es alrededor de los 20 años, también se conocen varias formas de tuberculosis cutánea que atacan grupos de poca edad.

Hay algunos datos que establecen que el grupo sanguíneo B, es el más comúnmente afectado por tuberculosis cutánea (111).

1.3. Características de los agentes etiológicos

Las *Mycobacteria* son bacilos inmóviles, no esporulados, pleomórficos, aerobios o microaerobios, Grampositivos, estas células son procariontes, están rodeadas por una pared rígida, son no capsulados, su largo va de 0.5 a 4 μ o más y de ancho miden de 0.3 a 0.6 μ .

Acido resistencia. Debido a la gran riqueza de lípidos de su pared celular, estas células son muy difíciles de teñir, pero una vez teñidas es difícil decolorarlas con alcohol o ácidos, de ahí su ácido-alcohol resistencia. Esta propiedad se ha atribuido a la presencia de un lípido en el cuerpo de las *Mycobacteria* conocido como ácido micólico, pero aún cuando se extraiga, se sigue presentando la ácido-resistencia, por lo cual se sabe que no es el único responsable. Esta cualidad se conserva únicamente con la integridad física de la célula, pues cuando ésta está dañada, sin haber pérdida de ácidos micólicos, sí la hay de la ácido-resistencia. Esta propiedad no es siempre suficiente para distinguirlas de cultivos o cepas de *Nocardia* y *Corynebacteria*, que también la presentan. El carácter depende también de la edad del cultivo, la composición del medio y el tiempo en que se realizó el aislamiento.

Rango de crecimiento. Hay especies de rápido crecimiento que requieren de 2 a 7 días para desarrollar en medios simples a una temperatura de 20 a 40°C, las hay también de lento crecimiento que requieren de 2 a 6 semanas sobre medios complejos y a temperaturas restringidas.

Temperatura de crecimiento. Es una característica ampliamente usada para la deferenciación de *Mycobacteria*, las que se dividieron según su temperatura óptima de crecimiento en, 1) Termófilas, microorganismos que crecen a 40°C o más, 2) Mesófilas, cuyo rango de temperatura de crecimiento es de 20 a 37°C, 3) Psicrófilas, que desarrollan a temperatura de 20°C o menos.

Producción de pigmentos. Las *Mycobacteria* sintetizan pigmentos carotenoides que son abundantes en varias especies. Algunas realizan la producción de pigmento sólo después de que los cultivos jóvenes se exponen a la luz visible y se designan fotocromógenas; en otras llamadas escotromógenas, el pigmento se sintetiza aún cuando el cultivo se incubaba en la obscuridad, o en la luz, finalmente, un tercer grupo no sintetiza pigmento en cantidades notorias, y éstas se llaman *Mycobacteria* no fotocromógenas.

En general, el grupo escotromógeno cuando desarrolla en la obscuridad, produce un pigmento amarillo brillante que puede ser anaranjado y rara vez llega al rojo si se expone a la luz por 2 semanas, el mayor componente de los pigmentos de escotromógenas es el β -caroteno. Las fotocromógenas producen un pigmento amarillo limón sólo si son expuestas a la luz, su pigmento contiene β -caroteno y licógeno junto con α -caroteno. (99, 124).

Se sabe que la producción de β -caroteno soluble, que es el pigmento de los fotocromógenos, se controla por una enzima fotoinducible, oxígeno dependiente, que es una pirofosfato sintetasa. Para el desarrollo de pigmentos se requiere pues, una fuente de oxígeno, por lo cual se puede usar esta dependencia como prueba, usando una fuente de oxígeno controlada. La fotosíntesis de β -caroteno requiere además una fuente de glicerol, glucosa

o piruvato, además de que la formación de pigmento por *Mycobacteria* es influenciada por la composición del medio de cultivo.

Las *Mycobacteria* fotocromógenas y escotocromógenas pueden convertirse en no cromógenas por irradiación con luz ultravioleta. Esta también sucede naturalmente ya que existen variedades no pigmentadas y escotocromógenas de *M. kansasii* (60, 124).

La función de los carotenos no está del todo clara, pero lo más probable es que juegan un papel de fotoprotección, lo cual es una ventaja para las bacterias que crecen en medio ambiente abierto. En estudios realizados, se encontró que cepas fuertemente pigmentadas de *M. kansasii*, fueron más capaces de soportar los efectos dañinos de la radiación ultravioleta, que las menos pigmentadas (3, 99, 124).

Morfología colonial. Las *Mycobacteria* crecen en medio sólido, se agrupan para formar colonias lisas, a menudo rugosas, suaves y de consistencia butirácea, polvosas o cerosas, de transparentes a opacas. Los cultivos viejos dan apariencia de crecimiento filamentosos y, menos comúnmente, ramificado. *M. tuberculosis* y *M. bovis* no muestran filamentosos, en cambio hay otras que sí muestran extensiones filamentosas de sus colonias como *M. fortuitum*.

Entre algunas de las características de estos microorganismos, encontramos su capacidad para reducir el nitrato, la síntesis de catalasa, la actividad de arilsulfatasa, la hidrólisis del Tween 80, la reducción del telurito y su crecimiento en medios conteniendo agentes inhibidores, constituyendo características usadas con bastante frecuencia para la identificación de los mismos.

M. tuberculosis. Es un bacilo delgado, recto o ligeramente curvo, de 2.5 a 3.5 μ por 0.3 μ con terminaciones redondas o puntiagudas. En los

tejidos este microorganismo puede encontrarse individualmente, en pares simulando V, o formando Y en unión con otros, o en acúmulos en forma paralela. No esporulado, inmóvil, aerobio estricto. Se identifica por tinción de Ziehl Neelsen que es la utilizada para los ácido-alcohol resistentes, sus vacuolas no se tiñen y están distribuidas irregularmente.

En los medios de cultivo puede presentar formas cocoides o filamentosas. Se cultiva en el medio de Lowenstein-Jensen a una temperatura de 37°C, su desarrollo es evidente en 3 a 6 semanas de incubación (90).

Las cepas virulentas de este microorganismo se caracterizan por la formación de cordones (microcolonias en forma de serpentina), un patrón asociado con la presencia de un glicolípido tóxico (factor cordón) y con su virulencia. Otra característica usada para su identificación, es la biosíntesis de ácido nicotínico (niacina), pues es éste quien más lo produce entre las *Mycobacteria*.

La membrana celular de este microorganismo puede inducir hipersensibilidad retardada y cierta resistencia a la infección, en tanto que el citoplasma sólo provoca en animales previamente sensibilizados, reacciones de hipersensibilidad retardada.

M. tuberculosis no produce toxinas y su acción patógena se debe a la proliferación en el organismo huésped y la interacción con el mismo.

M. bovis. Es un bacilo corto y fino en comparación con el bacilo tuberculoso, pero la diferencia es pequeña, en los cultivos este microorganismo tiende a crecer lentamente y no tolera altas concentraciones de glicerol. Las pruebas serológicas y cutáneas no pueden diferenciar a este microorganismo del bacilo tuberculoso.

M. fortuitum. Bacilos pleomórficos que exhiben varios grados de ácido-alcohol resistencia, se agrupan en formación de palizada, no pigmentado, de crecimiento rápido en un rango de temperatura de 25 a 40°C, y algunas cepas crecen pobremente a 42°C, su desarrollo es sobre medio de Lowenstein-Jensen, pero tiene gran capacidad para desarrollar en medios ordinarios, requiere de 2 a 5 días para formar colonias visibles en agar sangre. En el aislamiento primario se pueden requerir de 7 a 12 días para crecer, en los subcultivos de 2 a 3 días. Es muy patógeno.

Las colonias pueden ser rugosas o lisas, o una mezcla de ambas variedades y son generalmente no cromógenas. Es un microorganismo de vida libre, ubicuota ya que puede encontrarse en cualquier lugar del medio ambiente, agua, tierra, polvo.

Dan lugar a una enfermedad diseminada en un huésped con déficit inmunitario (35). Se diferencia de *M. chelonae* pues éste está imposibilitado para la reducción de nitratos, mientras que *M. fortuitum* sí lo hace.

M. intracellulare. Es pleomórfico, usualmente corto con gránulos ácido resistentes bipolares y no forman cordones. Es uno de los más patógenos, no cromogénicos, aún cuando se exponga a la luz. Ha sido aislado de tierra, agua dulce, agua salada (55), tejidos animales, polvo de casa, al igual que la mayoría de las *Mycobacteria*.

M. chelonae. Es un bacilo aerobio, pleomórfico, muy patógeno. Es una especie de rápido crecimiento en un rango de temperatura de 25 a 40°C, son capaces de desarrollar en medios ordinarios, lo hacen bien en el medio de Lowenstein-Jensen, las colonias pueden ser rugosas o lisas, o una mezcla de ambas, generalmente son no cromógenas, pero a veces presentan una pigmentación casi imperceptible cuando permanecen en la obscuridad, no hay fotoinducción. La reducción de nitratos es negativa para este --

microorganismo. Se ha aislado principalmente del agua y da lugar a una enfermedad diseminada en el huésped con déficit inmunitario (91).

M. avium. Es pleomórfico, usualmente es un bacilo corto con gránulos ácido resistentes bipolares y no forma cordones. Es indistinguible morfológicamente de *M. tuberculosis* pero tiene su desarrollo a 41°C, que es superior a la temperatura adecuada para el bacilo bovino y humano, pueden observarse pequeñas diferencias inmunológicas.

Una prueba útil para distinguir este microorganismo de *M. intracellulare*, es la de la arilsulfatasa, pues el bacilo aviario muestra actividad y el anterior es débilmente positivo. Por serotipificación se diferencian las especies, principalmente por aglutinación. La composición lipídica es muy similar a la del bacilo bovino y tuberculoso.

M. scrofulaceum. Es un bacilo potencialmente patógeno, escotocromógeno, pleomórfico. Las colonias son de consistencia parecida a la mantequilla, generalmente son lisas, globoides y de color anaranjado, aunque el pigmento va de amarillo pálido a anaranjado intenso y se va oscureciendo si es expuesto por largo tiempo a la luz.

Sus características son muy similares a las de *M. avium* en cuanto a reacciones bioquímicas, antígenos de superficie y resistencia a las drogas; un estudio en cromatografía de capa fina de sus lípidos, no los diferencia, pero por inmunodifusión se encuentran antígenos específicos de especie para cada uno.

M. ulcerans. Tiene una gran semejanza con el bacilo tuberculoso en lo que respecta a morfología, tipo de crecimiento y especificidad inmunológica, pero es catalasa positiva y el bacilo tuberculoso es negativo para esta prueba. Miden 3 μ de largo por 0.35 μ de ancho, pero pueden ser

mucho más cortos o más largos. Es un bacilo de lento crecimiento y su temperatura óptima es de 33°C, pero es apto para multiplicarse por arriba de esta temperatura.

Es productor de una exotoxina termoestable, insoluble en éter, de bajo peso molecular, que se ha asociado con la ulceración de la piel, donde hay efectos citogénicos que no producen otras *Mycobacteria*(61). Aún hay la discusión de que la toxina sea una unidad estructural de la célula, tal como una endotoxina, que se libera durante la autólisis de la célula. Se cree que es el único bacilo con esta característica.

M. kansasii. Es un bacilo más largo y más ancho que el bacilo tuberculoso, inmóvil, presenta característicamente bandas alternas teñidas y no teñidas, debido a sus gránulos largos y espesos. Sus colonias presentan pigmento amarillo, cuando se exponen durante 24 horas a la luz, la coloración está dada por cristales de β -caroteno.

Desarrolla bien en el medio de Lowenstein-Jensen en 1 a 2 semanas a 31-37°C, rango de temperatura usada para el primoaislamiento. Su reservorio natural no se conoce, pero se ha encontrado en tierra, polvo y muestras de agua de una gran parte del mundo, las cepas aisladas del agua son catalasa positiva (91, 117).

M. marinum. Es un bacilo con un crecimiento óptimo en el rango de temperatura de 31 a 33°C en el curso de 7 a 12 días, pero crecen de 36 a 37°C especialmente si es subcultivo. Los requerimientos de temperatura son de particular importancia cuando se intenta aislarlo de una lesión de la piel. Las colonias crecen en la obscuridad sin pigmentación, son suaves, húmedas y ligeramente plegadas. Al exponerse a la luz muestran fotocromogenicidad, producen un pigmento amarillo. Es un patógeno oportunista del hombre y animales, puede encontrarse en agua dulce o salada

como contaminante de peces infectados y otras formas de vida marina.

M. szulgai. Es escotocromogéno cuando crece a 37°C, pero fotocromógeno cuando crece a 25°C. Se ha identificado una proteína antigénica de considerable especificidad, a partir de un filtrado de cepas de este microorganismo. Produce pigmento en la obscuridad cuando desarrolla a temperatura óptima. Muestra una fuerte actividad de catalasa, reduce los nitratos, muestra una lenta hidrólisis del tween, es arilsulfatasa positivo. Tiene componentes lipídicos distintivos.

1.3.1. Clasificación de las *Mycobacteria*

Las *Mycobacteria* se consideran como formas de transición entre las eubacterias y los actinomicetos; algunos de éstos últimos pertenecientes al género *Nocardia* son débilmente ácido resistentes; además algunas *Mycobacteria* pueden mostrar ramificaciones. De acuerdo con esto, se han clasificado en el orden actinomicetales, dentro del cual está la familia *Mycobacteriaceae* donde encontramos estos microorganismos sin micelio rudimentario, cuyo único género es *Mycobacterium* y en el cual están los bacilos ácido resistentes, inmóviles y no esporulados.

Clasificación de Runyon. De acuerdo con este investigador, las *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* se clasifican en 4 grupos, tomando en cuenta las características de cultivo, su morfología, la textura de las colonias y la producción de pigmento en presencia de la luz o en la obscuridad, la rapidez de crecimiento a diferentes temperaturas, la producción de catalasa y la prueba de niacina (77).

GRUPO I	Fotocromógenas	<i>M. kansasii</i> , <i>M. marinum</i> , <i>M. simiae</i>
GRUPO II	Escotocromógenas	<i>M. scrofulaceum</i> , <i>M. gordonae</i> , <i>M. flavescens</i>
GRUPO III	No fotocromógenas	<i>M. avium</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. gas- tri</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. nonchromogenicum</i>
GRUPO IV	De rápido creci- miento	<i>M. fortuitum</i> , <i>M. chelonae</i>

Aún cuando esta clasificación se usa ampliamente en la clínica (118) está basada en criterios inconstantes, por lo que no es muy clara para los comités internacionales. Su mérito es haber sido la primera clasificación, simple y exacta para su época, 1959. Debido a lo anterior, se han seguido haciendo esfuerzos para mejorarla.

Para llegar a una clasificación más exacta, se ha usado análisis de lípidos por espectroscopía de infrarrojo, cromatografía en capa fina sobre gel de sílice, pruebas bioquímicas y enzimáticas, serología como aglutinación y fijación de complemento, seroaglutinación y fijación de complemento, seroaglutinación e inmunofluorescencia. Otro proceso usado es la respuesta diferencial a pruebas cutáneas con antígenos de conejos y cobayos, sensibilizados específicamente.

Para distinguir entre especies del género, se ha hecho el análisis de antígenos micobacterianos por inmunodifusión y por inmunoelectroforesis, llegando así a una clasificación más aceptable recientemente.

Clasificación aceptada por el Comité en Bacteriología e Inmunología de la Unión Internacional de la Lucha contra la Tuberculosis. La Tabla 1 muestra las especies del género *Mycobacterium* aceptadas por este Comité, ésta se publicó en 1979 (14).

Tabla 1. Especies del género *Mycobacterium* aceptadas por el Comité en Bacteriología e Inmunología de la Unión Internacional de Lucha contra la tuberculosis

Grupo	Patógeno estricto o potencial	Patógeno estricto ocasional o no patógeno
Desarrollo lento o no cultivables y patógenos estrictos	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. bovis</i> <i>M. africanum</i> <i>M. ulcerans</i> <i>M. leprae</i>	
Fotocromógenos	<i>M. kansasii</i> <i>M. marinum</i> <i>M. simiae</i> <i>M. asiaticum</i>	
Escotocromógenos	<i>M. scrofulaceum</i> <i>M. szulgai</i> <i>M. xenopi</i>	<i>M. gordonae</i> <i>M. flavescens</i>
No fotocromógenos	<i>M. avium</i> <i>M. intracellulare</i> <i>M. malmoeense</i>	<i>M. terrae</i> <i>M. triviale</i> <i>M. nonchromogenicum</i>
De desarrollo rápido	<i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i>	<i>M. vaccae</i> <i>M. smegmatis</i> <i>M. phlei</i> <i>M. parafortuitum</i> <i>M. neoaurum</i> <i>M. thermoresistibile</i> <i>M. chitae</i> <i>M. gadium</i> <i>M. gilvium</i> <i>M. duvalii</i> <i>M. aurum</i>
Patógenos de animales	<i>M. lepraemurium</i> <i>M. micoti</i> <i>M. paratuberculosis</i> <i>M. farciogenes</i> <i>M. senegalence</i>	

Tomada de: La importancia clínica de las *Mycobacteria* diferentes de *M. Tuberculosis*. Trabajo Monográfico, 1982 (14)

1.3.2. Constitución química

Los principales componentes del género son: lípidos, proteínas y polisacáridos, que se hallan principalmente en la pared celular de éste.

Lípidos. El alto contenido de lípidos de las *Mycobacteria*, con cantidades que oscilan entre el 20 y 60% de su peso seco, es una de sus principales características. Se encontró que el 97% de los lípidos extraídos de la pared celular de cepas de BCG eran ácido micólico (99).

Los ácidos micólicos se han clasificado en función del número de átomos de carbono. Los constituidos por esqueletos de 80 átomos, presentes en todas las cepas del género *Mycobacterium*, se designan ácidos micólicos en el sentido estricto; los que presentan esqueletos de cerca de 50 átomos, encontrados en el género *Nocardia*, ácidos nocardomicólicos y los que contienen 30 átomos de carbono, los cuales parecen estar asociados con ciertas cepas de *Corynebacterium*, ácidos corynomicólicos.

Entre los micósidos más importantes, que contienen ácido micólico están, el factor cordón y la cera D (99).

Los antígenos más importantes del bacilo tuberculoso son las tuberculino proteínas, de las cuales se conocen un número de diferentes fracciones, son los componentes activos de las preparaciones tuberculínicas y son responsables de la reacción tuberculínica retardada en individuos sensibilizados.

Composición química de la pared celular. La pared tiene una estructura muy compleja que puede ser mejor descrita como un lipoglicomucopéptido macromolecular, que forma la sustancia base, con la cual se asocian una variedad de otras moléculas (14, 99).

La pared celular cruda contiene grandes cantidades de proteína y aminoácidos, uno de los polipéptidos más abundante es el ácido poliglutamico.

Asociados con la pared están muchos lípidos, glicolípidos, glicosulfolípidos, pero estos materiales lipídicos no están unidos en forma covalente a la pared, contribuyendo de manera notable a las características de la superficie celular; algunos lípidos tales como los micósidos se localizan en la superficie de la pared. Otro material lipídico dentro de la pared incluye la micobactina que, bajo ciertas condiciones de crecimiento, puede constituir un poco más del 10% del total del peso de la célula. La micobactina funciona como un transportador de hierro, aunque sin duda dentro de la pared deben existir otros transportadores de nutrientes.

Existe un cierto número de polisacáridos dentro de la pared, el más abundante es el α -glucano. Los glucanos de *M. smegmatis* y *M. tuberculosis* se han estudiado con detalle, por lo general son de pesos moleculares altos. Manana, arabinomanana y posiblemente un arabinogalactomanana forman parte de la pared celular. Algunos lipopolisacáridos están también dentro de ésta, pero son suficientemente solubles en agua para difundirse dentro del medio de cultivo (99).

1.3.3. Requerimientos nutricionales y cultivo

Fuente de carbono. Sin duda la más importante para un crecimiento exitoso *in vitro*, es el glicerol que puede ser utilizado sin excepción por *Mycobacteria*, otras fuentes de carbono tales como glucosa, fructuosa, acetato, piruvato, citrato o propanol pueden ser usadas por muchas, aunque hay excepciones. Por otro lado, la utilización de sacarosa, succinato, malato, fumarato y butano sólo la realizan pocas especies. La - - -

capacidad para usar tanto estos compuestos como otros es, por supuesto, de importancia taxonómica y diagnóstica.

El glutamato es uno de los nutrientes preferidos para la iniciación del crecimiento de *M. tuberculosis*, en un medio que contienen glicerol y glutamato, hay una utilización primaria del segundo. El citrato se emplea comúnmente en medios micobacterianos, no es utilizado por *M. tuberculosis* H₃₇Rv. El aumento aparente en el crecimiento, por efecto del citrato, se atribuye indudablemente a su capacidad para quelar con calcio, hierro y magnesio, previniendo así la precipitación de éstos en el medio líquido (14).

Fuente de nitrógeno. Se pueden utilizar varias fuentes de nitrógeno para el crecimiento, algunas especies pueden utilizar nitrato y nitrito como única fuente y esto es a menudo un parámetro de identificación de *Mycobacteria*. Muchas especies pueden utilizar sales de amonio, pero los mejores rangos de crecimiento se obtienen cuando se usan aminoácidos o aminas como fuente de nitrógeno, en especial asparagina, glutamato, aspartato y alanina son buenos estimulantes del crecimiento (14).

Las amidas, incluyendo la urea, son utilizadas por algunas especies como fuente de nitrógeno y, en algunos casos, la acetamida como fuente de carbono. La capacidad para hidrolizar ciertas amidas, especialmente urea, nicotinamida y pirazinamida se usa frecuentemente como criterio taxonómico.

Elementos inorgánicos. Se han conocido desde hace tiempo los requerimientos de elementos inorgánicos como potasio, fósforo (como PO_4^{3-} ó PO_4^{2-}), magnesio, azufre (como SO_4^{2-}), para el máximo desarrollo de *Mycobacteria*. De los cuatro mencionados solamente el potasio se ha investigado

con mucho detalle (99).

Los requerimientos de trazas de elementos por *Mycobacteria*, son probablemente idénticos a los que necesitan otras bacterias, pero no todas ellas requieren las mismas cantidades de un metal en particular. La cantidad que de estos elementos se tiene que añadir al medio de cultivo, depende de las impurezas que el mismo medio contenga como contaminantes.

En trabajos recientes se recomienda la adición de 10 µg/ml de hierro pero esto es una cantidad empírica.

Se ha indicado también el requerimiento de Ca^{2+} para algunas especies de *Mycobacteria*. Otras trazas de metales estudiadas por su característica de promover el desarrollo bacteriano son: Al^{3+} , Ag^+ , BO_3^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , MoO_4^{2-} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , VO_3^- .

Se han hecho observaciones preliminares sobre la incorporación de varios isótopos radiactivos en cepas de BCG, encontrando que se utilizan todos los isótopos (Fe, Zn, Mn, Co, Sr, Cs, Pm, Eu, Hg e I).

Existen sumarios de las consecuencias metabólicas por deficiencia en trazas de metales en *Mycobacteria* (14).

Cultivo. La mayoría de las *Mycobacteria* desarrollan en medios químicos bien definidos; sin embargo, la velocidad de desarrollo puede variar desde el crecimiento de *M. tuberculosis* que es lento, hasta el de los safitos como *M. phlei* y *M. smegmatis*, que es relativamente rápido.

Si el desarrollo se efectúa sin agitación, todas desarrollan en forma de una membrana costrosa sobre medios líquidos, y el crecimiento máximo se alcanza entre 8 a 10 semanas para *M. tuberculosis* y 4 a 5 días para *M. smegmatis*. En medio de cultivo con fuentes de carbono y nitrógeno adecuadas, el desarrollo puede mejorarse con agitación, pero ésta debe

ser lenta. Se ha encontrado que con una agitación de 200 rpm/min se acorta la fase lag de *M. tuberculosis* de 40 días a 13; sin embargo, utilizan condiciones similares en el desarrollo de *M. smegmatis* no hay ningún cambio.

La adición de surfactantes como Tween 80 a los medios de cultivo, tiende a incrementar el desarrollo debido a que previene la agregación de células; sin embargo, este incremento en el desarrollo no se compara al que se obtiene en medios de cultivo con agitación. El Tween 80 no es un surfactante de tipo pasivo y afecta el metabolismo de la célula, específicamente su composición; se ha descrito que es efectivamente hidrolizado por cepas de *M. avium* y el ácido oleico resultante, incorporado a los lípidos. Por otra parte, el Tween 80 en concentraciones aproximadamente al 1% en los medios de cultivo, incrementa el volumen celular en un 45% y dobla el contenido total de lípidos.

Se demostró que el ácido oleico se incorpora a los triglicéridos o puede existir sin ningún cambio en el citoplasma en forma de glóbulos. En el desarrollo de *M. smegmatis* bajo diferentes condiciones de agitación, se observa que la fase lag no se acorta; sin embargo, la velocidad de desarrollo se incrementa. La razón para este incremento sería la dispersión de las células, que produce aumento en el % de peso seco y fijación de CO₂ por la continua aereación del medio de cultivo. La fijación de CO₂ por *Mycobacteria* es importante en el metabolismo y puede contribuir apreciablemente al contenido total de carbono (14).

Cuando se requiere el crecimiento de pequeños inóculos se recomienda CO₂ en una concentración de 6 a 8% y agitación.

Mycobacteria muestran una sensible preferencia nutricional por los lípidos; la yema de huevo ha sido un constituyente de los medios - - -

enriquecidos utilizados para su aislamiento. Así, aunque el bacilo tuberculoso es muy sensible a la inhibición por los ácidos grasos de cadenas largas, puede ser estimulado por ellos cuando se incorporan al medio en concentraciones muy bajas. Puede obtenerse una concentración satisfactoria añadiendo al medio, albúmina de suero, que liga los ácidos grasos con una afinidad suficiente para mantener su concentración libre a niveles óptimos para el crecimiento.

Se han hecho un sinnúmero de estudios para determinar la forma adecuada de primoaislamiento de *Mycobacteria*, entre estos se ha comparado las ventajas que ofrecen los medios de cultivo, concluyendo que el medio de Middlebrook 7H9 no ofrece ninguna ventaja sobre el medio de Lowenstein-Jensen incubado en CO₂.

1.3.4. Patogenicidad

La virulencia del microorganismo, el tamaño y localización del inóculo, sin dejar de tomar en cuenta los factores de resistencia del huésped, son factores que ayudan o no a la institución de la enfermedad, así como también son importantes los factores de resistencia del bacilo para su patogenicidad.

Las enormes cantidades de lípidos en la pared de las *Mycobacteria*, sin duda explican su alta resistencia a los agentes físicos y químicos, a la desecación en presencia de materia orgánica, su resistencia a los ácidos, álcalis y colorantes, al igual que a detergentes catiónicos, a la destrucción celular por los fagocitos, a la acción bactericida de los anticuerpos junto con el complemento y además a resistir las enzimas digestivas del tejido del huésped.

Las capas más externas de la pared celular de las especies del género contienen polianiones, que son capaces de bloquear la fusión de macrófagos, lisosomas con fagosomas y dos glicolípidos que son el sulfátido y el factor cordón, los cuales son tóxicos para la mitocondria. Estos componentes pueden contribuir a la patogenicidad de ciertas cepas. El factor de crecimiento en cordón se ha relacionado realmente con la virulencia, por medio de las siguientes pruebas: 1) Es una sustancia tóxica: inhibe la migración de los leucocitos polimorfonucleares normales *in vitro*, como lo hace el bacilo tuberculoso virulento, 2) es más abundante en las cepas virulentas, 3) su extracción, vuelve las células no virulentas, aún cuando permanecen vivas, 4) el bacilo tuberculoso obtenido tras pases repetidos en animales o de cultivos jóvenes, es más virulento y posee un mayor contenido de factor cordón que las células de la misma cepa provenientes de cultivos viejos. Así, el factor cordón contribuye probablemente de un modo sustancial a la acción patógena del bacilo (36).

El número de bacilos encontrados en la piel y su virulencia influyen en el tipo de manifestación clínica de la enfermedad, así el 50 a 90% de los casos de lupus vulgar están caracterizados por ser provocados por el bacilo que exhibe reducida virulencia. Al parecer, resulta citotóxica la presencia de un gran número de bacilos en crecimiento en el interior de los macrófagos, sin embargo, no se ha encontrado la sustancia causante de la citotoxicidad.

El modo de introducción del bacilo en la piel, es un factor que favorece o no el desarrollo de tuberculosis en ésta.

1.4. Factores de resistencia del huésped

Después de que *Mycobacterium* ha invadido el tejido del huésped, puede

multiplicarse y empezar el proceso de la enfermedad, o la multiplicación se frena o anula completamente. El balance entre la multiplicación bacteriana y la destrucción de la misma, está determinada no solamente por las propiedades de invasión del microorganismo, sino también por el poder inherente o adquirido del huésped para controlar la infección. Encontramos así factores específicos y no específicos de resistencia del huésped (132).

1.4.1. Factores no específicos

La especie humana es muy susceptible a la infección tuberculosa, pero existen diferencias considerables entre la población y entre los individuos. La población cuyo contacto con el bacilo de la tuberculosis ha sido por cientos de años es, en general, menos susceptible que las razas que sólo han estado en contacto con el bacilo recientemente.

La herencia también juega su papel, pues la enfermedad aparece más frecuentemente en gemelos monocigotos que en dicigotos, se ha encontrado que el factor herencia es dos veces más importante que el factor medio ambiente.

La importancia de los factores hormonales se sugiere por las sorprendentes variaciones en resistencia de la edad y aunque en menor grado, con el sexo. La tuberculosis puede ser grave en los niños; quizá a causa de inmadurez de sus mecanismos inmunes, disminuye rápidamente en frecuencia y gravedad con el aumento de la edad, entre los 3 y los 12 años la enfermedad progresiva es casi desconocida, incluso en los niños que están altamente expuestos al convivir con sujetos tuberculosos. La sensibilidad a la enfermedad aumenta rápidamente durante la adolescencia y entre los adultos jóvenes la tuberculosis es más frecuente en las mujeres.

Otros factores de resistencia importantes, son el estado general de salud y el tipo somático del individuo. La mala nutrición, el hacinamiento y el sobreesfuerzo disminuyen la resistencia frente a la enfermedad, aunque las pruebas realizadas hasta ahora no han establecido una relación causal absoluta.

La identificación de otras enfermedades microbacterianas en el hombre y la realización del contacto con microorganismos no patógenos del medio ambiente, conducen realmente a la sensibilización, la cual puede reaccionar cruzadamente con tuberculosis, elevando la posibilidad de que tal contacto pueda contribuir a un estado de inmunidad (132).

1.4.2. Factores específicos

El estado de sensibilidad de un individuo infectado con *Mycobacterium* es de significado considerable en la patogénesis de las lesiones tuberculosas de la piel. Obviamente una infección primaria de la piel (Complejo primario tuberculoso cutáneo) puede dar como resultado manifestaciones clínicas que son muy diferentes de las que se producen después de la inoculación de *Mycobacteria* dentro de la piel de un individuo previamente sensibilizado (tuberculosis verrugosa).

Del mismo modo, la difusión hematógica de *Mycobacteria* en un individuo con sensibilidad baja, es diferente a la que ocurre en personas en quienes el estado de sensibilidad e inmunidad es alta.

La relación entre hipersensibilidad e inmunidad en la enfermedad tuberculosa aún no está muy clara. Algunas veces la hipersensibilidad ha sido responsable de la inmunidad, por lo que se llegó a pensar que la reacción alérgica para *Mycobacterium*, juega una parte en el mecanismo de defensa del cuerpo.

Se ha observado en animales inoculados con *Mycobacterium*, que hay una multiplicación bacilar ilimitada antes de un ataque de hipersensibilidad; pero la destrucción bacilar se realiza alrededor del tiempo en que la hipersensibilidad se desarrolló casi completamente o ha alcanzado su máximo. En pacientes con tuberculosis clínica, un aumento de sensibilidad en la piel indica pronóstico favorable y en tuberculosis de la piel con niveles altos de hipersensibilidad en la piel el número de bacterias dentro de las lesiones es muy pequeño. Así pues, la alergia tuberculínica no es necesariamente por inmunidad celular debida a *Mycobacterium* y sensibilidad e inmunidad no siempre son paralelas una y otra. Desafortunadamente poco se sabe también acerca de los antígenos involucrados en el desarrollo de la inmunidad y la inmunidad aún no puede ser realmente correlacionada con resistencia. Generalmente, hipersensibilidad e inmunidad desarrollan al mismo tiempo, por lo que puede ser que ambas representen diferentes aspectos de un mecanismo celular especial involucrando células mononucleares, pero provocado por diferentes antígenos.

Cualquier trastorno del balance entre el estado inmunológico del paciente por un lado y el grado de invasión y virulencia del bacilo por el otro, tienen relación en el curso de la enfermedad. Esto puede suceder en enfermedades infecciosas, particularmente sarampión y linfoma.

La administración constante de corticosteroides o agentes citotóxicos, son factores desfavorables para la resistencia del huésped, puesto que los corticosteroides disminuyen la función de linfocitos T. La administración de cortisona en el hombre disminuye la resistencia a la tuberculosis y tiende a enmascarar sus síntomas y a abolir la reactividad a la tuberculosis.

La condición del tejido invadido por *Mycobacteria*, así como las propiedades de los componentes de éste, deben también tomarse en cuenta. Las lesiones desarrolladas en la dermis superior toman aspectos clínicos y curso que pueden ser muy diferentes de aquéllas desarrolladas en los tejidos subcutáneos. La perturbación de la circulación vascular tiene un importante efecto favorable en la infección (132).

1.4.2.1. Complicaciones de la vacunación con BCG

La vacunación con el Bacilo de Calmète Guérin continúa siendo de valor como un método de protección para individuos expuestos, o probablemente expuestos a la infección tuberculosa. En este proceso se emplean bacilos tuberculosos vivos, no virulentos, de una cepa bovina. Se trata de producir cierto grado de resistencia y un sustituto de la primoinfección natural con menores grados de riesgo y sólo se indica para personas tuberculino negativas.

Aunque se pensaba que estaba libre de efectos colaterales, se han reportado un número de complicaciones. El resultado normal de la vacunación, es una pápula, que llega a ser un nódulo indurado en 12 semanas. Si la inyección es muy profunda, produce úlceras, abscesos y adenitis, aunque raramente sucede de otra forma. Si el sujeto ha sido previamente infectado, pero es tuberculino negativo, la vacunación puede provocar una reacción acelerada en pocos días por la estimulación de la sensibilidad (102). La conversión normalmente sucede de 3 a 12 semanas.

Con menor frecuencia se han registrado lesiones de lupus vulgar a nivel del sitio inyectado, brotes de tuberculosis micronodular, de *Liquen nitidus* y reacciones sarcoidales (87).

Desde que Morton *et al* (123) en 1974, reportaron la vacuna BCG como una inmunoterapia de neoplasia maligna, ha aumentado el interés de usar ésta como una terapia tumoral. El uso de la vacuna como inmunoterapia está basado en varias premisas.

- Que los tumores tienen antígenos que los distinguen del tejido normal.
- Que la respuesta inmune puede desarrollarse en contra de estos antígenos.
- Que la inmunoterapia apropiada, puede reducir selectivamente el crecimiento tumoral o matar las células tumorales.
- Que la modificación de la respuesta inmune puede aumentar la resistencia del huésped al tumor.
- Que la vacuna BCG comparte los mismos antígenos con células de melanoma maligno. La estimulación del sistema inmune puede también proveer de protección general al paciente.

Se han desarrollado tres modos de administración de la inmunoterapia con BCG, la inyección intralesional, la intradérmica y la escarificación. La inyección intralesional da un alto grado de complicaciones mientras que la escarificación da menos. Por cualquier modo de administración, la terapia con BCG se ha reportado como causante de fiebre, escalofrío, náusea y artralgia.

Cuando la vacunación se hace por inyección intralesional se observa infección persistente en el sitio de vacunación, en nódulos linfáticos, pleura. También se ha observado tuberculosis miliar, así como granuloma y caseificación en la autopsia de dos pacientes; se han reportado igualmente disfunciones hepáticas temporales con hepatomegalia. Este mismo

método de administración de la vacuna se ha relacionado con reacciones severas de hipersensibilidad, eritema nodoso y un único caso de pancitopenia (123).

Richman *et al* describen más de 500 pacientes tratados con vacuna BCG por escarificación durante un período de 2 años sin un simple episodio de reacción sistémica severa. Sin embargo, Eduardo H. Tschen (123) menciona el caso de una mujer tratada con la vacuna frente a un melanoma maligno, quien tuvo dos episodios de eritema multiforme asociado con la terapia por escarificación, siendo el primer reporte al respecto. En esta paciente es difícil decidir si el melanoma, la quimioterapia o la vacuna; fueron responsables del eritema multiforme, hay factores que indican que la vacuna fue el agente causal, como son: 1) el paciente continúa recibiendo la misma quimioterapia sin problemas, 2) no hubo otra enfermedad o terapia asociada con el ataque de las lesiones eritematosas, 3) el paciente permanece libre de problemas mientras la vacuna es descontinuada, 4) los hallazgos histológicos de las biopsias dan lugar al diagnóstico de eritema multiforme, así como el mismo curso clínico.

En un estudio realizado en 1980, en el cual recibieron vacunación con BCG por escarificación como tratamiento 2,700 pacientes aproximadamente el 1% mostraron reacciones cutáneas, que inclufan granulomas cutáneos diseminados, eritema nodoso, lupus vulgar, dermatitis pustular y eritema multiforme (83).

La efectividad de la vacuna como inmunoterapia depende de la cepa usada, el número y proporción de microorganismos viables y muertos, la presencia de antígenos solubles, la dosis y la ruta y el esquema de administración. Desafortunadamente, a la vez hay efectos colaterales inconvenientes, por lo que hasta la fecha no se llega a valorar perfectamente

la utilidad de la vacuna BCG como útil para la inmunoterapia.

En 1981, Higuchi S. *et al* (59) mencionan un estudio en el que encuentran que las lesiones dérmicas ocasionadas por el Bacilo de Galméte Guérin; se deben a la persistencia de proteínas, carbohidratos y cera D en la lesión, revelando así la causa de la cronicidad de las lesiones micobacterianas y el efecto adyuvante del bacilo tuberculoso; estos componentes desaparecen en el siguiente orden, primero proteínas, enseguida carbohidratos y aún a los 56 días, se detecta la cera D en el centro de la caseificación.

II. CLASIFICACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS CUTANEA

No existe un sistema de clasificación de la tuberculosis cutánea satisfactorio, que se haya aceptado mundialmente. Aún cuando los esfuerzos de conseguir una clasificación perfecta, datan desde 1896, en que Darier propuso su célebre clasificación de la enfermedad en dos grupos: La tuberculosis verdadera y las tuberculides, basada en la posibilidad de identificar el Bacilo de Koch en las lesiones. Este último concepto, demasiado amplio dio lugar a exageraciones etiopatogénicas que con el tiempo se han limitado a los cuadros dermatológicos de etiología verdadera. La confusión entre una histología tuberculosa y una tuberculide, perpetuó esta división hasta el advenimiento de las drogas antituberculosas eficientes.

Aún en la actualidad hay dificultad para decidir cuál de las tuberculides pueden ser incluidas en la clasificación, aunque muchos investigadores apoyan la tendencia actual a excluir las que no responden a una terapia antituberculosa. Además, se sabe ahora que éstas, a pesar de su estructura tuberculide, constituyen un síndrome producido no sólo por *M. tuberculosis*, sino también por cocos diversos, reconociéndose ahora la mayoría de éstas, como vascularitis alérgicas.

Las más recientes clasificaciones están basadas en criterios inmunológicos, morfológicos, histológicos, sobre el modo de infección, o una amalgama empírica de éstos, pero aún en estas clasificaciones se encuentran inconvenientes (5, 102).

2.1. Bolgest 1967

Al parecer este investigador de Saint Louis basó su clasificación de la enfermedad, en el criterio morfológico (47).

I) Tuberculosis de evolución caseosa

- | | |
|------------------------|---|
| 1. Forma gomosa | - gomas hipodérmicas |
| | - gomas linfangíticas |
| | - gomas dérmicas (escrofuloder-
mia) |
| 2. Forma ulcerosa | - chancro |
| | - úlcera secundaria de tísicos |
| | - úlcera atípica |
| 3. Fungosa o vegetante | |

II) Tuberculosis no caseosa

A. Tuberculosis dérmicas

- | | |
|--------------------------|---------------------------|
| - Estructura epitelióide | - luposa |
| | - verrugosa |
| - Estructura folicular | - líquen escrofulosorum |
| | - tuberculides de la cara |
| | - pápulo necrótica |

B. Tuberculosis hipodérmicas

- | |
|-----------------------------|
| - eritema indurado de Bazin |
| - eritema nudoso |

2.2. Macotela Ruiz 1970

Investigador mexicano que basa su clasificación en diversos criterios (47).

Forma clínica	Origen	Propagación	Baciloscopfa	Tuberculina	Sinonimia
A. Primoinfección					
Complejo primario	Exógeno	Inoculación externa	Positiva	Negativa o Normérgica	Chancro tuberculoso
B. Reinfección					
TB Verrugosa	Exógeno	Inoculación externa	Positiva	Normérgica	Verruga necrogénica Tubérculo anatómico Lupus escleroso
TB Colicuativa	Endógeno	Linfática	Positiva	Normérgica	Tuberculosis gomosa Escrófulos Escrofulodermia
TB Luposa	Endógeno	Hematógena Continuidad Contigüidad	Positiva	Normérgica	Lupus vulgar Lupus tuberculoso
TB Ulcerosa	Autoexógeno	Por eliminación de material bacilífero	Positiva	Anérgica	Úlcera tuberculosa Tuberculosis orificial
TB Miliar	Endógeno	Hematógena	Positiva	Anérgica	Tuberculosis miliar cutánea
B1. Tuberculides					
TB Nodular profunda	Endógeno	Hematógena	Negativa	Hiperérgica	Eritema indurado de Bazin Tuberculosis indurativa Acnitis de Barthelem
TB Nódulo necrótica	Endógeno	Hematógena	Negativa	Hiperérgica	Tuberculosis papulonecrótica
TB Micronodular	Endógeno	Hematógena	Negativa	Hiperérgica	Tuberculosis liquinoide Liquen escrofulosorum

2.3. Wolff, K. 1977

Este investigador, cuando trata las enfermedades micobacterianas, prefiere sólo enlistar y subagrupar las tuberculosis cutáneas bajo cuatro encabezados (132).

1. Tuberculosis cutánea

- a) Complejo primario tuberculoso cutáneo (chancro tuberculoso)
- b) Tuberculosis verrugosa
- c) Lupus vulgar
- d) Tuberculosis colicuvativa
- e) Tuberculosis ulcerosa
- f) Tuberculosis miliar aguda de la piel

2. Tuberculosis luego de vacunación con BCG

3. Tuberculides

- a) Tuberculosis micronodular
- b) Tuberculosis nódulo necrótica
- c) Tuberculosis nodular profunda

4. Entidades de dudosa causa tuberculosa

- a) Lupus miliar diseminada de la cara
- b) Tuberculide rosaceiforme
- c) Tuberculide liquenoide

2.4. Beyt, E., et al 1981

Estos investigadores, atendiendo a la necesidad de una clasificación práctica de la micobacteriosis cutánea que incluya la infección por *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*, proponen la siguiente agrupación que usa términos simples evitando nomenclatura confusa, se basa en la

presentación clínica, evaluación histológica y patogénesis de la enfermedad. En esta clasificación se excluyen las tuberculides (5, 63).

Clasificación de micobacteriosis cutánea

	Términos previamente usados
I. Micobacteriosis cutánea de origen exógeno	Inoculación primaria Chancro tuberculoso Complejo primario tuberculoso Tuberculosis verrugosa cutis Tuberculosis verrugosa Verruga necrogénica Verruga de Prosector Tuberculosis cutis verrugosa
II. Micobacteriosis cutánea de origen endógeno	
A. Contigüidad	Escrofulodermia Tuberculosis colicuativa
B. Autoinoculación	Tuberculosis orificial Tuberculosis cutis orificial Tuberculosis ulcerosa cutis y mucosa
III. Micobacteriosis cutánea de propagación hematógena	
A. Lupus vulgar	Lupus vulgaris Tuberculosis luposas
B. Diseminación hematógena aguda	Tuberculosis miliar aguda de la piel Tuberculosis cutis miliar diseminada
C. Nódulos o abscesos	Goma tuberculosa Absceso metastásico tuberculoso

2.5. Latapf, Escalona y Estrada 1947-1984

Estos investigadores de la Escuela Mexicana de Dermatología proponen su clasificación en 1947, ésta tuvo tal aceptación que sigue vigente a la fecha, tanto en México como en algunos países de América Latina.

En esta clasificación de la tuberculosis cutánea se señalan dos modalidades de la infección, primoinfección y reinoculación. Dentro de la tuberculosis cutánea de reinfección se consideran dos grupos: las formas

crónicas, evolutivas y habitadas que son cuadros clínicos de evolución continua, larga y en donde es posible demostrar al bacilo y la respuesta normérgica, estas formas también reciben el nombre de tuberculosis cutáneas típicas. Y las formas recidivantes, hematógenas, no habitadas, que son cuadros que evolucionan por brotes, en pacientes con cierto grado variado de hiperérgia y en donde no es posible demostrar al bacilo, también se les llama tuberculides o tuberculosis atípicas (40, 107, 108).

TUBERCULOSIS CUTANEA

- A. Primoinfección Complejo primario tuberculoso cutáneo (Chancro tuberculoso)
- B. Reinoculación - Exógena: Autoexógena o heteroexógena
 - Endógenas
- I. Entidades de evolución crónica progresiva

Origen	Propagación		Sinonimia
Interno	Hematógena	1. Tuberculosis colicuativa	Escrofulodermia Gomas tuberculosas
Externo	Contigüidad	2. Tuberculosis verrugosa	Tuberculide verrugosa cutis Lupus escleroso Lupus escleropapilomatoso
Interno o externo	Hematógena	3. Tuberculosis luposa	Lupus vulgar Lupus tuberculoso
Interno o externo	Hematógena	4. Tuberculosis vegetante	Tuberculosis frambesiforme
Externo o autoexógeno		5. Tuberculosis ulcerosa	Úlcera tuberculosa

II. Entidades de evolución por brotes recurrentes

Múltiple hematógena	1. Tuberculosis nodular profunda	Eritema indurado de Bazin Eritema indurado ulcerado
Múltiple hematógena	2. Tuberculosis nódulo necrótica	Tuberculide papulonecrótica Foliclitis Acnitis
Múltiple hematógena	3. Tuberculosis micronodular	Tuberculide liquenoide Liquen escrofulosorum Tuberculosis liquenoide

2.6. Descripción de cuadros clínicos de Micobacteriosis y tuberculosis cutánea

Tuberculosis cutáneas causada por *M. tuberculosis*

Complejo primario tuberculoso cutáneo (Chancro tuberculoso)

El chancro tuberculoso es el resultado de la inoculación de *M. tuberculosis* dentro de la piel de un individuo que no ha sido previamente infectado con tuberculosis. El chancro tuberculoso y los nódulos linfáticos regionales (adenitis satélite) infectados, constituyen el complejo primario tuberculoso cutáneo.

Con el aumento en el control de la tuberculosis, esta lesión ha llegado a ser muy rara, excepto en Asia. La mayoría de los pacientes son niños (95), pero las lesiones pueden ocurrir en adolescentes o en adultos jóvenes también como resultado de respiración boca a boca y por inoculación durante la autopsia (49, 64). La tercera parte de las lesiones se encuentran en la membrana de la conjuntiva y en cavidad oral. El bacilo se introduce generalmente en la piel a través de una abrasión o a través de una lesión, usualmente en la cara o piernas de los niños. Esta infección puede ser secundaria a la circuncisión, operaciones, perforaciones

de tímpano, respiración boca a boca, mordedura o infección piógena de la piel.

La lesión temprana puede ser una pápula café que nunca se ulcera o una úlcera desgarrada con bordes indeterminados y una base granular hemorrágica, luego de un tiempo el borde llega a ser firme y se forma una costra delgada adherente. Aparentemente sana, pero la infección activa puede seguir bajo la superficie o presentarse linfadenopatía regional, ésta aparece de 3 a 8 semanas después de la infección, a veces aparecen nódulos lupoides alrededor de las úlceras sanadas o la infección se intensifica simulando escrofulodermia.

Histopatología. En el estudio de la fase precoz, se observa una reacción neutrofilica aguda con áreas de necrosis, en las que existen numerosos bacilos tuberculosos, después de 2 semanas predominan los monocitos y macrófagos. Entre 3 y 6 semanas después del inicio de la infección, empiezan a aparecer células epitelioides y gigantes.

Generalmente el complejo tuberculoso primitivo, asegura una inmunidad satisfactoria y un estado de elevada sensibilidad, como lo demuestra la prueba de la tuberculina, que al principio es negativa y se vuelve positiva después. El curso de la infección primaria es variable, a veces regresa con rapidez, en otras ocasiones tiende a persistir algún tiempo curando espontáneamente o con tratamiento antituberculoso, a veces la reacción es intensa y aparece un cuadro de lupus vulgar.

El diagnóstico se confirma por pruebas bacteriológicas, debe considerarse el diagnóstico diferencial frente a otras formas de tuberculosis cutánea, en particular tuberculosis verrugosa y colicuativa. Debe distinguirse también del chancro sifilítico, del complejo primario de tularemia, de la ffstula dentaria de la cara, actinomicosis, esporotricosis y

de procesos ulcerativos debido a *Mycobacteria* atípicas (8, 104).

Formas crónicas, evolutivas y fijas

Tuberculosis colicuativa

Es la forma más frecuente de tuberculosis cutánea en México, representa una extensión directa a la piel de una infección tuberculosa subyacente presente, por lo general, en un ganglio linfático o un hueso, por lo que su localización es en sitios donde hay estas estructuras, como en regiones carotídeas, supraclaviculares, axilares, inguinales, esternal, tibia y pie, más comúnmente en cara o cuello, presentándose en forma bilateral. En general, son lesiones indoloras de evolución crónica, tienden a cicatrizar espontáneamente dejando cicatrices retráctiles, a menudo queloides; así, unas lesiones abren mientras otras cicatrizan (108).

Las lesiones en piel se presentan al inicio como nódulos subcutáneos firmes, más tarde se convierten en gomas. Las lesiones son variables en número y tamaño.

Histopatología. En las porciones más profundas y en la periferia de la lesión, generalmente se ve una cantidad considerable de necrosis, junto a una reacción inflamatoria pronunciada, habitualmente el número de bacilos tuberculosos es suficiente como para encontrarlos en los cortes histológicos.

Es posible la curación espontánea, pero el curso es muy prolongado. Si hay linfadenitis tuberculosa o enfermedad similar en huesos y articulaciones subyacentes, el diagnóstico no presenta generalmente dificultad.

El diagnóstico diferencial debe hacerse frente a la enfermedad de Hodgkin, el goma sifilítico, la actinomicosis cérvico-facial, la esporotricosis, la coccidioidomicosis y frente a las micosis profundas. La - -

evolución tórpidas, el estudio histopatológico, la investigación del bacilo y los resultados del tratamiento antituberculoso permitirán afirmar el diagnóstico (8).

Tuberculosis verrugosa

La tuberculosis verrugosa se observa en individuos previamente infectados y sensibilizados, debido a reinfección exógena con *M. tuberculosis*, es común en personas que manejan materiales contaminados con el Bacilo de Koch como laboratoristas, tablajeros y mozos de anfiteatro (94). En ambientes de bajo nivel socioeconómico, los niños se infectan jugando y sentándose en suelos contaminados con esputo tuberculoso, aún cuando en niños no es muy común la infección (21).

Se localiza sobre todo en partes vitales de los miembros: dedos, manos, pies, tobillos, rodillas y puede subir hasta nalgas, unilateral y asimétricamente, raras veces tiene varias localizaciones (34).

Está constituida por nódulos que pronto se cubren de escamas y formaciones verrugosas o vegetantes que los ocultan por completo; estas placas son de diferentes tamaños y formas: confluentes, deformantes, bien limitadas, con cicatrización central y actividad periférica en las lesiones antiguas.

Histopatología. Además del tubérculo habitual, hay un crecimiento considerable de tejido de granulación, caseificación y neoformación vascular, con hiperqueratosis. Para algunos investigadores, algunas veces el infiltrado dérmico no es específico en absoluto, los bacilos son numerosos y a veces se demuestran histológicamente. Se encuentran células epitelioideas y células gigantes en las porciones medias de la dermis y de bajo de la epidermis, los tubérculos típicos con caseificación - - -

característica, se encuentran sólo en raras ocasiones.

La evolución de las lesiones es lenta y sin tratamiento, el curso se prolonga durante muchos años. Puede haber involución espontánea que generalmente deja cicatrices atróficas deprimidas (8).

Esta enfermedad debe diferenciarse de la cromomycosis, del líquen plano, chancro sifilítico, leishmaniasis, líquen verrugoso, actinomicosis, verrugas vulgares y de la piodermitis crónica.

El estudio adecuado del enfermo permitirá descartar estas posibilidades y afirmar el diagnóstico de tuberculosis verrugosa, recurriendo al laboratorio y a la biopsia.

En el tratamiento se utiliza la politerapia antituberculosa, pero se ha reportado un caso de tuberculosis verrugosa que fue tratado sólo con isoniacida con mejoría en 12 semanas sin ninguna recurrencia. También ha respondido esta entidad al tratamiento con estreptomycinina o isoniacida, presentándose curación en 6 meses, sin recidivas (21).

Lupus vulgar o tuberculosis luposa

Esta forma clínica de tuberculosis cutánea es muy frecuente en niños y jóvenes, las mujeres enferman con mayor frecuencia que los hombres. Se localiza sobre todo en la cara, en las mejillas, dorso de la nariz, en ésta sobre todo en el subtabique y punta, puede estar en otros sitios como en el tronco o en los miembros, e incluso en la mucosa nasal y conjuntival. La influencia del clima es manifiesta, el lupus tuberculoso, es más común en los países húmedos y fríos.

Las denominaciones descriptivas (lupus plano, lupus hipertrófico y lupus ulcerativo) se aplican a las variaciones clínicas de la enfermedad (51).

La lesión fundamental es el lupoma o nódulo que es muy pequeño y es necesario practicar la vitropresión.

Se observan placas eritematosas, escamosas, algunas veces francamente vegetantes o verrugosas (puede haber confusión con tuberculosis verrugosa), bien limitadas de bordes definidos y activos en donde es posible ver los lupomas (109).

Habitualmente las lesiones van cicatrizando por el centro y con actividad periférica. Produce destrucción sobre todo del cartilago del subtabique de la nariz, dando aspecto de "pico de loro". Son lesiones indoloras de evolución crónica. Schmit en 1976, reporta un caso de lupus vulgar de 35 años de evolución, recobrándose el bacilo tuberculoso (110).

Histopatología. La necrosis con caseificación dentro de los tubérculos es leve y en ocasiones puede faltar. La cantidad de bacilos tuberculosos es tan pequeña que pocas veces se demuestra su presencia por métodos de coloración, inclusive, no siempre tienen éxito los cultivos y las inoculaciones al cobayo. Raras veces es posible ver el infiltrado tuberculoso típico (86).

Esta forma de tuberculosis de la piel se presenta de manera demasiado crónica y sin terapia antituberculosa, su curso se extiende generalmente por muchos años e incluso décadas. La complicación más severa del lupus vulgar es la formación de carcinoma.

Las lesiones deben diferenciarse de la esporotricosis, la cromomycosis, epitelomas, sífilis terciarias, de lepra tuberculoide, de leishmaniasis lupiforme y de sarcoidosis.

Tuberculosis vegetante

De las tuberculosis típicas, ésta es la entidad más rara y es poca vista en nuestro país. Se ha detectado en personas adultas, sobre todo localizada a nivel de los miembros inferiores, en ocasiones en zona perianal.

Como su nombre lo indica, el aspecto morfológico de conjunto es de tipo vegetante y fungoso en placas de diversa extensión y forma, pero siempre constituidas por la agrupación de nódulos más bien profundos e infiltrados en capa. Se pueden advertir claramente zonas de actividad y porciones parciales o totalmente cicatrizantes, así como sitios ulcerados cubiertos de costra. Este cuadro es de principio incidioso, su avance es lento, extendiéndose por contigüidad.

Histopatología. Bastante típica con formación de nódulos, células gigantes e importante caseificación.

El bacilo es relativamente abundante y, por lo tanto, fácilmente demostrable, la inoculación al cobayo da resultados positivos. La reacción tuberculínica es normérgica.

Esta forma requiere cautela para diagnosticarla correctamente, ya que al no bastar el aspecto morfológico siempre habrá que recurrir a estudios complementarios como biopsia y estudios micológicos para diferenciar esta modalidad de esporotricosis, epiteloma, piodermitis vegetantes, actinomicosis y cromomicosis (40).

Tuberculosis cutánea orificial o ulcerosa

Es rara en nuestro medio, se localiza alrededor de los orificios naturales del cuerpo, presentándose más frecuentemente en los bordes - -

mucocutáneos y mucosa de la nariz, boca, ano y genitales, a veces en la piel. Suele encontrarse en los adultos jóvenes con tuberculosis visceral grave, particularmente de la laringe, paladar, pulmones, intestinos y conducto genitourinario.

Un pequeño nódulo amarillento o rojizo aparece en la mucosa y al romperse forma una úlcera circular o irregular de típico aspecto deprimido y consistencia blanda. Los bordes están minados y la mucosa circundante edematosa, el piso de la úlcera queda cubierto generalmente de material pseudomembranoso, que muestra a menudo múltiples tubérculos amarilentos y vasos erosionados. Las lesiones pueden ser únicas o múltiples y son sumamente dolorosas. A veces esta entidad se presenta con muy diferente cuadro clínico (126).

Histopatología. Existe un infiltrado inflamatorio inespecífico masivo con necrosis, aunque los tubérculos verdaderos con caseificación, pueden encontrarse en la dermis profunda. Se encuentran abundantes *Mycobacteria*.

En general, los individuos que contraen tuberculosis orificial siguen un curso decadente, pues es un síntoma de enfermedad interna avanzada con un pronóstico desfavorable.

El diagnóstico es fácil por el hallazgo de *Mycobacteria* en las lesiones, hay que descartar lesiones sifilíticas ulceradas, carcinoma ulcerado y úlcera aptosa. Se puede adoptar la terapia antituberculosa con buenos resultados.

Formas hematógenas, hiperérgicas y recidivantes

Tuberculosis nodular profunda o eritema indurado de Bazin

Es la forma más frecuentemente observada en México, después de la colicuativa y se presenta en adultos jóvenes del sexo femenino. A pesar de ser concomitante con enfermedades vasculares (acrocianosis), se le encuentra en sujetos con aparente buen estado de salud, aunque también se observa en personas con tuberculosis.

En ausencia de ulceraciones se le ha denominado eritema indurado de Bazin. Por el contrario, ante la evidencia de ulceraciones se le conoce como eritema indurado ulcerado.

Se menciona que es una vasculitis nodular recurrente y ulcerativa de las piernas, que afecta sobre todo a mujeres con un alto grado de sensibilidad a la tuberculina, cuando este último requisito no se cumple, no se puede hablar de un eritema indurado de Bazin, sino de vasculitis nodularis.

Los sitios de predilección son las pantorrillas, en ocasiones hasta muslos, pero no más allá. La participación bilateral es la regla, pero a veces las lesiones unilaterales pueden ser el único rasgo.

Se detectan uno o varios nódulos de diferentes tamaños en la piel, se ven más bien como manchas de color rojo oscuro, mal delimitadas, que al palparse revelan una induración profunda. Son lesiones dolorosas que evolucionan por brotes que pueden durar cuatro meses. Es de instalación brusca, de avance lento y apirético. Los brotes pueden imbricarse, hecho que hace la constancia de lesiones nuevas, fibrosa que si llegan a infectarse producen celulitis, dermolinfangitis, así como elefantiasis.

Histopatología. Generalmente, no es específica raras veces se encuentra evidencia de tuberculosis.

El curso de esta entidad es prolongado y puede durar muchos años, hay una tendencia de involución espontánea de la lesión, pero aparecen nuevos brotes a intervalos irregulares, usualmente durante las estaciones frías. A veces se presenta completa salud.

Las *Mycobacteria* no pueden recobrase de las lesiones; en algunos casos hay una breve respuesta a la terapia antituberculosa, dato que puede ser tomado como una prueba diagnóstica, la prueba tuberculínica es positiva.

Esta forma de tuberculosis se debe diferenciar del eritema nudoso y de gomas sifilíticas y micóticas.

Tuberculosis nódulo necrótica

Se le conoce también, inadecuadamente con el nombre de tuberculosis pápulo necrótica. En realidad, desde un punto de vista estricto las lesiones primarias de esta enfermedad son nódulos, de ahí que no se admite el último término.

Los sitios de predilección en que se presenta, son las caras externas de las extremidades, en especial rodillas, codos, glúteos y el tronco inferior. La distribución es generalmente simétrica, pero se han visto tuberculides nódulo necróticas localizadas por ejemplo, en el pene. Afecta predominantemente adultos jóvenes y niños.

Morfológicamente se trata de pequeños nódulos, usualmente no mayores de 0.5 cm de diámetro, irregularmente redondeados, eritematovioláceos, más bien superficiales a la palpación y presentan una costra - -

negruzca (necrótica) en el centro, aunque numerosas, no suelen confluír. Frecuentemente, se observa una pequeña pústula central y como consecuencia dejan una úlcera, a veces recubierta por una costra melicérica. Lo clásico es que se observen lesiones en diferentes formas evolutivas en un momento determinado: nódulos violáceos, nódulos con necrosis central, nódulos ulcerados o recubiertos por costras negruzcas y melicéricas. Las lesiones no son pruriginosas ni dolorosas y lo que preocupa al paciente es la persistencia de estos brotes recurrentes.

Acnitis y acné agminado, son términos aplicados al tipo profundo de tuberculides localizadas en la cara.

Foliclís es un tipo más superficial, cuyos asientos favoritos son el dorso de las manos y de los pies, los antebrazos y los tobillos. Las lesiones tienden a estar agrupadas, al principio son papulovesiculares y más tarde pústulas o nódulos. Son firmes e indoloras a la palpación.

Histopatología. El rasgo más importante es un área de necrosis en la dermis superior que se extiende hasta la epidermis a la cual afecta.

El origen tuberculoso de esta enfermedad no es fácil de demostrar, pues el bacilo, como regla, no se encuentra en la lesión. La prueba tuberculínica es positiva. La inoculación al cobayo es invariablemente negativa.

El diagnóstico diferencial se debe hacer con sifilides pápulo necróticas, foliculitis, vascularitis alérgicas y pitiriasis liquenoide varioliforme aguda.

Son comunes los ciclos de remisiones y exacerbaciones, aunque las lesiones individuales aparecen sólo por semana, ocurren nuevas erupciones a intervalos irregulares y éstas pueden durar meses o años.

Tuberculosis micronodular

Se le conoce también con el nombre de tuberculosis liquenoide o liquen escrofulosorum. Por constituir una dermatosis muy discreta puede ser que muchos casos pasen inadvertidos, pero de cualquier manera no cabe duda que de las tuberculosis hematógenas, es la menos frecuente; se observa en la niñez y juventud. Su origen es interno y su propagación es múltiple hematógena, es otra tuberculide.

La localización más común de esta forma de tuberculosis cutánea es el tronco; ocasionalmente en la cara. Habitualmente es bilateral y simétrica.

Los nódulos múltiples, pequeños y relativamente superficiales, tienen asiento perifolicular; su color apenas difiere del normal o llega a ser rojo violáceo o hipocrómico: se acompaña de fina descamación; son de carácter eruptivo pero lo habitual es que formen placas de límites imprecisos y extensión variable, que a veces cubren toda una región (espalda, pecho, parte de la cara) y ocupen porciones menores, agrupadas y mejor circunscritas.

Aunque es frecuente la aparición de las lesiones en forma de brotes, éstos son menos marcados que en las dos modalidades anteriores, constituyendo una dermatosis más fina, apirética, indolora y no pruriginosa; sus elementos no muestran ninguna tendencia a la ulceración. Puede coincidir con alguna otra manifestación de tuberculosis, ya que se le ha hallado acompañada de dactilitis tuberculosa (53) o secundaria a linfadenitis tuberculosa (11).

Histopatología. Se desarrolla granuloma tuberculoide superficial perifolicular, pero puede ocurrir independientemente de los folículos - -

polisebáceos, consiste de células epitelioides, un collar periférico de linfocitos y, ocasionalmente, células gigantes. Algunas veces hay sólo un infiltrado inflamatorio no específico y no hay caseificación.

El bacilo no se encuentra en las lesiones y la inoculación en animales es de resultado negativo. La tuberculino reacción produce respuesta hiperérgica y algunas veces negativa. La respuesta a las drogas antituberculosas existe, pero no es muy exitosa.

Esta entidad debe diferenciarse de sifilide liquenoide, liquen plano eruptivo, queratosis pilar, dermatosis seborréica folicular y de sarcoidosis.

Las tuberculides representan un problema diferente, ya que aquí el problema es básicamente de hiperergia a determinados productos bacilares; se aconseja la administración de corticosteroides simultáneamente con los medicamentos antituberculosos, se administran dosis decrecientes de prednisona oral, iniciando con 20 mg diarios.

Hay otras formas de tuberculosis cutánea, que son muy poco frecuentes en la práctica diaria, como son la rosaceiforme de Lewandowsky que se ve en la cara y se confunde con la rosácea, las formas miliares que pueden localizarse sobre todo en la cara (4, 45, 72) y otras mal determinadas.

Las entidades clínicas hasta ahora descritas son generalmente causadas por *M. tuberculosis* y sólo en raras ocasiones por *M. bovis*, como en casos reportados de tuberculosis nódulo necrótica (66) y en granulomas cutáneos diseminados, así como en eritema multiforme, entidades ya descritas en el punto 1.4.2.1. del capítulo anterior.

Micobacteriosis cutánea causadas por *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*

Granuloma de las piscinas

El agente causal es *M. marinum* (*M. balnei*), éste ha sido aislado tanto de las lesiones, como de agua de piscinas, acuarios y playas, lo cual refleja la baja temperatura del hábitat de estos microorganismos, está relacionado antigénicamente con *M. tuberculosis* y la enfermedad puede producir conversión del Mantoux en una cierta proporción de casos. La enfermedad ocurre sobre todo en niños y adolescentes que frecuentan las piscinas o tienen acuarios, pero se ha reportado también en adultos (13, 38, 57). A menudo hay historia de trauma previo, el período de incubación es de 3 semanas aproximadamente.

La infección puede manifestarse por pápulas rojo violáceas o rojo oscuras, de muy pequeño tamaño, blandas, mostrando lupomas a la vitropresión, frecuentemente dispuestas en el área de la abrasión. Las áreas del cuerpo más frecuentemente afectadas son codos, rodillas, dorso de las manos, pies y nariz. No se acompaña de adenopatía regional y raramente causa enfermedad diseminada, la cual sólo se ha reportado en pacientes inmunodeprimidos, después de transplante de riñón (50), y en pacientes diabéticos (7).

Se han reportado casos de enfermedad simulando esporotricosis, leishmaniasis cutánea (42, 93) y formas ulceradas (133). Las lesiones curan espontáneamente en algunos meses, hasta 1 ó 2 años, se ha visto que persisten durante 30 años (38, 125).

La estructura histopatológica es tuberculoide, con células epitelioides y algunas células gigantes de Langhans. Los bacilos ácido resistentes sólo son demostrables en pocos casos.

El diagnóstico se sugiere por la presencia de una lesión granulomatosa de tipo tuberculoide, falta de adenopatía regional y por la historia clínica, pero debe ser confirmado por cultivo. La enfermedad cura espontáneamente, siendo pobre o nula la respuesta a las drogas antituberculosas. La prueba tuberculínica es positiva en aproximadamente 80% de los casos y de éstos, la mitad siguen siéndolo hasta 12 años más tarde. La enfermedad cutánea con *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*, es a menudo debida a la inoculación de una fuente externa, particularmente con *M. marinum* (5, 63).

Úlcera tropical necrótica (Úlcera de Buruli, Úlcera de Bairnsdale)

El agente causal es *M. ulcerans* (*M. buruli*). Afecta ambos sexos, la mayoría de los casos ocurren entre 5 y 15 años, pero afecta todas las edades. La forma de transmisión y posibles reservorios son desconocidos, probablemente son saprofitos del suelo en los trópicos y a menudo, hay historia de trauma.

La afección comienza con la aparición de un nódulo dermohipodérmico de color rojo violáceo, el cual se necrosa y ulcera. La úlcera crece rápidamente, presenta el borde excavado y está cubierta de un tejido necrótico. Comúnmente es única, se localiza en las extremidades, especialmente en las piernas de los niños, en Africa (90, 135) y Australia, esporádicamente en México y América Latina; en un 10% de los casos puede aparecer en el cuello o tronco, no existe adenopatía regional. La úlcera puede curar después de algunos meses, persistir sin aumentar mucho de tamaño por 2 ó 3 años, o extenderse y alcanzar un diámetro de hasta 25 cm; si no se controla puede llegar a la amputación del miembro.

El estudio histológico no detecta caseificación, ni células gigantes, se encuentra el microorganismo en la úlcera.

El diagnóstico se hace por examen bacteriológico. El tratamiento que puede instituir el médico no es satisfactorio, ya que las drogas antituberculosas ayudan poco, hay necesidad de mejorar la salud general del enfermo, la excisión de la lesión e injerto constituyen la mejor forma de tratamiento (8).

Recientemente se ha demostrado que *M. ulcerans* produce una exotoxina que puede ser responsable de la amplia necrosis y ulceración vista en esta enfermedad, un estudio completo de la misma lo realizaron primero Krieg *et al* (76) en 1974; luego en 1978, Wayne T. *et al* (61) reprodujeron la enfermedad en cobayos, inyectando la toxina y detectando cambios muy parecidos a los producidos en la enfermedad humana: inflamación, necrosis edema y otros cambios histopatológicos.

Lesiones nodulares multicéntricas y lesiones cutáneas diseminadas

Estas lesiones se han reportado muy raramente. Como agentes etiológicos se mencionan *M. kansasii*, *M. chelonae*, *M. szulgai* y *M. intracellulare*.

La mayoría de los casos se ven en personas con aparente buen estado de salud, quienes presentan lesiones nodulares que progresan hasta ulceración, con implicación de nódulos linfáticos. En un caso, las lesiones fueron de naturaleza crónica verrugosa, apareciendo alrededor de la rodilla 10 años después de una pequeña laceración que había sanado aparentemente.

La enfermedad diseminada con *M. kansasii*, se presenta como celulitis aguda, se ha reportado después de trasplante renal (9, 46). Se ha presentado igualmente con *M. chelonae*, sólo que en este caso se sugiere diseminación hematogena (5). La institución de la enfermedad es usualmente - -

retardada por semanas o meses después de la inoculación de cualquier *Mycobacteria*. La resolución de la enfermedad es también lenta, puesto que puede lograrse en semanas o meses. Se describen nódulos espontáneos subcutáneos en extremidades inferiores, que se presentan en enfermedad diseminada, estos nódulos son profundos, hay granulomas subcutáneos con células epitelioideas, en el período inicial de la enfermedad, se encuentran caseificación, necrosis y abundantes bacilos ácido resistentes y no así en los estados tardíos de ésta.

M. szulgai como causante de lesiones cutáneas, es el agente más recientemente reportado, clínicamente hay lesiones nodulares multicéntricas en la piel, con celulitis difusa y lesiones nodulares cutáneas discretas. La enfermedad diseminada se reportó en un paciente con tratamiento largo con corticosteroides para sarcoidosis, no hubo evidencia de tuberculosis visceral. La diseminación de la enfermedad a múltiples sitios, se debió probablemente a autoinoculación, recuperándose de las lesiones *M. szulgai* (120). El estudio histológico mostró inflamación crónica. Estaban presentes numerosas *Mycobacteria*, pero no se encontraron granulomas y necrosis, la ausencia de reacción granulomatosa puede ser debido al estado temprano de la enfermedad, o a la inhibición de la respuesta granulomatosa por la terapia corticosteroide.

La enfermedad con *M. intracellulare*, se asocia comúnmente con enfermedad crónica pulmonar, que clínicamente se parece a la tuberculosis, la participación de la piel se reconoce rara vez, cuando se presenta, las lesiones se caracterizan por bordes eritematosos que rodean una erosión central o ulceración con una base exudativa amarillenta. El estudio histopatológico muestra ulceración y múltiples granulomas pequeños e infiltrado granulomatoso, se ven también bacilos ácido resistentes dentro de - - -

retardada por semanas o meses después de la inoculación de cualquier *Mycobacteria*. La resolución de la enfermedad es también lenta, puesto que puede lograrse en semanas o meses. Se describen nódulos espontáneos subcutáneos en extremidades inferiores, que se presentan en enfermedad diseminada, estos nódulos son profundos, hay granulomas subcutáneos con células epitelioides, en el período inicial de la enfermedad, se encuentran caseificación, necrosis y abundantes bacilos ácido resistentes y no así en los estados tardíos de ésta.

M. szulgai como causante de lesiones cutáneas, es el agente más recientemente reportado, clínicamente hay lesiones nodulares multicéntricas en la piel, con celulitis difusa y lesiones nodulares cutáneas discretas. La enfermedad diseminada se reportó en un paciente con tratamiento largo con corticosteroides para sarcoidosis, no hubo evidencia de tuberculosis visceral. La diseminación de la enfermedad a múltiples sitios, se debió probablemente a autoinoculación, recuperándose de las lesiones *M. szulgai* (120). El estudio histológico mostró inflamación crónica. Estaban presentes numerosas *Mycobacteria*, pero no se encontraron granulomas y necrosis, la ausencia de reacción granulomatosa puede ser debido al estado temprano de la enfermedad, o a la inhibición de la respuesta granulomatosa por la terapia corticosteroide.

La enfermedad con *M. intracellulare*, se asocia comúnmente con enfermedad crónica pulmonar, que clínicamente se parece a la tuberculosis, la participación de la piel se reconoce rara vez, cuando se presenta, las lesiones se caracterizan por bordes eritematosos que rodean una erosión central o ulceración con una base exudativa amarillenta. El estudio histopatológico muestra ulceración y múltiples granulomas pequeños e infiltrado granulomatoso, se ven también bacilos ácido resistentes dentro de - - -

histiocitos y células gigantes (18) y libres dentro de la piel. Se reporta un paciente de 53 años de edad con enfermedad cutánea diseminada de 11 años de duración, en este caso, la lesión cutánea es primaria y no hay daño pulmonar. Las lesiones se presentan en cara, codo, cuello, tórax, axilas, abdomen, cuero cabelludo, cubriendo de 20 a 30% del cuerpo del paciente.

Abscesos localizados

Hay muchas publicaciones de la formación de abscesos localizados en el sitio de inyección (69), después de trauma y heridas quirúrgicas (133), la mayoría de éstos son debidos a cepas de rápido crecimiento, *M. fortuitum* (*M. ranae*) (22, 43, 100) y *M. chelonae* (*M. abscessus*) (133). En casi todos los casos el curso clínico se caracteriza por abscesos cutáneos, prolongados, con drenaje, formación de fístulas y la prueba tuberculínica generalmente negativa (5). La formación de verdaderos granulomas, caseificación y necrosis se ven poco.

Granulomas cutáneos y úlceras

Han sido causados por *M. kansasii* con una variedad esporotricóide, se presenta absceso localizado en el sitio de inoculación, seguido por una serie de nódulos secundarios que progresan centralmente a lo largo de los canales linfáticos (133). Se menciona esta infección con o sin el antecedente de trauma (5). Es muy rara la enfermedad con *M. kansasii*, en comparación con las otras *Mycobacteria*, las lesiones pueden durar de semanas a años, se cree que este cuadro se debe a infección exógena. Histológicamente se observa inflamación aguda y crónica, pero no granulomas, el bacilo se puede recuperar de la lesión. Se reporta que los pacientes con inmunidad celular menoscabada, representan el 25% de los casos producidos por

este microorganismo (60).

M. chelonci causa enfermedad cutánea de forma esporotricóide, que afortunadamente sana espontáneamente en 6 meses, hay historia previa de trauma y el bacilo se puede recuperar de la lesión (54). Este microorganismo se ha mencionado como causante también de lesión papulonodular, es to sólo en ocasiones excepcionales; cuando la lesión se presenta en el glándula se acompaña de linfadenopatía regional bilateral inguinal (136).

Se ha mencionado *M. avium* como causante de pápula granulomatosa cutánea en un paciente con terapia de esteroides, en el estudio histológico se parece a la lepra lepromatosa, viéndose adelgazamiento de la epidermis con pérdida de redes, la dermis presenta infiltrado con numerosos histiocitos, se observan *Mycobacteria* aislada o apiñadas (16).

Se encontró a este microorganismo como resistente a las drogas anti tuberculosas y es éste el único caso reportado de *M. avium*.

III. DIAGNOSTICO

El diagnóstico de enfermedades cutáneas de etiología micobacteriana es difícil debido a su polimorfismo lesional.

Se dice que el diagnóstico es de eliminación, pues a pesar de que la demostración de *Mycobacteria* es el elemento confirmatorio de toda dermatosis sospechosa de ser una micobacteriosis cutánea, los métodos de laboratorio a nuestro alcance no siempre permiten establecer su presencia en el examen directo o en los cultivos y las inoculaciones en animales de laboratorio son largas y engorrosas, conociéndose sus resultados sólo después de varios meses. De aquí que se disponga de otros métodos de diagnóstico que se han denominado "criterios de presunción" cuando *Mycobacterium* no ha sido demostrado en forma fehaciente. Forman parte de este grupo: 1) Pruebas cutáneas diferenciales, 2) Estudio histopatológico, 3) Estudio completo del paciente y 4) Prueba terapéutica.

Los métodos se han enumerado en el orden más comúnmente mencionado, orden que no es necesario seguir, ya que la realización de los métodos se lleva a cabo de acuerdo a los recursos de laboratorio disponibles.

3.1. Aislamiento e identificación de *Mycobacteria*

La demostración del agente etiológico de la micobacteriosis cutánea en las lesiones de la piel o mediante la inoculación al cobayo de especímenes biológicos infectados es, sin duda, el procedimiento diagnóstico más importante de todos. Conviene recordar que al efectuar el examen directo no podemos sino certificar la presencia de bacilos ácido alcohol

resistentes y con esos caracteres se han descrito saprófitos a nivel de las fosas nasales, en las zonas seborréicas de la piel, en el esmegma, en el cerumen o como agentes piógenos.

El cultivo y la inoculación tendrían un valor mucho más absoluto permitiendo una segura diferenciación con los ácido alcohol resistentes diferentes del bacilo tuberculoso (47, 135).

La selección de pruebas para el aislamiento y diferenciación de *Mycobacteria* se hace en base a su utilidad médica y en salud pública, pero se debe recordar que existen muchas otras dignas de confianza pero que por el grado de complejidad mayor en su realización, no se llevan a cabo de rutina en los laboratorios de diagnóstico.

Para ordenar las pruebas necesarias para el aislamiento e identificación de *Mycobacteria*, dividiremos este proceso en 3 pasos sucesivos de complejidad creciente en que se basa el diagnóstico bacteriológico específico de una micobacteriosis, según el Centro de Control de Enfermedades, del Departamento de Salud, Educación y Bienestar de los Estados Unidos (32): 1) Demostración de *Mycobacteria* en las secreciones patológicas y/o tejidos, 2) Aislamiento del agente causal en forma pura, 3) Identificación de *Mycobacteria*.

3.1.1. Demostración de *Mycobacteria* en las secreciones patológicas y/o de tejidos

Microscopía

La singular ácido resistencia de *Mycobacteria*, hace la microscopía de primera importancia en los laboratorios, éste puede ser el único procedimiento micobacteriano en un laboratorio donde no hay facilidad de cultivo, y las muestras se conservan adecuadamente para ser remitidas a

otros laboratorios.

Aunque el método usado para la detección de ácido resistencia es el clásico representado por el proceso de Ziehl-Neelsen, uno de los procedimientos con fluorocromo determina en forma idéntica, la propiedad de retención bacteriana de colorante después de la exposición al ácido. Las más grandes ventajas de la microscopía de fluorescencia son observación fácil, rápida y completa. Se pueden usar los objetivos de bajo poder permitiendo la inspección de una gran área en un período corto. Otras ventajas son el mejor contraste, mínima observación y relativamente poca agudeza para el color, por parte del microscopista. Para bacilos ácido resistentes en tejidos, se recomienda la tinción de Fite-Faraco, idéntica a la de Ziehl-Neelsen, modificada sólo por el uso de hematoxilina como un colorante de contraste mejor que azul de metileno. El tejido puede cortarse a 5 μ m de grueso.

La microscopía provee ayuda en la detección de nuevos casos de enfermedad micobacteriana, sirve como una ayuda para determinar la ácido resistencia del cultivo, da una indicación del progreso de la enfermedad en pacientes de quienes se han examinado una serie de muestras; pero rara vez contribuye a la identificación de especies en que es característica la morfología celular y el arreglo, tal como *M. kansasii* que es un bacilo largo, a menudo ancho y la formación de células es en banda, o *M. intracellulare* que es pleomórfico y las células en promedio son muy cortas.

Ocasionalmente, el estudio microscópico puede ser positivo, cuando cultivos subsecuentes son negativos, esto puede ser resultado de inactivación del bacilo por drogas, o por procedimientos de descontaminación muy severos.

Los procedimientos de laboratorio para microscopía, así como la colección y manejo adecuado de especímenes clínicos, se describen en el Apéndice B.

3.1.2. Aislamiento del agente causal en forma pura

Sea o no positivo el estudio al microscopio, el material debe cultivarse por varias razones: 1) El cultivo puede detectar pocos microorganismos, 2) las características del cultivo permiten distinguir entre el bacilo tuberculoso y otras *Mycobacteria*, incluyendo contaminantes avirulentos y *Nocardia*, 3) deben practicarse cultivos para estudiar la sensibilidad de los microorganismos a los medicamentos antes de empezar la quimioterapia.

Homogenización y descontaminación

Debido a que las biopsias se obtienen asépticamente, se ha recomendado que se homogenicen e inoculen directamente al medio de cultivo. Los abscesos sinuosos y otras lesiones cutáneas de las que se sospecha son ocasionadas por *Mycobacteria*, se cultivan mejor si se obtiene una pequeña porción de tejido infectado o por drenaje (24, 74, 84).

M. fortuitum es más sensible a los efectos de digestantes químicos que otras *Mycobacteria*, por lo que los cultivos positivos, pueden resultar solamente de aquellos especímenes que tienen gran número de microorganismos, si se sospecha de éste, se recomienda obtener las muestras asépticamente e inocular directamente al cultivo (26).

Si se sospecha de contaminación en las muestras, se recomienda la descontaminación con N acetil-L cisteína e hidróxido de sodio, el primero es un agente mucolítico sin actividad antibacteriana que licúa el moco

porque rompe los enlaces disulfuro. Cuando esto sucede, se liberan *Mycobacteria* y pueden sedimentarse más rápidamente por centrifugación a alta velocidad. El hidróxido de sodio al 4% en la solución, sirve como agente descontaminante.

El método del fosfato trisódico-Zephiran se utiliza ampliamente en el laboratorio. Los especímenes tratados por este método deben inocularse en un medio de cultivo a base de huevo para neutralizar la inhibición de crecimiento por el Zephiran, esta neutralización se puede lograr también con lecitina. Estos métodos de descontaminación se recomiendan para esputo, líquido cerebroespinal, orina y otros fluidos cuando es necesario.

Los procedimientos de homogenización y descontaminación se describen en el Apéndice B.

Medios de cultivo

Medio de Lowenstein-Jensen. De los numerosos medios de cultivos hechos a base de huevo para el aislamiento de *Mycobacteria* éste es el más comúnmente usado, aún cuando es un medio no selectivo. Se usa especialmente para el aislamiento de *M. tuberculosis*.

Se prepara agregando huevo al medio, Lowenstein usó un medio con rojo congo o con verde de malaquita para inhibir parcialmente el desarrollo bacteriano. Otros investigadores emplearon de modo semejante estos colorantes, principalmente Sonnenschein y Hohn (101). En Estados Unidos fueron populares los medios con violeta de genciana, como el de Coper y el de Petroff y más recientemente lo fue el medio de Petragnani, que contiene verde de malaquita.

En la fórmula actual desarrollada por Jensen, el citrato y fosfato están en concentración algo diferente pero el colorante es igual al de Lowenstein, esto es, de contenido menor al que generalmente se emplea en el medio de Petragnani. Por lo tanto, el medio o fórmula de Jensen, puede poseer una capacidad inhibitoria menor que el medio de Petragnani y acusar una proporción mayor de resultados positivos a partir de materiales con *Mycobacteria*. También se puede anticipar un mayor porcentaje de contaminantes, aunque Cummings, en 7,326 especímenes, informó menor número de contaminantes y mayor de positivos (101).

Hughes *et al* (101) informaron que el medio L-J es el mejor para los diagnósticos corrientes, ellos obtuvieron mayor número de resultados positivos por cultivo que por análisis de frotis. Wayne (101) logró aislar el bacilo tuberculoso colocado sobre filtros de membrana en el medio de Lowenstein, este medio puede usarse por triplicado, incubando un tubo a temperatura ambiente para identificar saprofitos, de los otros dos tubos, uno se incuba con luz y otro sin luz para diferenciar fotocromógenos y escotrocromógenos.

Se han hecho innumerables estudios comparativos después del de Cummings. Algunos más recientes confirman la superioridad del medio de L-J, como por ejemplo, los de Gutiérrez-Vázquez (101) que lo compararon con el agar de sangre y penicilina y con el de carbón de Hirsh y los de Berte y Turker (101), quienes probaron el L-J en paralelo con un medio RDM-1 de albúmina y ácido oleico modificado. Se recomienda el L-J para la prueba de niacina para *Mycobacteria*, así como para pruebas de susceptibilidad.

Además de *Mycobacteria*, *Nocardia* también se desarrolla en el medio de L-J y se le puede aislar de esputos, lavados gástricos y de otros - -

especímenes (para fórmula consultar el Apéndice A).

Agar con ácido oleico de Dubos. La base con ácido oleico de Dubos se emplea para la preparación de varios medios translúcidos, incluyendo el agar con ácido oleico y el agar con Tween y albúmina, que son en especial útiles para el estudio de la morfología y disociación de las colonias, así como para el recuento bacteriano por el número de colonias de *Mycobacteria*. También se puede emplear la preparación de cultivos masivos de cepas que se mantienen siempre en existencia en el laboratorio, en las pruebas de sensibilidad de los cultivos frente a agentes antibacterianos y en el aislamiento de los bacilos tuberculosos. Uyeda y Raffel (101) usaron el medio de Agar de Dubos para investigar la sensibilidad a la penicilina de bacilos tuberculosos virulentos y avirulentos.

Para algunos propósitos, no es necesario añadir enriquecimiento, puede usarse suero, Tween 80 o ambos. La base de agar, por sí sola es capaz de producir desarrollo de la mayoría de los cultivos puros de *Mycobacteria*. Para el aislamiento de *M. tuberculosis* a partir de especímenes patológicos, se debe emplear el medio enriquecido con ácido oleico y albúmina, o con ésteres del ácido oleico y albúmina. Sin embargo, tal y como lo mencionan los autores, algunas cepas de bacilos tuberculosos de mamíferos, se inhiben por el ácido oleico o por el Tween 80. Cuando el medio se va a usar para el aislamiento primario, se pueden omitir la dextrosa y glicerina, agregando penicilina para evitar el crecimiento de microorganismos comensales. En los estudios de cultivos puros o cuando el inóculo se ha tratado con penicilina previamente, no se debe agregar ésta última, aunque es lo que se hace de costumbre en algunos laboratorios (para fórmula consultar el Apéndice A).

Caldo de Middlebrook 7H9. Este caldo enriquecido con albúmina y dextrosa, puede usarse en procedimientos que comprenden el desarrollo de *Mycobacteria*, incluso de *M. tuberculosis*. Es un medio no selectivo.

Con la adición de enriquecimiento de ADC de Middlebrook que es albúmina oleica y 25,000 unidades de penicilina, este caldo puede usarse para el ensayo del contenido de INH en sueros de pacientes en el proceso recomendado por el Laboratorio de Diagnóstico de Tuberculosis del Hospital de Veteranos de las Fuerzas Armadas en Washington (101), el inóculo para la prueba se desarrolla en caldo 7H9 con penicilina, polisorbato 80 y dextrosa. Con la adición del complejo de albúmina oleica y algunas drogas como tetraciclina, kanamicina o penicilina, pueden efectuarse pruebas de sensibilidad en líquidos. Middlebrook y Russe^l informaron haber obtenido conteos satisfactorios de colonias en filtros de membrana en estudios efectuados con penicilina, empleando caldo 7H9. El medio de agar verde de malaquita y 7H9, puede usarse eficazmente para el aislamiento, para estudios de morfología de las colonias y para pruebas de sensibilidad de *Mycobacteria* (para fórmula consultar el Apéndice A).

Agar de Middlebrook y Cohn 7H10

Es un medio con una fórmula mejorada del agar de ácido oleico albúmina, se usa para el aislamiento y pruebas de sensibilidad de *Mycobacteria*, favoreciendo el desarrollo temprano de bacilos tuberculosos típicos. Los autores obtuvieron 83 positivas en agar 7H10 y 82 positivas en el medio de Lowenstein-Jensen en un estudio de 100 especímenes de pacientes, el volumen del desarrollo fue mucho mayor en el agar 7H10, después de incubar durante tres semanas (para fórmula consultar el Apéndice A).

Agar inclinado 7H11

Este agar es el agar 7H10 de Middlebrook y Cohn modificado por la adición de un gramo de hidrolizado enzimático de caseína (peptona tripti case) por litro.

Se usa para el cultivo y para las pruebas de sensibilidad de *Mycobacteria*, especialmente de aquéllas que desarrollan en el agar 7H10 y en otros medios comunes de aislamiento (para fórmula consultar el Apéndice A).

Agar inclinado Mycobactosel

El agar para selección de *Mycobacteria*, es el agar 7H11 más cicloheximida, lincomicina y ácido nalidíxico, ya que permite la inhibición de los microorganismos contaminantes y la obtención de resultados negativos y positivos más confiables, en el aislamiento de especímenes de flora mixta (para fórmula consultar el Apéndice A).

Medio de Petragnani

El medio de Petragnani es un medio glicerolado de huevo y papa, elaborado con una base de leche y verde de malaquita en una concentración de 0.045%. Algo más inhibitorio que el L-J, debido a su contenido más elevado de colorante, el medio de Petragnani se recomienda para especímenes viejos y para usarse paralelamente con otros medios para aislamiento de bacilos tuberculosos. Es un medio no selectivo.

Medio de Petroff

Es un medio glicerolado de huevo coagulado con una base de infusión de res, que contiene cristal violeta como agente inhibidor selectivo. En

rendimiento, es similar al medio de Petraghani, o tal vez ligeramente menos inhibitorio. Es un medio no selectivo.

Medio de Gruft

El medio descrito por Gruft, consiste de medio de L-J con penicilina, ácido nalidíxico y ARN, es un medio selectivo usado comúnmente.

Consultar temperatura, atmósfera y tiempo de incubación en el Apéndice B.

Inoculación a animales

Aún cuando la inoculación al cobayo es un método definitivo de diagnóstico, tan sólo se recurre a éste o a la inoculación en otros animales en circunstancias especiales, ya que esta prueba puede detectar pequeños inóculos, pero es lenta y cara. Fue muy empleada para diferenciar *Mycobacteria* virulentas de las contaminantes, pero ya no se considera apropiada para este propósito ya que las modernas técnicas de cultivo han eliminado esta necesidad, excepto en los casos en que las muestras se hallan altamente contaminadas con microorganismos de difícil eliminación, como *Pseudomonas* y el cultivo es imposible (14, 36).

En las tuberculosis cutáneas verdaderas, la inoculación al cobayo de los fragmentos de las biopsias es positiva, requiriendo períodos de incubación más largos en el lupus vulgar que en las lesiones verrugosas (65).

Para que la inoculación al cobayo sea positiva, se necesita un mínimo de microorganismos, 10 bacilos o más, frecuentemente 50 según Calméte, lo que explica la frecuente negatividad de la inoculación en las tuberculosis cutáneas y en las tuberculides donde se encuentran pocos

bacilos; conviene para incrementar los resultados positivos, efectuar la inoculación de un trozo relativamente grande de tejido, que albergaría un número proporcionalmente mayor de microorganismos.

Cuando la inoculación es positiva en el cobayo, se somete a una prueba de tuberculina 3 a 4 semanas después y cuando la hipersensibilidad es evidente, se examinan las lesiones para objetivizar la existencia de los bacilos por medio de extensiones y cultivos.

Si son posibles pruebas cutáneas con antígenos específicos, la sensibilidad del cobayo inoculado es muy útil para la identificación de *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*. Luego se sacrifica el animal a las 6 semanas en busca de lesiones anatómicas (28, 36, 87).

Los ratones son útiles para distinguir *M. kansasii* de *M. ulcerans* y *M. marinum*, ya que *M. kansasii* produce enfermedad en órganos internos y *M. ulcerans* así como *M. marinum* lesiones en rabo, patas, escroto y nariz; además *M. ulcerans* se distingue por el excesivo lento desarrollo de la enfermedad, comparada con la producida por *M. marinum*. Aún con estas indicaciones, el uso de ratones para este fin es extremadamente raro.

La inoculación en conejos tiene un campo reducido en el diagnóstico se usa principalmente en la identificación diferencial entre *M. tuberculosis* y *M. bovis*, cuando los cultivos no permiten su total identificación.

La patogenicidad de *Mycobacteria* a diferentes animales se ilustra en la Tabla 2.

Los procedimientos de inoculación a animales se encuentran descritos en el Apéndice B.

Tabla 2. Patogenicidad de las *Mycobacteria*

Especie	Cobayo	Conejo	Ratón	Pollo	Hombre
<i>M. tuberculosis</i>	+	-	+	-	+
<i>M. bovis</i>	+	+	+	-	+
<i>M. avium</i>	-	<u>+</u>	+	+	+
<i>M. kansasii</i>	-	-	<u>+</u>	-	+
<i>M. marinum</i>	-	-	Zonas frías	-	+
<i>M. scrofulaceum</i>	-	-	-	-	+
<i>M. gordonae</i>	-	-	-	-	-
<i>M. intracellulare</i>	-	-	-	<u>+</u>	+
<i>M. terrae</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. gastri</i>	-	-	-	-	-
<i>M. xenopi</i>	-	-	-	-	-
<i>M. fortuitum</i>	-	-	+	-	+
<i>M. smegmatis</i> , <i>M. phlei</i>	-	-	-	-	-

3.1.3. Identificación de *Mycobacteria*

La identificación de *Mycobacteria* no es difícil, pero requiere paciencia, familiaridad con los puntos finales de diferentes características de identificación y una colección de microorganismos de control, desgraciadamente sólo unos pocos laboratorios de referencia están equipados para llevar a cabo las pruebas requeridas para la identificación definitiva de *Mycobacteria*, así como para realizar pruebas de susceptibilidad del microorganismo aislado.

Una vez obtenido un cultivo puro es conveniente hacer primero las pruebas necesarias para la identificación de *M. tuberculosis*, debido a que es el causante más común de enfermedad cutánea. Las colonias aisladas de cada tipo deben transferirse por separado a un medio líquido adecuado y estudiadas separadamente, para identificar sus características.

Determinación de la temperatura óptima de aislamiento y rango de crecimiento

La temperatura óptima se ha establecido para varias *Mycobacteria*, generalmente observando la cantidad de crecimiento de cultivos incubados a varias temperaturas. La información más precisa se obtiene por la determinación del efecto de la temperatura sobre el rango de crecimiento, la temperatura óptima de crecimiento se define como la temperatura a la cual el rango de crecimiento es máximo.

M. tuberculosis crece óptimamente a 37°C en 12 a 25 días, con muy pobre o mínimo crecimiento a 32 y 45°C. La mayor utilidad de esta prueba es la identificación de *M. marinum* y *M. ulcerans*. Con excepción de *M. ulcerans*, todas las demás *Mycobacteria* crecen bien a 35-36°C en subcultivos como lo muestra la Tabla 3, la temperatura óptima y el rango de crecimiento

de *Mycobacteria* se dan en la Tabla 4. El procedimiento para esta determinación se describe en el Apéndice B.

Tabla 3. Relación de temperaturas de crecimiento de algunas *Mycobacteria*

Especies	Temperatura de incubación (°C)					
	20-22	30-33	37	40	44	45
<i>M. tuberculosis</i>	-	+	+	-	-	-
<i>M. bovis</i>	-	+	+	-	-	-
<i>M. avium</i>	-	+	+	+	+	+
<i>M. marinum</i>	+	+	+	-	-	-
<i>M. kansasii</i>	+	+	+	+	-	-
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+	+	-	-
<i>M. gordonae</i>	+	+	+	+	-	-
<i>M. intracellulare</i>	+	+	+	+	+	-
<i>M. xenopi</i>	-		+	+	+	+
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+	+	-	-
<i>M. phlei</i>	+	+	+	+	+	+
<i>M. smegmatis</i>	+	+	+	+	+	+
<i>M. ulcerans</i>	-	+	-	-	-	-

Pigmentación de colonias

La pigmentación de colonias jóvenes de *Mycobacteria* ya sea después de su crecimiento en la obscuridad (escotocromógenas), o por inducción por exposición a la luz (fotocromógenas), puede ser una característica importante en la identificación de ciertas especies de *Mycobacteria*. *M. tuberculosis* no produce ningún pigmento, excepto un claro color beige aún después de exposición a la luz brillante.

En la prueba de fotorreactividad de *Mycobacteria*, la producción de pigmento amarillo en *Mycobacteria* fotocromógenas es el resultado de producción de cristales de caroteno anaranjado amarillento por las metabolizadoras activas, seguida de exposición a la luz brillante. El tipo de pigmento producido por *Mycobacteria* que crecen en la obscuridad no se conoce (74). El procedimiento para esta prueba se describe en el Apéndice B.

Prueba de niacina

La niacina (ácido nicotínico) se forma en el metabolismo de *Mycobacterium*, pero la mayoría de las especies poseen una enzima que convierte la niacina libre en ribonucleato de niacina. *M. tuberculosis*, *M. simiae* y cepas de *M. marinum*, *M. chelonae*, así como un número importante de cepas de *M. bovis*, carecen de la enzima y pueden acumular niacina libre como un producto soluble en agua que es excretado al medio de cultivo. La cantidad de niacina refleja directamente la edad del cultivo.

La cantidad de niacina encontrada en filtrados libres de células es mucho más alta en *M. tuberculosis*, comparada con otras cepas de *Mycobacteria*. Esta prueba ha llegado a ser una de las más importantes y ampliamente usada en micobacteriología. Consultar la Tabla 4.

Se señala como fundamento de la prueba de niacina descrita por Runyon que químicamente el ácido nicotínico reacciona con el bromuro de cianógeno en presencia de una amina primaria (anilina) para formar un compuesto de color amarillo (32, 74).

Prueba de nitrato reductasa

La presencia de la enzima nitrato reductasa dependiente de NADH que cataliza la reducción de nitratos y nitritos, es una importante característica para la identificación de *M. tuberculosis*, *M. szulgai*, *M. kansasii* y *M. fortuitum* pues todas ellas reducen el nitrato a nitrito, otras especies que también son positivas para esta prueba son: *M. flavescens*, *M. terrae*, *M. triviale* y *M. chelonae*, *M. bovis*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. xenopi* y *M. gastris* son negativas o sólo débilmente positivas.

Como fundamento de la prueba de nitrato reductasa, *Mycobacteria* contienen nitrato reductasa y pueden producir oxígeno de los nitratos. La presencia de nitrito se detecta por la adición de sulfanilamida y n-naftiletildiamina en pH ácido al medio de cultivo de prueba, si el nitrito está presente se forma una coloración roja debida a un colorante diazoico (74).

Prueba de catalasa

La mayoría de *Mycobacteria* producen catalasa, pero varían en la cantidad producida, las excepciones son algunas mutantes de *M. tuberculosis* y *M. gastris* resistentes a isoniacida. Algunas formas de catalasa son inactivadas a 68°C por 20 minutos y otras son estables, la prueba de catalasa a 68°C es útil para la diferenciación de *M. xenopi*, *M. avium* y

M. intracellulare de *M. scrofulaceum* y *M. gordonae* y para diferenciar *M. kansasii* de *M. marinum* y *M. gastri* (124). La semicuantificación de catalasa y la susceptibilidad al calentamiento a 68°C y a pH 7.0, son 2 características útiles para la identificación de *Mycobacteria*.

La prueba de catalasa después de calentamiento a 68°C unida a la prueba de niacina, son de gran valor para el reconocimiento del bacilo tuberculoso que es niacina positivo y catalasa negativo. Los resultados de esta prueba para otras *Mycobacteria* se encuentran en la Tabla 4.

Los microorganismos productores de catalasa tienen la capacidad de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre. La prueba para la determinación de catalasa micobacteriana difiere de las pruebas usadas para la detección de catalasa en el uso de peróxido de hidrógeno al 30% (Superoxol) (14) con una solución de un tensoactivo como el Tween 80 en lugar de peróxido de hidrógeno al 3%. El detergente o tensoactivo ayuda a la dispersión de las colonias bacterianas, con el fin de optimizar la prueba (74).

Los procedimientos de las pruebas bioquímicas se describen en el Apéndice C.

Inhibición de crecimiento de *Mycobacteria* por la hidracida del ácido carboxílico-2-tiofeno (T₂H).

La diferenciación entre *M. tuberculosis* y *M. bovis*, algunas veces es difícil, puesto que más del 30% de las cepas de *M. bovis* BCG pueden acumular pequeñas cantidades de niacina mientras otras cepas pueden dar pruebas débilmente positivas en la reducción de nitritos. Una característica muy útil en la diferenciación de estas dos especies es la capacidad de esta hidracida de inhibir el crecimiento de *M. bovis* pero no el de otras

especies de *Mycobacteria*, por lo que esta prueba se utiliza ampliamente para este fin (74).

El procedimiento se describe en el Apéndice D.

Morfología colonial

La utilización de esta característica en la identificación de *Mycobacteria* es limitada, pues la morfología colonial de cepas de primoaislamiento puede mostrar colonias lisas, mientras que las colonias de cepas mantenidas en el laboratorio pueden ser rugosas.

Las colonias de cepas virulentas de *M. tuberculosis* se caracterizan por la formación de microcolonias en serpentina, por lo que las colonias son rugosas, mientras que la mayoría de las otras *Mycobacteria* forman colonias lisas. La caracterización se puede hacer en medio 7H11 sólido.

Prueba de hidrólisis del Tween 80

Las especies de *Mycobacteria* que hidrolizan el Tween 80 realmente no son de significancia clínica, salvo raras excepciones como la de *M. kansasii* que puede producir un resultado positivo en un tiempo corto de 3 a 6 horas, esta prueba es útil en la diferenciación entre *M. gordonae* (+) *M. flavescens* (+) y *M. scrofulaceum* (-) de importancia clínica cuando se hace en el tiempo estándar de 10 días. Por la diferenciación que hay entre patógenos generalmente negativos y los no patógenos generalmente positivos, la prueba resulta de gran utilidad clínica (74). Los resultados de las pruebas para otras *Mycobacteria* se encuentran en la Tabla 4.

Prueba de arilsulfatasa

Esta prueba se usa principalmente para identificar *Mycobacteria* de

rápido crecimiento como *M. fortuitum* y *M. chelonae* ya que son las únicas que producen una cantidad suficiente de enzima para producir pruebas positivas en 3 días, *M. xenopi*, *M. szulgai*, *M. marinum*, *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. avium* y *M. intracellulare*, producen pequeñas cantidades no detectables por la prueba. Se basa en que la arilsulfatasa es una enzima que libera a la fenoftaleína de la sal disulfato tripotásico de fenoftaleína, el carbonato de sodio alcaliniza el medio y la fenoftaleína forma una sal disódica que produce un color rosa (74).

Prueba de la ureasa

Esta prueba permite diferenciar *M. scrofulaceum* (+) de *M. gordonae* (-) y *M. gastri* (+) de *M. intracellulare* (-). El resultado para esta prueba de otras *Mycobacteria* se encuentra en la Tabla 4.

Esta prueba determina la capacidad de algunas *Mycobacteria* de hidrolizar la urea (74).

Los procedimientos de las pruebas bioquímicas se describen en el Apéndice C.

Tolerancia a 5% de NaCl

La capacidad de crecer en un medio de cultivo a base de huevo con 5% de NaCl la muestran *M. flavescens*, *M. triviale* y *M. fortuitum*. Otras *Mycobacteria* no toleran este incremento en la concentración de sales y su crecimiento se inhibe (74). Consultar la Tabla 4. Procedimiento descrito en el Apéndice D.

Prueba de utilización de hierro

Los miembros del complejo *M. fortuitum-chelonae*, microorganismos de

Tabla 4. Características para identificación de *Mycobacteria*

Especies	Temperatura óptima de aislamiento. Rango de crecimiento	Catalasa pH 7, 68°C	Niacina	Ureasa	Hidrólisis del tween, 10 días	Crecimiento en 5% NaCl
<i>M. tuberculosis</i>	37°C 12-25 días	-	+	+	±	-
<i>M. bovis</i>	37°C 24-40 días	-	±	+	-	-
<i>M. avium</i>	37°C 10-21 días	+	-	-	-	-
<i>M. marinum</i>	31-32°C 5-14 días	±	±		+	-
<i>M. kansasii</i>	37°C 10-20 días	+	-	+	+	-
<i>M. scrofulaceum</i>	37°C 10 días	+	-	+	-	-
<i>M. intracellulare</i>	37°C 10-21 días	+	-	-	-	-
<i>M. fortuitum</i>	37°C 3-5 días	+	-	+	±	+
<i>M. ulcerans</i>	32°C 28-60 días	+	-		-	
<i>M. szulgai</i>	37°C 12-25 días	+	-	+	±	-
<i>M. chelonae</i>	37°C 3-5 días	+	±	+	-	-

rápido crecimiento, tienen muchas similitudes y esta prueba es necesaria solamente en forma ocasional para distinguir *M. fortuitum* que tiene la capacidad de tomar las sales solubles de hierro del medio de cultivo, produciendo una apariencia mohosa color café, luego de la adición de una solución acuosa al 20%, de citrato férrico de amonio. *M. chelonae* carece de esta propiedad. También *M. phlei* es positivo para esta prueba (74).

El procedimiento de esta prueba se encuentra en el Apéndice C.

3.2. Pruebas cutáneas diferenciales

El estudio de la alergia tuberculínica y recientemente la alergia a antígenos de *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* a los cuales Runyon, E.H. (103) cree correcto designar como micobacterinas, también nombradas sensitivas (aunque este término puede usarse para agentes derivados de otro género), tienen un interés muy particular en Dermatología por acompañarse la mayor parte de enfermedades cutáneas producidas por *Mycobacteria*, de un estado hiperérgico, con una sensibilidad mayor que la que habitualmente producen otras localizaciones de enfermedad micobacteriana cuando se estudia la reacción local de Mantoux.

Estas pruebas a menudo facilitan el diagnóstico en pacientes con enfermedad de la piel producida por bacilos ácido resistentes. La base para las pruebas cutáneas comparativas, es que un antígeno que es homólogo con el agente causal, da una reacción más grande que uno que es heterólogo. Si bien las reacciones cruzadas ocurren entre antígenos del bacilo tuberculoso y los de *Mycobacteria* diferentes de éste (112), las más grandes reacciones pueden ser producidas por el antígeno del microorganismo productor de la infección.

Estas pruebas pueden facilitar la toma de decisión acerca del significado de un cultivo reportado positivo para *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*: una prueba cutánea negativa puede indicar que el microorganismo estuvo solamente presente en forma incidental. Sin embargo, existen limitaciones en el uso de antígenos atípicos, pues los resultados no son muy precisos y no se puede asegurar de qué *Mycobacteria* se trata, además no se cuenta con todos los antígenos de éstas y se hace uso de la reactividad cruzada.

El médico puede tener que decidir cuándo un bajo grado de sensibilidad a la tuberculina representa tuberculosis o enfermedad debida a *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso, el resultado de las pruebas diferenciales, utilizando tuberculina y un antígeno atípico administrados al mismo tiempo, le sugerirán la interpretación correcta, apoyándose además en el cuadro clínico y resultado de estudios histopatológicos.

La tuberculina utilizada en las pruebas cutáneas pueden obtenerse en dos formas: tuberculina antigua (T.A.) y derivado protéico purificado (P.P.D.), la primera se conoce desde los tiempos de Koch y se prepara sometiendo a la autoclave o hirviendo, un cultivo de bacilo tuberculoso, se concentra 10 veces en un baño de vapor, eliminando los residuos por filtración y añadiendo glicerol como esterilizador. En este producto impuro el componente activo es una proteína muy termoestable, pero además contiene carbohidratos y algunos lípidos. Esta preparación es estable pero no es particularmente específica, ya que puede reaccionar cruzadamente con otras *Mycobacteria* (36, 77, 101). La T.A. cuando se mantiene en refrigeración, es adecuada para las pruebas cutáneas durante dos semanas al menos y probablemente por un mes (73). La dilución de una parte de tuberculina concentrada en 10,000 partes de diluyente (1: 10,000) - - -

proporciona aproximadamente una unidad internacional de tuberculina (1 U.T.).

El P.P.D., es la proteína del bacilo tuberculoso que se ha precipitado del cultivo de bacilos tuberculosos en medio no protéico, el cual se prepara sometiendo al autoclave el cultivo, eliminando los residuos por filtración, concentrando el filtrado por ultracentrifugación y precipitando varias veces con sulfato amónico saturado al 50%. El producto es una mezcla de proteínas con promedio de PM de 10,000 (36). En este proceso se pierden proteínas lábiles antigénicas que pudieran tener la especificidad deseada, por lo que existe una considerable variación antigénica en los preparados. La O.M.S., ha designado una gran cantidad de P.P.D. (del No. 49608 hecho por el Dr. Florence Seibert en 1939) como una tuberculina estándar internacional (PPD-S). El Statens Seruminstitut de Copenhague de acuerdo con el U.N.I.C.E.F. y la O.M.S. ha preparado el lote Rt-23, el cual se ha titulado en varias poblaciones humanas (112), en relación con el Patrón Internacional de Tuberculina de mamíferos (PPD-S) y los lotes de P.P.D. anteriormente empleados en las campañas internacionales. La tuberculina se diluye en un diluyente estabilizador especial: Solución salina isotónica amortiguada con fosfatos a un pH de 7.38 a la que se ha agregado 0.005% de Tween 80 como agente detergente no iónico.

En las diluciones elevadas que hay que emplear en las pruebas intradérmicas, la actividad de la tuberculina purificada acusa variaciones considerables e imprevisibles debidas en gran parte, según indican una serie de estudios, a una adsorción rápida de la tuberculina por los objetos de cristal y los recipientes en que se conserva la dilución.

La adición del Tween 80 al diluyente evita esta adsorción y puede aumentar la concentración efectiva hasta 5 veces o más (102). Siempre que

se mantengan a una temperatura que no exceda de 28°C, si no es por períodos cortos, y no estén demasiado expuestas a la luz solar directa o a la luz fuerte del día, las diluciones pueden utilizarse durante 6 meses (73). Las dosis normales son de 0.02 µg (1 U.T.) de Rt-23 en 0.1 ml de diluyente estabilizador. Las reacciones que produce esta dosis son aproximadamente del mismo tamaño que las que se obtienen con 0.06 µg (3 U.T.) del patrón internacional de tuberculina de mamíferos en 0.1 ml de diluyente al que no se ha agregado Tween 80 (102).

Los antígenos de *Mycobacteria* diferente de *M. tuberculosis* se preparan en dosis de 0.001 mg de proteína que corresponde a 5 U.T. y están disponibles en el Centro de Control de Enfermedades Transmisibles en Atlanta, EE.UU. Los antígenos disponibles son el PPD-P obtenido de *M. marinum*, el PPD-Y (kansasina) de *M. kansasii*, PPD-F (ranina) de *M. fortuitum*, PPD-B de *M. intracellulare*, PPD-G obtenido de la cepa de Gause de *M. scrofulaceum* y PPD-CG (chelonina) de *M. chelonae* (32).

Se están haciendo grandes esfuerzos para purificar componentes micobacterianos antigénicos individuales que darían grandes ventajas en la realización de las pruebas cutáneas diferenciales, estos antígenos de composición conocida pueden estandarizarse por métodos gravimétricos o por análisis químico para lograr una uniformidad antigénica lote a lote.

J. Marks *et al* (85) describen un método para la obtención de antígenos micobacterianos específicos de cepa, utilizados para la realización de pruebas cutáneas diferenciales en niños con adenitis cervical, aislándose de diferentes cepas de *M. avium* y *M. intracellulare*. Los antígenos se prepararon utilizando el medio modificado de Dorset y Henley. La muerte celular se produce cuando se somete el cultivo a una corriente de vapor y a una precipitación con ácido tricloroacético, el precipitado - -

obtenido después de una centrifugación se lava asépticamente, redisolviéndose y filtrándose a través de una membrana estéril y añadiendo fenol al 0.25% como conservador, el depósito final se lava asépticamente con KH_2PO_4 al 0.02%, agua destilada, acetona y éter y se seca. La proporción de proteínas se determina por el contenido de tirosina.

Se han hecho considerables progresos últimamente en la preparación de antígenos micobacterianos obtenidos por la disgregación ultrasónica de microorganismos frescos viables seguida por infiltración de membrana. Estos antígenos tienen un muy alto grado de especificidad porque los determinantes antigénicos no se destruyen. Cuando éstos se pueden obtener comercialmente, serán tal vez de particular valor en casos difíciles en que puedan estar involucrados *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* (102).

Daniel, T.M. *et al* (20, 29, 30, 31) han estado realizando estudios muy amplios de los antígenos micobacterianos, revisando su aislamiento, química y propiedades inmunológicas, con el fin de llegar a separar únicamente los componentes antigénicos de importancia.

Para estudiar la especificidad del PPD-CG y del PPD-F, se realizaron pruebas cutáneas diferenciales en pacientes con enfermedad postquirúrgica ocasionada por *M. chelonae* y *M. fortuitum*, encontrándose una gran especificidad y mayor sensibilidad de PPD-CG para detectar la enfermedad con *M. chelonae*. Sin embargo, PPD-F no fue tan específico, pues se detectó enfermedad con *M. fortuitum* pero también con *M. chelonae* (26, 62).

Por medio de pruebas cutáneas diferenciales con varios antígenos de *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso, Edwards (93) encontró que 40 millones de personas han sido sensibilizadas por estas *Mycobacteria* en Estados Unidos.

El método más preciso y confiable para realizar la prueba tuberculínica es con la técnica de Mantoux (36, 73, 75).

Se inyecta por vía intradérmica en pacientes sospechosos de ser tuberculosos, una concentración de 1 U.T. para preveer una reacción grave, y si no hay respuesta en dos o tres días, se utiliza la dosis normalizada de 5 U.T. de PPD (0.0001 mg) en 0.1 ml que corresponde a una dosis de 1: 2,000 de la tuberculina vieja (102, 36). Esta inyección se hace en la cara posterior o en la cara anterior del antebrazo utilizando una aguja número 26 ó 27 de bisel corto. A no ser que se forme una roncha definida después de la inyección, la prueba no es satisfactoria y puede obtenerse una reacción falsa negativa. Esta prueba debe leerse a las 48 y 72 horas después y el área de induración debe medirse en su diámetro transverso mayor, la lectura se indica así, 5 a 10 mm: +; 10 a 20 mm ++; más de 20 mm: +++.

Otro método ampliamente utilizado es el de múltiples punciones cutáneas de Heaf, la dosis total es de 100 U.T. (36, 102). Esta prueba es menos exacta que la de Mantoux, por lo que todo resultado positivo o dudoso debe ser comprobado utilizando la técnica intradérmica.

Una induración de menos de 5 mm de diámetro constituye una reacción negativa. Si el área de induración mide entre 5 y 9 mm, ésta se debe considerar dudosa y la prueba debe repetirse con la misma dosis de tuberculina. El segundo resultado de la prueba puede ser negativo, pero si muestra el mismo grado de reacción deben hacerse pruebas simultáneas con tuberculina purificada a una dosis de 95 U.T. y los antígenos de *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*. Tales pruebas proporcionan con frecuencia una pequeña reacción tuberculínica (induración de 5 a 9 mm de diámetro) y una reacción mayor a uno de los antígenos de *Mycobacteria*

diferentes del bacilo tuberculoso (induración de 15 a 20 mm de diámetro) que de esta forma sugiere que la respuesta a la tuberculina es una reacción heteróloga. Si la prueba de la tuberculina es de 10 mm de induración se considera positiva (73, 102). La positividad de la prueba cutánea tiene mayor significado en los niños, en los adultos indica que el individuo ha sido infectado previamente pero no certifica la existencia de enfermedad activa o la gravedad del proceso, pues esto no se puede medir por esta reacción. La reacción tuberculínica posterior a la vacunación con BCG, generalmente es de 5 a 9 mm de diámetro, si mide más de 15 mm debe considerarse la posibilidad de una enfermedad por bacilos tuberculosos virulentos (73, 102).

Una reacción negativa a la tuberculina indica ausencia de infección, aunque se dan algunas reacciones falsas negativas, siendo la más frecuente la que ocurre después del momento del inicio de la enfermedad (fase prealérgica) y antes de que se establezca la alergia, lo que sucede aproximadamente un mes después de la infección, esto se observa en los pacientes que tienen una enfermedad tuberculosa muy intensa (anergia positiva), también en desnutrición, deshidratación e inanición, así como en ciertos casos de tuberculosis de los huesos y articulaciones. Durante la evolución del sarampión la reacción tuberculínica está parcial o totalmente deprimida, pero ésta es positiva de 10 días a 6 semanas después. Otras causas de respuestas negativas están condicionadas por varicela, influenza, mononucleosis infecciosa, neumonía atípica primaria, sarcoidosis y después de la aplicación de vacunas con virus muertos o virus atenuados y en edad avanzada, quizá a consecuencia de alteraciones circulatorias.

La terapéutica con corticoides puede condicionar una respuesta negativa. También puede haber reacciones falsas negativas debidas a la misma

tuberculina: una dilución inadecuada, contaminación bacteriana, exposición a la luz o al calor o adsorción de la tuberculina a la pared del recipiente. Se ha demostrado que cerca del 25% de la potencia de la tuberculina en solución se pierde a los 20 minutos de estar en la jeringa y hasta el 80% en las primeras 24 horas (102). Una administración, así como una lectura inadecuada, pueden dar una falsa negativa. Pueden ocurrir reacciones falsas positivas (5 a 9 mm de diámetro) que pueden deberse a infecciones por otras *Mycobacteria* diferentes a la que se está probando. Otras causas de falsas positivas poco frecuentes, son la hipersensibilidad al fenol, glicerina o al caldo de la tuberculina antigua, puede producirse enrojecimiento e induración en las primeras 24 ó 48 horas después de la aplicación, pero si se hace una lectura a las 48 ó 72 horas después de haber aplicado la tuberculina, esta reacción ha desaparecido (73). Recientemente se han visto casos de tuberculosis cutánea con una reacción a la tuberculina negativa (47).

Un dato de gran valor es cuando la respuesta es hiperérgica por ejemplo 1 x 100,000, que hablaría en favor de un estado de hipersensibilidad del organismo, lo cual es común en las formas hematógenas, aunque el dato no se compruebe en todos los casos (108).

La inyección intradérmica de tuberculina, activa las lesiones tuberculosas (reacción focal), por lo que a pesar de su gran valor diagnóstico, debe emplearse sólo en casos especiales, por el riesgo de desencadenar fenómenos graves como fiebre, decaimiento y principalmente reactivación y diseminación de la enfermedad, sobre todo en tuberculosis cutánea (87).

3.3. Estudio histopatológico

El tubérculo típico se compone de un acúmulo de células epitelioides rodeado por una pared de células mononucleares. Habitualmente entre las células epitelioides hay unas pocas células gigantes. Las células epitelioides del centro del tubérculo pueden presentar grados variables de necrosis por caseificación que es la firma histológica del bacilo de Koch. Si se encuentran estos tubérculos típicos, se habla de un infiltrado tuberculoso (39). Existe en la primoinfección, en las formas colicuativas y en las verrugosas, así como en las micobacteriosis cutáneas ocasionadas por *M. chelonae* y *M. fortuitum* (65, 131).

No obstante, en las micobacteriosis cutáneas a menudo no se encuentran tubérculos típicos, sino solamente acúmulos irregulares de células epitelioides dentro de un infiltrado inflamatorio, con o sin necrosis y con o sin células gigantes. En este caso se habla de un infiltrado tuberculoide (79), que se encuentra en la mayoría de las tuberculosis cutáneas así como en enfermedad ocasionada por *M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. marinum* y *M. szulgai* (131).

En los cortes histológicos se pueden poner en evidencia, *Mycobacteria* aunque con dificultad; se encuentran los bacilos en preparaciones procedentes de tuberculosis verrugosa, tuberculosis ulcerosa así como en enfermedad cutánea ocasionada por *M. marinum* y *M. szulgai* (131).

Por último, es importante recordar que los infiltrados tuberculoideos no son patognomónicos de las micobacteriosis y que estructuras semejantes se pueden observar en otras enfermedades infecciosas (sífilis, lepra, micosis profundas, etc.), en ciertas reacciones de hipersensibilidad tipo IV de Gell y Coombs (zirconio, berilio, tintes de tatuajes, etc.), en reacciones de cuerpo extraño sin que exista asociado un mecanismo de - -

hipersensibilidad (suturas de nylon o seda, talco, parafina, etc.) y en muchas otras enfermedades de etiología desconocida (sarcoidosis, rosácea etc.), por lo que este infiltrado tuberculoide es causa de mucha confusión (87, 97, 102).

Por todo lo anterior la imagen histopatológica tuberculoide con células tipo Langhans, no es suficiente para hacer el diagnóstico; se obtendrá mayor especificidad si se muestra el bacilo de Koch o algunas *Mycobacteria* diferentes de él (82). El cuadro histopatológico para cada entidad clínica se describió en el Capítulo II.

3.4. Estudio completo del paciente

Aunque la localización de bacilos ácido resistentes en la piel previene por lo general otras localizaciones, debe hacerse un estudio minucioso del paciente para ver si existen lesiones de micobacteriosis visceral en el curso de micobacteriosis cutánea que según CL Huriez (65) se pueden encontrar en 2/3 de los casos. El hallazgo de otras localizaciones tuberculosas así como antecedentes concretos, ayudan al diagnóstico etiológico de una lesión supuestamente micobacteriana, más particularmente cuando se trata de una forma de las llamadas atípicas. Su investigación tiene además la importancia de orientar más cabalmente la terapéutica, contribuir a fijar el pronóstico, así como a perfilar ciertas características de la enfermedad micobacteriana cutánea.

Siendo la vía hematógica preponderante, la exploración del pulmón especialmente, como fuente de origen, resulta de rigor en el estudio de las micobacteriosis cutáneas, aunque no siempre sea posible el hallazgo de elementos clínicos y radiológicos, pues según los estudios de Stemler y Otto (17), el 19% de los individuos fallecidos por otras causas, tenían

lesiones de tuberculosis activas, que no fueron demostrables en vida.

La frecuencia y tipo de lesiones concomitantes a las cutáneas varía según la forma clínica en estudio. La tuberculosis colicuativa y la tuberculosis ulcerosa evolucionan en el 100% de los casos en tuberculosis viscerales graves, intestinales o pulmonares, altamente bacilíferas. Para Gay Prieto (48) el lupus vulgar se asocia en el 50% de los casos con lesiones tuberculosas extracutáneas. Se recomienda ordenar estudios radiológicos y bacteriológicos que se consideren convenientes para descartar una micobacteriosis activa en otros órganos como pulmón, huesos, ganglios (36. 108).

Se deben tomar en cuenta también trastornos del estado general del paciente y aspectos clínicos de la lesión, que cuando corresponden a las formas aceptadas para micobacteriosis cutáneas, pueden ayudar al diagnóstico.

3.5. Prueba terapéutica

Esta prueba sólo se emplea cuando todos los demás métodos diagnósticos han fracasado, no obstante, no en pocas ocasiones es el tratamiento de prueba el que hace el diagnóstico con certeza (108).

La eficiencia y especificidad de modernas drogas tuberculostáticas hace posible que esta prueba se use como una medida de diagnóstico y como la más simple prueba de la identidad de una tuberculide. Si una lesión de la piel no muestra disminución de actividad y un mejoramiento visible después de 6 semanas de terapia en dosis adecuadas, ésta no es tuberculosis cutánea. Esta prueba ayuda al diagnóstico de enfermedad cutánea ocasionada por *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* ya que se distinguen por una menor o ninguna respuesta a las drogas antituberculosas (102).

3.6. Diagnóstico diferencial de micobacteriosis cutáneas

Las características típicas de la tuberculosis cutánea son claras, pero la variedad de ésta lleva a confusión con muchas otras enfermedades cutáneas, especialmente si la necrosis por caseificación está ausente o la inmunidad del sujeto es pobre. Es imposible diferenciar la tuberculosis cutánea de otras enfermedades cutáneas micobacterianas tan sólo por aspectos clínicos de las lesiones, la diferenciación se hace por medio de las pruebas de laboratorio que se mencionaron en el punto 3.1. de este capítulo (102). Cada entidad clínica de micobacteriosis cutánea deberá ser diferenciada de enfermedades que son muy parecidas a éstas, como fue ya mencionado en el Capítulo II (punto 2.6.).

IV. TRATAMIENTO

Lo mismo que en el tratamiento de la tuberculosis de otros órganos, la quimioterapia es el tratamiento de elección en tuberculosis cutánea (132). Si se trata en forma adecuada puede curar en más del 95% de los casos (116).

El tipo de compromiso cutáneo, el estado de la enfermedad, el nivel de inmunidad y el estado general del enfermo son factores importantes que deben considerarse. El reconocimiento temprano de la enfermedad y un buen seguimiento son esenciales. La tuberculosis cutánea asociada a enfermedad micobacteriana de los órganos internos exige un plan terapéutico multidisciplinario bien coordinado. Es necesario tener en cuenta problemas de resistencias a las drogas y posibles efectos secundarios. Las medidas generales como buena nutrición, reposo, vitaminoterapia para mejorar las condiciones generales del paciente, control de enfermedad intercurrente, eliminación de posibles fuentes de reinfección, etc. son esenciales.

Principios de tratamiento

Los agentes quimioterapéuticos deben su eficiencia a la interferencia específica con varias funciones vitales de los microorganismos, sin lesionar al huésped (41, 116).

El primer principio de tratamiento es escoger drogas a las cuales sean susceptibles los microorganismos, pero en un paciente que nunca ha sido tratado, puede iniciarse la terapéutica con dos o tres drogas sin esperar los resultados de los estudios de susceptibilidad.

El segundo principio es siempre infligir simultáneamente, desde el inicio, "lesiones bioquímicas" a los bacilos, incluso en una población de microorganismos susceptibles a determinada droga, se produce un mutante con resistencia natural en cerca de 100,000 microorganismos. Las lesiones tuberculosas cavitarias contienen con frecuencia este número y, por lo tanto, suficientes mutantes naturalmente resistentes como para que se presente resistencia clínica a cualquier droga aislada. Esto puede evitarse mediante el uso de varias drogas en conjunto desde el inicio.

El tercer principio es nunca agregar una droga a un régimen que al parecer está fallando.

El cuarto principio es que el tratamiento debe continuarse lo suficiente, como para erradicar virtualmente todos los bacilos; habitualmente esto requiere de 18 a 24 meses, aunque se han reportado buenos resultados con un período más corto (116).

El quinto principio es que se prefiere una sola concentración máxima de los fármacos en vez de intentar mantener un nivel sanguíneo durante todo el día. Siempre que sea posible, las drogas deben darse en forma simultánea en la dosis total diaria, de preferencia antes del desayuno cuando la absorción intestinal es más rápida.

Drogas primarias

Denominadas así, por ser las que se deben usar en primera instancia en todo paciente no tratado o en pacientes tratados con buenos resultados. Se recomienda llevar a cabo pruebas de susceptibilidad *in vitro* (77). Estas son: Isoniacida (hidracida del ácido isonicotínico) (8, 99), estreptomomicina (47, 116), PAS (ácido paramino salicílico) (132) y etambutol (132).

Drogas secundarias

Son aquéllas que se utilizan cuando se ha fracasado con las primarias. Siempre se deben usar en combinación (77) y ellas son como la rifampicina (47), etionamida (etiltioisonicotinamida) (8, 132), pirazinamida, viomicina, cicloserina (8), capreomicina y kanamicina.

4.1. Tratamiento para tuberculosis cutánea ocasionada por *M. tuberculosis*

Afortunadamente en esta enfermedad hay una buena respuesta al tratamiento, ya que *M. tuberculosis* es sensible a la mayoría de las drogas antituberculosas.

Terapia primaria y siguiente

En la fase primaria del tratamiento, puede usarse la combinación de rutina, que es generalmente rifampicina, isoniacida y etambutol, esta fase tiene una duración de 6 semanas a 3 meses. En la fase siguiente, tradicionalmente de 1 año de duración, sólo se requieren dos drogas la combinación debe depender de patrones de sensibilidad y de la disponibilidad de la droga (102).

Terapia intermitente

Esta debe darse bajo supervisión estricta, se da al tratamiento dos veces por semana, lo que resulta económico, reduce la toxicidad de las drogas y evita fracasos sobre todo en tratamientos de períodos largos. Puede usarse estreptomina, isoniacida y piridoxina, la estreptomina puede sustituirse con PAS si no es tolerada. Un avance reciente para este tipo de tratamiento es la introducción de una forma matriz de isoniacida de lenta liberación, para conseguir niveles adecuados de ésta en sangre - -

durante el período entre una dosis y otra. Sin embargo, este tipo de terapia requiere aún de más evaluación (102).

Formas crónicas, fijas y evolutivas

Sin duda que la estreptomycinina y la isoniacida, especialmente si se emplean combinadas para conseguir acción sinérgica entre antibiótico y quimioterapéutico, retardar y evitar en lo posible la resistencia del agente causal y son, por el momento, las drogas de elección cualesquiera que sea el tipo de tuberculosis cutánea que se quiera curar, sobre todo si es de este primer grupo de enfermedades (40, 56). En este caso es muy útil también el etambutol junto con rifampicina, estos dos medicamentos combinados con isoniacida han venido a sustituir el PAS y estreptomycinina disminuyendo así los efectos colaterales (21, 49, 64, 67, 75, 108, 110, 114, 129). También se ha recomendado tiacetozona en combinación con isoniacida (94, 102), isoniacida, etambutol y pirazinamida (58). En infantes se recomienda etambutol y rifampicina en dosis adecuadas al peso corporal (88).

En caso de tuberculosis pulmonar activa con diseminación cutánea, se recomienda terapia triple con isoniacida, etambutol y rifampicina durante 2 ó 3 meses, luego se continúa el tratamiento con isoniacida y rifampicina durante 9 meses más. El tratamiento puede prolongarse de 18 a 24 meses, siempre que haya una droga bacteriostática, como etambutol que puede reemplazar a isoniacida o rifampicina (4, 12).

Tuberculides

Son muy resistentes al tratamiento por el estado de hipersensibilidad del organismo, que es propiamente el causante de su aparición, en este - -

grupo de enfermedades se recomienda además de la terapia triple, los corticosteroides que han dado buenos resultados debido a que acortan el tiempo del padecimiento, actuando sobre el terreno hiperérgico, poniendo así a las *Mycobacteria* al alcance de las drogas tuberculostáticas. Puede usarse prednisona o sus equivalentes para lograr la remisión del padecimiento, se va disminuyendo la dosis de ésta gradualmente hasta suprimir las por completo (40, 108).

Otras medidas

La intervención quirúrgica, electrocauterización o crioterapia, pueden combinarse con la quimioterapia, aunque no hay reglas de cuándo y dónde deben llevarse a cabo estas medidas.

Vitamina D₂ (calciferol)

Puede indicarse su uso en tratamientos largos de casos individuales. Esta actúa sobre el tejido, no sobre *Mycobacteria*, promoviendo proliferación fibroblástica y "estrangulando" tubérculos (102).

4.2. Tratamiento para enfermedad cutánea ocasionada por *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*

Muchas *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso son resistentes a la mayoría de las drogas antituberculosas comúnmente usadas, por lo que su tratamiento ha sido difícil y de resultados diferentes e inconstantes y éste debe basarse individualmente en encuentros clínicos de la enfermedad.

La resistencia a las drogas *in vitro* no está teniendo importancia para instituir el tratamiento. Se debe usar una combinación de al menos 2 ó 3 medicamentos a los que el microorganismo aislado sea parcialmente - - -

susceptible (63, 93).

Enfermedad cutánea debida a *M. marinum*

En este caso, los resultados de la quimioterapia han sido difíciles de evaluar, ya que según la literatura, cerca del 80% de las lesiones no tratadas sanan espontáneamente en un período de 24 a 36 meses, sobre todo cuando la enfermedad es limitada. Además, con el factor adicional de que las lesiones no son molestas, hay investigadores que encuentran raramente justificable el uso de agentes tóxicos en el tratamiento de éstas. Sin embargo, hay lesiones que persisten por muchos años (5).

La mayoría de los resultados mencionados coinciden con los estudios de susceptibilidad *in vitro*, en la resistencia de *M. marinum* a isoniacida, PAS, capromicina, estreptomina, tiosemicarbazona, cicloserina, neomicina, penicilina, cloramfenicol, oxitetraciclina y tetraciclina (7, 15, 38, 50, 122).

Así, también hay coincidencia en los resultados de sensibilidad *in vitro* de *M. marinum* a etionamida, etambutol, rifampicina, protionamida, viomicina, kanamicina, trimetoprim, sulfametoxazol, amikacina, vancomicina, doxiciclina, minociclina y tetraciclina. En este caso la mayoría de las drogas se han probado con éxito *in vivo* (2, 5, 38, 50, 105). Amikacina y kanamicina se mencionan como las más activas contra el microorganismo, pero no hay resultados de su efectividad *in vivo* (105, 122).

Se han mencionado tratamientos exitosos con una sola droga, como cicloserina (15) o cotrimexazol la cual se había mencionado como ineficaz contra *Mycobacteria*, pero en este caso se logró curación luego de 6 semanas, con una duración total del tratamiento de 5 meses (6). Se ha descrito el tratamiento con minociclina como droga única, lleva a una rápida

curación de las enfermedades administrándose a bajos niveles, la curación se logra de 8 a 16 semanas, sin observarse recurrencias. Se recomienda su administración de 12 a 14 meses dependiendo de la extensión de la lesión (15, 57, 80, 81, 123).

Otras drogas usadas como únicas en el tratamiento son, la doxiciclina que es la más aceptada clínicamente pues no se han observado efectos colaterales, ni resistencia a ésta por *M. marinum* (122, 133) y la tetraciclina, la cual no se recomienda para menores de 11 años pues mancha los dientes (15, 68, 96, 106, 133). En el tratamiento con una única droga se debe tener mucho cuidado, pues se puede manifestar resistencia a ésta de parte del agente causal.

En casos refractarios, la combinación de drogas es el tratamiento recomendable. Una de las combinaciones más recomendadas es etambutol y rifampicina con la cual se logra en algunos pacientes curación completa en 3 meses, el tratamiento debe continuar únicamente con rifampicina por 4 meses más. Esta combinación es efectiva en pruebas de susceptibilidad *in vitro*, se ha recomendado también para enfermedades esporotricoides, en este caso el tratamiento se administra durante 2 años (7, 38, 42, 50). Se han usado combinaciones de isoniacida, rifampicina y etambutol (57), isoniacida y PAS (13) aún cuando se ha considerado la resistencia *in vitro* de *M. marinum* a estas dos últimas drogas, como una característica del microorganismo (42).

Otra combinación recomendada es trimetoprim y sulfametoxazol que en corto tiempo llevan a una curación completa de la enfermedad (63, 71, 133). Se recomiendan también minociclina, doxiciclina y tetraciclina en combinación, debiendo administrarse de 12 a 14 meses dependiendo de la extensión de la infección (5).

Cuando las lesiones son limitadas o están en etapas primarias, o no se ha tenido éxito con agentes quimioterápicos, se recomiendan otras formas de terapia como son, calor local, electrodesecación, terapia con rayos X, crioterapia con nitrógeno líquido, incisión y drenaje, extirpación e injerto de piel, inyección intralesional de esteroides o de tetraciclina, irradiación ultravioleta (5, 13, 129). Si estos métodos no se llevan a cabo como es debido, se tiene el peligro de ocasionar diseminación de la enfermedad.

Enfermedad cutánea debida a *M. fortuitum*

El asentamiento de métodos de tratamiento para esta enfermedad es complicado por la tendencia de muchas enfermedades de la piel a resolverse espontáneamente sin tratamiento, o sólo con debridamiento quirúrgico o drenaje. Es difícil la quimioterapia, pues *M. fortuitum* es resistente *in vitro* a todas las drogas antituberculosas primarias y a la mayoría de las secundarias. Debido a esto se recomienda, cuando es posible, excisión quirúrgica y combinaciones empíricas de agentes antimicrobianos, sobre todo en enfermedad crónica progresiva. Las combinaciones empíricas se han hecho con oxacilina, kanamicina, isoniacida y rifampicina; etambutol y PAS; y combinaciones múltiples de hasta 4 ó 6 de estos agentes antituberculosos, pero ninguna combinación ha sido uniformemente exitosa (5, 26, 104).

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* para *M. fortuitum* dan como resultado que este microorganismo es sensible a amikacina, doxiciclina, gentamicina, tetraciclina, tobramicina. El resultado de algunos estudios de susceptibilidad *in vitro* de este agente causal frente a 21 agentes antituberculosos y antimicrobianos, indican que la amikacina inhibe a la

mayoría de las cepas estudiadas dentro del rango de concentraciones clínicamente aceptables, por lo que se recomienda como el tratamiento de elección, *in vivo* se han obtenido resultados exitosos en el tratamiento de varios pacientes. Se recomienda también sea combinada con doxiciclina (23, 25, 26, 27, 104).

Otros estudios de susceptibilidad *in vitro* de *M. fortuitum* a sulfonamidas, indican que es útil el uso de trimetoprim, sulfametoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol a las cuales es sensible el microorganismo (128).

La duración apropiada de la terapia se desconoce, pero puede guiarse por la respuesta clínica y evidencias de toxicidad de las drogas o droga administrada.

Enfermedad cutánea debida a *M. chelonae*

Los intentos de tratamiento de esta enfermedad, también han sido difíciles, ya que la resistencia del microorganismo a la mayoría de las drogas antituberculosas estándares es bien conocida. Se han mencionado con frecuencia casos de resolución espontánea del padecimiento en pocos meses, casos que persisten por más de dos años si no son tratados, pero también hay casos esporádicos de micobacterias diseminadas fatales, resistentes a todo tratamiento antimicrobiano y antituberculoso.

Para lesiones pequeñas aisladas, y en caso de microorganismos resistentes a la quimioterapia, hay métodos que juegan un papel terapéutico muy importante, como puede ser debridamiento, incisión y drenaje, excisión (5, 54, 121). Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* para *M. chelonae*, indican resistencia del microorganismo a isoniazida, estreptomina, viomicina, etambutol, PAS, cicloserina, rifampicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, cotrimoxazol y tetraciclina.

En esta enfermedad se ha mostrado que la combinación de drogas puede ser de gran valor cuando en forma individual no lo son. Así, tenemos varios casos de pacientes tratados exitosamente con una combinación de eritromicina y estreptomina con la cual se llega a la resolución de la lesión en 3 meses, continuando el tratamiento sólo con eritromicina por un año, no se presentaron recurrencias. Otras combinaciones efectivas son eritromicina y cotrimoxazol (69), eritromicina y rifampicina (121), eritromicina y etionamida; estreptomina, pirazinamida e isoniazida (5, 134), doxiciclina y amikacina (23), isoniazida, rifampicina y etambutol (1).

También se reporta una sensibilidad variable de este microorganismo a las sulfonamidas como trimetoprim, sulfametoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol (128) y a minociclina administrada como droga única (44).

Enfermedad cutánea debida a *M. avium* y *M. intracellulare*

La institución del tratamiento adecuado para estas lesiones no está clara, debido a que las cepas de estos microorganismos son virtualmente resistentes a la mayoría de las drogas antituberculosas. Se ha tenido éxito con el tratamiento de drenaje quirúrgico o debridamiento combinado con amikacina. A veces la excisión de la lesión es suficiente (16, 128).

Se han mencionado casos de tratamientos efectivos con regímenes múltiples usando combinaciones de 3 hasta 6 drogas, como la triple combinación con rifampicina, kanamicina y etionamida o rifampicina, kanamicina y etambutol (78), etambutol, etionamida y cicloserina (37). Se han usado con buenos resultados combinaciones de 4 drogas como son isoniazida, etambutol, estreptomina y cicloserina o etionamida (18).

En el National Jewish Hospital de Denver en Estados Unidos se lleva a la práctica el tratamiento con regímenes múltiples de 5 ó 6 drogas, con excelentes resultados. Es obvio que se deben buscar drogas más efectivas y menos tóxicas para que el tratamiento múltiple sea posible, es recomendable se siga el tratamiento con constante vigilancia médica (33).

Enfermedad cutánea debida a *M. ulcerans*

Cuando se reconoce la enfermedad en etapas tempranas, una excisión quirúrgica es curativa. El tratamiento de enfermedades más avanzadas requiere debridamiento e injerto de piel.

La resistencia de *M. ulcerans* a la quimioterapia es común, pero una combinación de rifampicina y calor aplicado continuamente en la úlcera llevan a la curación. La vacunación con BCG se ha descrito por promover protección contra esta infección (135). Se recomienda tratamiento de largo tiempo con una combinación de estreptomycin y rifampicina, combinada con calor local y cirugía (133).

Enfermedad cutánea debida a *M. kansasii*

Afortunadamente el tratamiento para esta enfermedad puede ser fácilmente instituido debido a que de las *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*, ésta es la más sensible a drogas antituberculosas, aunque menos sensible a ellas que el bacilo tuberculoso. La quimioterapia combinada se recomienda para este padecimiento, debe ser larga e ininterrumpida, con combinaciones de gentamicina y metaciclina (9), así como otras más de isoniacida, estreptomycin, PAS, etambutol, cicloserina, etionamida, rifampicina y viomicina (46, 60).

Generalmente este microorganismo ocasiona enfermedad en pacientes con tratamientos inmunosupresores como puede ser prednisona o azotioiprina o ambos, una de las primeras medidas a tomar en estos casos es administrar dosis más bajas del medicamento inmunosupresor, si es posible retirarlo por un tiempo y al mismo tiempo instituir la terapia antituberculosa que generalmente es una combinación de drogas (60).

Un estudio de susceptibilidad *in vivo* e *in vitro* para *M. kansasii* a varias drogas, dio como resultado un tratamiento de triple combinación de drogas que incluye rifampicina, uno de los 3 aminoglucósidos (estreptomomicina, kanamicina o viomicina), etionamida o etambutol (78). También se ha recomendado el tratamiento quirúrgico o debridamiento combinado con amikacina (128).

Enfermedad cutánea debida a *M. bovis*

Aunque es rara esta enfermedad en el hombre, se ha presentado como consecuencia de vacunación con BCG y en pacientes con tratamiento inmunosupresor. Así se menciona el caso de un paciente tratado con prednisona, la cual fue descontinuada y se observó resolución espontánea, para asegurar la curación se le administró un régimen de isoniacida y etambutol (66). En enfermedad causada por vacunación con BCG se recomienda el tratamiento con hidrocioruro de hidroxizina y la aplicación tópica de crema de triamcinolona al 0.1% (83, 123).

Enfermedad cutánea debida a *M. szulgai*

Son pocos los reportes de tratamiento que hay para esta enfermedad, pero se sabe que este microorganismo muestra un gran grado de susceptibilidad a varias drogas antituberculosas, como lo confirman las pruebas de

susceptibilidad *in vitro*, donde se encontró que es sensible a estreptomina, etambutol y rifampicina y parcialmente sensible a isoniacida y PAS (120).

V. RESUMEN Y COMENTARIOS

La idea común más difundida sobre la tuberculosis, es que esta enfermedad se manifiesta en diferentes órganos del cuerpo. Sin embargo, no se ha considerado la importancia de su manifestación en la piel y esto se debe a que es poco frecuente en comparación con las de otros órganos.

La tuberculosis cutánea, es producida fundamentalmente por *M. tuberculosis* var. *hominis* y *M. tuberculosis* var. *bovis*, no obstante en las investigaciones más recientes se han encontrado como agentes etiológicos de esta enfermedad a: *M. tuberculosis* var. *avium*, *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. intracellulare*, *M. ulcerans*, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum* y *M. szulgai*. Cabe mencionar que si bien hay un alto porcentaje de infección con *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso, por fortuna poseen baja patogenicidad y que aún cuando un gran número de miembros de nuestra comunidad han sido infectados alguna vez en su vida, muchos no desarrollan enfermedad clínica.

La micobacteriosis cutánea tiene una gran variedad de expresiones clínicas y puede presentarse como placas, úlceras, abscesos lesiones verrugosas, nódulos, tumores papilomatosos, reacciones vegetativas e infiltrados cicatriciales.

En México, se sabe de la tuberculosis cutánea desde antes de la conquista y fue Bayle el primero en descubrir que la tuberculosis no se limita a los pulmones, sino que puede afectar cualquier entidad del cuerpo. La enfermedad cutánea estuvo postergada por muchos años hasta que Waksman en 1944, descubrió la estreptomycin y la puso en práctica en la curación

de la tuberculosis.

En nuestro país se le empezó a dar importancia en 1940 debido al llamado de atención del profesor Richard Volk de Viena y en 1947, Latapí propone la clasificación que sigue a la fecha la Escuela Mexicana de Dermatología.

No fue hasta 1948 que se empezó a identificar a *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis* como agentes etiológicos de micobacteriosis cutánea.

En cuanto a la frecuencia a nivel mundial de la tuberculosis de la piel, se puede afirmar que las dos formas clínicas más frecuentes son el lupus vulgar y la tuberculosis colicuativa.

En relación a la entidad clínica que se presenta con más frecuencia en un sexo que en otro, se puede decir que el lupus vulgar es dos veces más común en la mujer, mientras que la tuberculosis verrugosa es más a menudo encontrada en los hombres. Las referencias bibliográficas denotan la evidencia de que esta enfermedad muestra predisposiciones raciales, aunque no explican la causalidad de dichas presentaciones.

En México la edad en que se presenta con mayor frecuencia la enfermedad oscila entre 11 y 30 años, aunque la mayoría de los estudios nos revelan que a nivel mundial, la enfermedad se presenta comúnmente alrededor de los 20 años.

La clasificación de *Mycobacteria* sin duda más utilizada en la clínica, es la de Runyon, que no incluye *M. tuberculosis*, *M. bovis* y algunas *Mycobacteria* patógenas de nuevo descubrimiento, ésta está basada en las características de cultivo de los microorganismos, su morfología, producción de pigmentos en presencia de la luz o en la obscuridad, para los

comités internacionales, estos criterios son inconstantes, por lo que se han hecho esfuerzos para llegar a una clasificación más exacta. La clasificación aceptada por el Comité en Bacteriología e Inmunología de la Unión Internacional de Lucha contra la Tuberculosis, ha aceptado una clasificación en donde se incluyen los patógenos estrictos o potenciales y los patógenos ocasionales o no patógenos.

La patogenicidad de las *Mycobacteria* está relacionada con su virulencia, el tamaño del inóculo, sin dejar de tomar en cuenta la resistencia del huésped que ayuda o no a la institución de la enfermedad, así como también son importantes los factores de resistencia del bacilo para su patogenicidad.

El tipo de manifestación clínica de la enfermedad está íntimamente relacionado con el número de bacilos encontrados en la piel, su virulencia y modo de introducción en la piel.

A nivel mundial no existe una clasificación clínica satisfactoria de la tuberculosis cutánea. Las clasificaciones más recientes se basan en criterios inmunológicos, morfológicos, histológicos, sobre el modo de infección o una amalgama empírica de éstos, pero aún se encuentran inconvenientes en las nuevas clasificaciones.

Sin embargo, la clasificación que proponen Latapí, Escalona y Estrada en 1947, sigue vigente a la fecha tanto en México como en algunos países de América Latina, en ésta se señalan dos modalidades de la enfermedad, primoinfección y reinfección, las de reinfección se dividen en dos grupos: las formas crónicas, evolutivas y habitadas y las formas recidivantes, hematógenas, no habitadas, tratando por separado los cuadros clínicos ocasionados por *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso.

En 1981, Beyt, E. toma en cuenta la necesidad de una clasificación de la tuberculosis cutánea que incluya las entidades clínicas ocasionadas por *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso, agrupando las enfermedades bajo el término de micobacteriosis cutáneas.

Si bien es cierto que se han realizado amplios estudios sobre la tuberculosis cutánea, la realidad es que su diagnóstico es difícil, dado su polimorfismo lesional. Dificultad que se aumenta por el hecho de que las *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso causan lesiones idénticas a las causadas por él.

El diagnóstico temprano es esencial, así esto no sólo acorta el período contagioso, sino que también minimiza la formación de cicatrices después de la terapia.

El diagnóstico se lleva a cabo comúnmente por eliminación disponiendo además de la demostración e identificación de las *Mycobacteria*, de otros métodos de diagnóstico denominados "criterios de presunción", como son: pruebas cutáneas diferenciales, estudio histopatológico, estudio completo del paciente y prueba terapéutica.

Cabe mencionar que la aplicación de los métodos de diagnóstico antes mencionados se llevan a cabo de acuerdo a los recursos de laboratorio disponibles.

Para el tratamiento de la tuberculosis cutánea, la quimioterapia da la respuesta más adecuada, ya que a partir de ésta la tuberculosis cutánea puede curar en más de un 95%.

Mycobacteria diferentes de *M. tuberculosis* pueden dividirse en 2 grupos principales con respecto a su susceptibilidad a agentes antimicrobianos. *M. kansasii* y *M. xenopi* son sensibles a varias drogas, pero - -

M. marinum, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. fortuitum* y *M. chelonae*, son múltiple resistentes a las drogas primarias sobre todo, recomendando para su tratamiento un régimen múltiple de drogas.

La micobacteriosis cutánea asociada a enfermedad micobacteriana de los órganos internos exige un plan terapéutico multidisciplinario bien coordinado.

VI. CONCLUSIONES

1. La incidencia de la tuberculosis cutánea ha mostrado una disminución constante durante las últimas 5 ó 6 décadas, debido a la implantación de medidas terapéuticas específicas, así como al mejoramiento de técnicas de identificación del bacilo.

2. La incidencia de micobacteriosis cutáneas causadas por *Mycobacte*ria diferentes del bacilo tuberculoso ha ido en aumento, como lo mues

3. A pesar de que la distribución de las micobacteriosis y tubercu^losis es mundial, en América Latina se presenta con más frecuencia, siendo los factores determinantes la mala nutrición y la situación socioeconómica.

4. De las clasificaciones de *Mycobacteria* existentes, la más adecuada para su uso en la clínica es la aceptada por el Comité de Bacteriología e Inmunología de la Unión Internacional de Lucha contra la Tuberculosis, ya que es la única que contempla tanto los microorganismos patógenos estrictos o potenciales, así como los patógenos ocasionales o no patógenos.

5. El método de protección de mayor valor, hasta la fecha para individuos expuestos o probablemente expuestos a la infección tuberculosa, continúa siendo el de la vacunación con el bacilo de Calmétte Guérin. Aunque hay que indicar que se han reportado en su aplicación efectos colaterales.

6. A pesar de la coincidencia de los investigadores en señalar a la vacuna BCG como una inmunoterapia de la neoplasia maligna, la utilidad de ésta no se ha llegado a valorar perfectamente, para su uso generalizado en inmunoterapia.

7. Aún cuando la clasificación de micobacteriosis y tuberculosis cutánea de *Beyt B.E., et al* es la más adecuada por abarcar entidades causadas por *M. tuberculosis*, así como por *Mycobacteria* diferentes de éste, en México y en algunos países de América Latina se sigue utilizando la clasificación de *Latapí, et al*, aunque ésta no incluye las micobacteriosis cutáneas.

8. No existe un método único para el diagnóstico de las micobacteriosis y tuberculosis cutáneas, ya que la demostración de *Mycobacteria* que es el elemento confirmatorio, no siempre es posible. Siendo el diagnóstico diferencial frente a otras enfermedades cutáneas de importancia.

9. El tratamiento más apropiado para la tuberculosis cutánea es la quimioterapia, siempre y cuando éste se aplique adecuadamente y en periodos tempranos de la enfermedad, llegando a tener una eficacia del 95%.

10. El tratamiento para las micobacteriosis cutáneas debidas a *Mycobacteria* diferentes del bacilo tuberculoso es de resultados diferentes e inconstantes, por lo cual debe basarse individualmente en encuentros clínicos de la enfermedad.

11. Finalmente, quisiera subrayar que a pesar de la gran incidencia que las micobacteriosis y tuberculosis cutáneas tienen en nuestro país, éstas no han sido estudiadas con la profundidad y extensión que ameritan, siendo notable el poco interés que se ha mostrado en su investigación.

VII. APENDICES

Apéndice A

Medios de cultivo utilizados en el aislamiento de *Mycobacteria*

1. Medio de Lowenstein-Jensen

Fórmula: (en gramos por 600 ml de agua destilada)

Fosfato monopotásico	2.5
Sulfato de magnesio	0.24
Citrato de magnesio	0.60
Asparagina	3.00
Harina de papa	30.00
Verde de malaquita	0.40
Huevo íntegro	1.0 litro

Preparación. Suspender 37.3 g del material seco en 600 ml de agua destilada con 22 ml de glicerina (no agregar glicerina si se van a cultivar bacilos bovinos u otros microorganismos glicérofobos). Se calienta agitando constantemente y se hierve durante un minuto aproximadamente. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se enfría a 50°C más o menos.

En tanto, se prepara un litro de huevo íntegro, obtenido asépticamente y mezclado sin introducir burbujas de aire. Se mezcla el huevo y la base suavemente hasta su uniformidad. Se distribuye en recipientes esterilizados adecuados, tales como tubos con tapa de rosca. Se colocan los tubos en posición inclinada, se coagulan y espesan de 85 a 90°C durante 45 - -

minutos (101).

2. Agar con ácido oleico de Dubos

Fórmula: (en gramos por litro de agua destilada)

Peptona tripticasa	0.05
Asparagina	1.00
Fosfato monopotásico	1.00
Fosfato disódico	2.50
Citrato de amonio férrico	0.05
Sulfato de magnesio	0.01
Agar	15.00
Cloruro de calcio	0.05 mg
Sulfato de zinc	0.10 mg
Sulfato de cobre	0.10 mg
pH final	6.6

Preparación. Se suspenden 4 g del material deshidratado en 180 ml de agua destilada. Se calienta agitando e hirviendo durante un minuto. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se enfría a 50°C y se agrega el enriquecedor si es necesario. Los enriquecedores que se pueden emplear son:

a) Solución de albúmina. Se disuelven 5 g de la fracción V del plasma bovino en 100 ml de solución salina al 0.85%, se filtra y se calienta a 50°C y de ella se agregan asépticamente 20 ml a 180 ml de la base de agar.

b) Complejo ácido oleico-albúmina. Se disuelven 0.12 ml de ácido oleico en 10 ml de NaOH N/20. De esta solución se agregan 5 ml a 95 ml de una solución salina de la fracción V de albúmina (solución anterior). La mezcla

se calienta a 55°C, durante 30 minutos y se esteriliza por filtración. De esta solución se agregan asépticamente 20 ml a 180 ml de la base de agar.

c) Suero estéril. En un lugar de la albúmina se pueden agregar 20 ml de suero estéril calentando a 50°C.

d) Ester polisorbato. Se añade a la base de agar antes de esterilizar en autoclave, en una concentración de 0.5 a 0.1%.

e) Penicilina. Para aislar al bacilo tuberculoso se añaden de 5,000 a 10,000 unidades de penicilina a cada 200 ml de medio en forma aséptica.

f) Glicerina. Antes de esterilizar la base se le puede añadir de 1.0 a 5.0% de glicerina o 1.0% de glucosa.

g) Carbón vegetal. Para hacer el medio estable, a cada litro de la formulación dada se le añade antes de esterilizar, 1 g de carbón vegetal (norita) y 25 ml de una solución de colesterol al 1% en acetona junto con 1% de glicerina (101).

3. Caldo de Middlebrook 7H9

Fórmula: (en gramos por 900 ml de agua destilada)

Fosfato monopotásico	1.000
Fosfato disódico	2.500
Acido L-glutámico	0.500
Citrato de sodio	0.100
Sulfato de amonio	0.500
Piridoxina	0.001
Citrato de hierro y amonio	0.040
Sulfato de magnesio	0.050

Sulfato de zinc	0.001
Sulfato de cobre	0.001
Biotina	0.500 mg
Cloruro de calcio	0.500
pH final 6.6	

Preparación. Disolver 4.7 g del material deshidratado en 900 ml de agua destilada, conteniendo dos ml de glicerina y 2 g de dextrosa si se desea. No se añaden ambos. Para obtener un medio sólido se añaden 15 g de agar y también 1 mg de verde de malaquita, si el medio va a usarse para el cultivo de material clínico. Se distribuye en porciones de 180 ml y se esteriliza en autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

Se enfría a 45°C y se añaden 20 ml de enriquecimiento ADC, o algún otro complemento conforme sea necesario (101).

4. Agar de Middlebrook y Cohn 7H10

Fórmula: (en gramos por 900 ml de agua destilada)

Sulfato de magnesio	0.050
Citrato de hierro y amonio	0.040
Citrato de sodio	0.400
Sulfato de amonio	0.500
Glutamato monosódico	0.500
Fosfato de sodio	1.500
Fosfato monopotásico	1.500
Agar desecado	13.500
Piridoxina	0.001
Sulfato de zinc	0.001
Sulfato de cobre	0.001

Biotina	0.500 mg
Cloruro de calcio	0.500
Verde de malaquita	0.250
pH final	6.6

Preparación. Se pesan 18 g del material deshidratado y se vierten en 900 ml de agua destilada con 5 ml de glicerina. Si se van a desarrollar cultivos glicerofóbicos, se omite la glicerina. Se agita circularmente el recipiente, para obtener una suspensión uniforme. Se distribuye en porciones de 180 ml y sin hervir, se esteriliza a 121°C durante 10 minutos. Se enfría a unos 50°C, se añade asépticamente 20 ml de dextrosa al 50% a cada 180 ml de base líquida y agitar circularmente el recipiente para que se mezcle. Se distribuye asépticamente en tubos esterilizados con tapa de rosca para obtener cultivos inclinados, o en placas esterilizadas.

También se pueden añadir 4 ml de dextrosa al 50%, 100 ml de complejo albúmina oleico (Dubos) y 3 ml de solución de catalasa de 1 mg/ml. Los cultivos se incuban a 35°C en atmósfera de CO₂ (101).

Apéndice B

Procedimientos de laboratorio utilizados en el diagnóstico

1. Colección y manejo de especímenes clínicos

Tejidos. Colectar el espécimen asépticamente y colocarlo en un recipiente apropiado. No es adecuado añadir fijadores ni conservadores, tales como formol.

Si el espécimen tiene que ser transportado hasta un laboratorio o centro de diagnóstico, es preferible mantenerlo congelado.

Pus. El pus de abscesos, empiemas y adenitis debe ser enviado directamente al laboratorio.

Si se requiere de otros especímenes clínicos, como esputo, orina, líquido cerebroespinal o fluido de cavidades serosas por sospecharse de tuberculosis en otros órganos, se debe hacer la colección y manejo en forma adecuada (14).

2. Procedimiento de laboratorio para microscopía

Preparación de frotis

Para realizar un frotis directo, se toma de las partes más gruesas del material caseoso y de la parte más densa del material purulento, debido a que en estas zonas es más común encontrar *Mycobacteria*.

El material se esparce a través de portaobjetos, tratando de dejar una capa gruesa (frotis grueso). Los portaobjetos utilizados deben ser nuevos ya que los usados anteriormente pueden tener bacterias ácido-alcohol resistentes.

Para realizar frotis por concentración, el sedimento de un espécimen homogenizado, se coloca por medio de una pipeta o asa en el centro del portaobjetos extendiéndose y dejando una capa gruesa del material.

Para fijar el frotis se calienta sobre la flama de un mechero, pasándolo tres veces sobre el cono más caliente de la flama; un procedimiento alternativo puede ser el calentar los frotis sobre una platina caliente por 2 horas a 65-70°C.

Procedimiento de teñido

Tinción de Ziehl-Neelsen

Reactivos. Carbolfuchsin: Se disuelven 0.3 g de fuchsin básica (magenta) en 10 ml de etanol al 90%, añadiéndose una solución acuosa de fenol al 5%.

Alcohol-ácido. Lentamente se añaden 3 ml de ácido clorhídrico concentrado, a 97 ml de etanol al 90-95%.

Colorante de contraste. Se disuelven 0.3 g de cloruro de azul de metileno en 100 ml de agua destilada.

Procedimiento. Se cubre el frotis fijado por calor, con un pequeño rectángulo de papel filtro (2.0 x 3.0 cm).

Se aplican aproximadamente 5 gotas de carbolfuchsin de manera de cubrir totalmente el papel filtro.

Se calienta a vapor por 5 minutos tratando de que el frotis no se seque y si se seca, aplicar más colorante.

Remover el papel con pinzas. Lavar el frotis con agua hasta eliminar el colorante.

Decolorar con alcohol-ácido hasta que no salga más colorante en los lavados.

Contrastar con azul de metileno (1-2 minutos).

Secar al aire, no calentar.

Procedimiento de Kinyoun

Reactivos. Carbolfuchsin de Kinyoun: Se disuelven 4 g de fuchsin básica (magenta) en 20 ml de etanol al 90-95% y se añaden 100 ml de una solución acuosa de fenol al 9%.

El alcohol-ácido y el azul de metileno se preparan como en la tinción de Ziehl-Neelsen.

El procedimiento es el indicado en la técnica de Ziehl-Neelsen pero no hay calentamiento y la carbolfuchsin se aplica a los 5 minutos.

Tinción fluorescente con Auramina

Reactivos. Auramina fenolada: Se disuelve 0.1 g de auramina O en 100 ml de etanol al 90-95% y se añade una solución de 3 g de fenol en 87 ml de agua destilada. La solución debe conservarse en frasco ámbar. Alcohol-ácido: Se añaden 0.5 ml de ácido clorhídrico a 100 ml de etanol al 70%. Solución de permanganato de potasio: Disolver 0.5 g de permanganato de potasio en 100 ml de agua destilada.

Procedimiento. Cubrir el frotis previamente fijado con calor con carbo-auramina y teñir durante 15 minutos. No usar papel filtro ni calor.

Lavar con agua y secar.

Contrastar con permanganato de potasio por 2 minutos.

Lavar y secar al aire. No calentar.

El permanganato de potasio no es un verdadero colorante de contraste, pero evita la fluorescencia del fondo.

Tinción con Auramina O-Anaranjado de Acridina fluorescente para bacilos ácido resistentes

Reactivos. Auramina fenolada, se prepara de la manera indicada.

Colorante de contraste: 0.01 g de anaranjado de acridina en 100 ml de una solución acuosa al 1% de Na_2HPO_4 (fosfato anhidro dibásico de sodio).

Procedimiento. Se procede igual que la tinción anterior únicamente que el anaranjado de acridina sustituye al permanganato de potasio. El anaranjado de acridina imparte al fondo una fluorescencia de color roja a naranja.

Examen de los frotis

Al examinar los frotis teñidos con carbolfuchsin en un microscopio de luz transmitida con objetivo de inmersión (100X), los bacilos están teñidos de rojo y el fondo de azul.

En un microscopio de fluorescencia, los frotis teñidos con Auramina O muestran a los bacilos dorados o de un color amarillo brillante, siendo el fondo negro. Es necesario utilizar portaobjetos de vidrio fluorescente.

Clasificación de los frotis

La asociación Nacional de Tuberculosis de los Estados Unidos (32) recomienda la siguiente clasificación.

No. de bacilos

0	No se encontraron bacilos ácido alcohol resistentes.
1-2 en todo el frotis	Se reporta el número y se repite el estudio.
3-9 en todo el frotis	Escasos o +.
10 ó más en todo el frotis	Pocos o ++.
1 ó más por campos	Numerosos o +++.

3. Procedimiento de laboratorio para el aislamiento

Homogenización y descontaminación de las muestras

Procedimiento con N acetil-L cisteína e hidróxido de sodio (32).

Material. Tubos de centrifuga estériles de 50 ml con tapón de rosca.

Pipetas estériles: capilares de 1 y 10 ml

Portaobjetos

Centrifuga

Medios de cultivo

2 ó 4 Lowenstein-Jensen para cada espécimen

2 de 7H10 agar para cada espécimen

Reactivos. Solución digestante y descontaminante de N-acetil-L cisteína e hidróxido de sodio. Para preparar 100 ml de solución se mezclan las siguientes sustancias:

50 ml de NaOH al 4% (1.0 N)

50 ml de citrato de sodio al 2.9% (0.1 N)

0.5 g de N acetil-L cisteína en polvo

La solución debe usarse dentro de las 24 horas siguientes a su preparación. Se puede utilizar para el siguiente día siempre que se conserve

en un frasco bien cerrado y en refrigeración. La primera y segunda soluciones se esterilizan en autoclave.

Agua destilada estéril o amortiguadora de fosfatos, pH 6.8

Solución estéril de albúmina bovina al 2%, pH 6.8

Tubos con tapón de rosca y agua destilada estéril, aproximadamente 4.5 ml en cada uno

Procedimiento:

a) Transferir el espécimen a un tubo de centrifuga. El volumen del espécimen no debe ser mayor de 1/5 del volumen total del tubo de centrifuga (10 ml del espécimen para un tubo de 50 ml).

Si el espécimen es tejido de biopsias, especímenes quirúrgicos o autopsias, se trituran en mortero estéril con solución salina estéril o albúmina bovina estéril, antes de transferirlo al tubo de centrifuga. Recordar que si se tiene la certeza absoluta de que el espécimen no está contaminado, el sedimento puede inocularse directamente sobre la superficie de los medios.

b) Se añade un volumen equivalente del agente digestante y descontaminante.

c) Se cierra perfectamente el tubo de centrifuga y se mezcla en un Vortex durante 5 a 20 segundos.

d) Se deja reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

e) Llenar el tubo hasta la mitad con agua destilada estéril o amortiguadora de fosfatos pH 6.8.

f) Centrifugar a 3,000 rpm por 15 minutos.

g). Desechar el sobrante en un frasco conteniendo desinfectante.

h) Añadir 1 ó 2 ml de una solución al 2% de albúmina bovina o agua destilada estéril al sedimento. Agitar para mezclar. Este constituye el sedimento S_1 sin diluir.

i) Tomar 0.5 ml de S_1 y añadir 4.5 ml de agua destilada. Esta dilución 1/10 es S_2 .

j) Inocular 2 gotas de S_1 y S_2 sobre la superficie de un medio de L-J (un tubo para cada espécimen) y sobre la superficie de un medio 7H10 (un tubo para cada dilución).

k) Del sedimento S_1 se prepara un frotis.

Método del fosfato trisódico-Zephiran (32)

Reactivos.

Solución digestante; añadir 7.4 ml de Zephiran a 4 lt de agua destilada caliente conteniendo 1 kg de fosfato trisódico ($Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$).

Amortiguador de fosfatos estéril 1/15 M, pH 6.6.

Procedimiento:

a) Mezclar volúmenes iguales de sustancia digestante y del espécimen.

b) Centrifugar a 3,000 rpm por 20 minutos.

c) Descartar el sobrenadante.

d) Suspender el sedimento en 10 a 20 ml de amortiguador de fosfatos estéril.

e) Centrifugar y descartar el sobrenadante.

f) Inocular el sedimento en los medios apropiados.

4. Incubación de los cultivos

Temperatura

Incubar todos los cultivos a 35-37°C. Los cultivos de lesiones de la piel deben también incubarse a 30-33°C ya que *M. marinum* y *M. ulcerans* no desarrollan a 37°C en los aislamientos primarios.

Atmósfera

Incubar en atmósfera de CO₂ al 5-10%. En los medios de cultivo en tubo, los tapones deben quedar flojos durante la primera semana de incubación, para permitir la entrada de aire, posteriormente deben ser apretados. Para que los medios de cultivo en caja no se deshidraten, algunos autores recomiendan el uso de bolsas de plástico permeable que posteriormente se sellan, al colocar la caja de Petri. Otros recomiendan invertir las cajas por 2 ó 3 días de manera que el medio se rehidrata con el agua de condensación acumulada en las tapas.

5. Tiempo de incubación

La mayoría de las especies patógenas para el hombre desarrollan en medios de cultivo apropiados entre 3 a 4 semanas de incubación, *M. ulcerans* puede requerir 3 ó más meses de incubación a 30-33°C. Cuando se sospecha de tuberculosis, el resultado no se debe reportar negativo hasta el final de la sexta semana de incubación.

6. Inoculación en animales de laboratorio

Inoculación al cobayo

Para el diagnóstico de las micobacteriosis, el animal de elección es

el cobayo. El sedimento (1-2 ml) de un espécimen centrifugado y neutralizado por alguno de los procedimientos de digestión y descontaminación, se inocula subcutáneamente a nivel de la ingle derecha del animal.

El sitio de inoculación debe limpiarse con fenol al 2%.

El diagnóstico se basa en los hallazgos de la necropsia, la distribución y apariencia de las lesiones en los nódulos linfáticos, hígado, bazo y pulmones y la demostración de bacilos ácido-alcohol resistentes en frotis de los órganos dañados. Las pruebas cutáneas diferenciales son muy útiles en el diagnóstico y es preferible hacerlas en el cobayo.

Inoculación al conejo

En el Center for Disease Control (32) utilizan una suspensión salina conteniendo 0.01 mg del bacilo el cual se inocula intravenosamente en la vena marginal de la oreja del conejo. Generalmente los animales inoculados con *M. bovis* mueren después de 8 a 10 semanas, pero un inóculo con *M. tuberculosis* nunca mata al conejo.

7. Determinación de la temperatura óptima de aislamiento y rango de crecimiento

Material. Se requieren cajas Petri.

Reactivos. Cultivo en caldo 7H9 con Tween 80 del microorganismo aislado.

Procedimiento. Sembrar la superficie de un medio sólido con un inóculo suficientemente diluido para obtener colonias aisladas. Los cultivos se incuban a 24, 32, 37 y 45°C y se leen 5 a 7 días después de la siembra y luego en intervalos semanales (32).

Interpretación. Se observan colonias de *Mycobacteria* de rápido crecimiento en menos de una semana, cuando se incuban a 24 y 37°C. Si hay crecimiento también a 45°C, la cepa no puede ser *M. fortuitum*, y se recomienda hacer inmediatamente la prueba de arilsulfatasa y prueba de utilización de hierro.

Cuando se observan colonias de *Mycobacteria* de lento crecimiento en 2 ó más semanas incubadas a 1) 37°C y no hay crecimiento a 24 ó 45°C, la cepa podría ser *M. bovis* o *M. tuberculosis*. 2) Si hay crecimiento a 37 y 45°C y no a 24°C se puede sospechar de *M. xenopi* y *M. avium*. 3) Si hay crecimiento a 37°C, muy lento a 24°C y no lo hay a 45°C se puede tratar de *M. kansasii*. 4) Crecimiento a 32 y 24°C en dos semanas, muy lento o negativo a 37°C se puede sospechar de *M. marinum*. 5) Crecimiento a 32°C en más de 3 semanas, negativo a 24 y 37°C posiblemente se trata de *M. ulcerans*.

8. Determinación de fotorreactividad de *Mycobacteria*

Material. 3 tubos de 16 x 125 mm

Reactivos. Medio de cultivo no inhibitorio para *Mycobacteria*. El medio de L-J es útil para determinar la fotorreactividad. Se requieren cultivos en caldo del microorganismo a identificar.

Procedimiento. Se siembra un inóculo del cultivo en caldo suficientemente diluido para obtener colonias aisladas en 3 tubos de cultivo L-J. Dos de los tubos se forran con papel aluminio y el tercero se deja expuesto a la luz ambiental de la incubadora. Los cultivos sospechosos de ser fotocromógenos deben incubarse a 30 y 37°C, mientras aquéllos considerados escotocromógenos, deben inocularse por duplicado e incubarse de 24 a 26°C y a 37°C.

Varios días después de que se observe crecimiento en los tubos control expuestos a la luz, los tubos forrados se examinan para ver su crecimiento. Si hay evidencia de formación de colonias o un crecimiento temprano, uno de los tubos forrados se expone a la luz fuerte. Se recomienda un foco de tungsteno de 100 watts o luz fluorescente equivalente. La capa del cultivo puede removerse durante la exposición a la luz de 3 a 5 horas. Enseguida de la exposición de los cultivos a la luz, se colocan de nuevo en la incubadora y se revisan después de 24 a 48 horas para ver si se desarrolla un pigmento amarillo o anaranjado (74).

Interpretación. Se comparan los cambios de color, especialmente los sutiles, con el cultivo expuesto a la luz ambiental de la incubadora y con el cultivo del tubo forrado que no ha sido expuesto a la luz. *Mycobacteria* escotocromógenas, que son las que producen pigmento cuando se incuban en la obscuridad incluyen *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. flavescens*, *M. xenopi* y *M. szulgai* sólo cuando se incuban a 37°C.

Especies que son fotocromógenas incluyen *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae* y *M. szulgai* solamente cuando se incuban de 22 a 24°C.

Muchas especies son normalmente ligeramente pigmentadas tal como *M. intracellulare*, *M. avium*, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. ulcerans*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. terrae* y *M. gastri*, a las cuales Runyon nombró "no fotocromógenas" dando a entender que la exposición a la luz no hace el pigmento más intenso.

Controles. Control fotocromógeno; *M. kansasii*, control escotocromógeno; *M. scrofulaceum*, control fotocromógeno y escotocromógeno: *M. szulgai* a 24 y 37°C; control negativo; *M. tuberculosis*.

Apéndice C

Pruebas químicas utilizadas en la identificación de *Mycobacteria*

1. Prueba de niacina en tubo

Material. Se requieren tubos estériles de 16 x 125 mm.

Reactivos. Agua destilada o solución salina estéril, solución al 4% de anilina en etanol mantenida en refrigerador y frasco ámbar, solución de bromuro de cianógeno al 10% en agua destilada mantenida en refrigerador (si hay formación de precipitado es necesario calentar hasta disolver).

Procedimiento. En un tubo de cultivo con desarrollo mínimo de 4 semanas, se añade 1 ml de solución salina o agua destilada estériles, después de la extracción se deja reposar por 15 minutos. Tomar 0.5 ml de fluido y transferirlo a otro tubo, añadiendo 0.5 ml de anilina (la solución no debe ser colorida), posteriormente añadir 0.5 ml de bromuro de cianógeno, produciéndose un color amarillo, que generalmente aparece inmediatamente. Actualmente, existen procedimientos en tiras de papel, disponibles comercialmente, que eliminan la necesidad de usar bromuro de cianógeno, una sustancia altamente tóxica requerida para realizar la prueba en tubo. Estas tiras se usan en el diagnóstico de rutina (32, 74).

Interpretación. La aparición de un color amarillo en el fluido extraído indica la presencia de niacina, pueden ocurrir pruebas negativas en microorganismos positivos si no hay suficiente crecimiento para la acumulación de suficiente niacina detectable en el medio, si es así se reincuban los cultivos por 2 a 4 semanas más o se hace un subcultivo.

Controles. Control positivo; *M. tuberculosis*, control negativo; *M. intracellulare*.

2. Prueba de nitrato reductasa

Material. Los cultivos para realizar esta prueba deben ser de no más de 3 a 4 semanas para los microorganismos de desarrollo lento y de 2 a 4 semanas para los de desarrollo rápido.

Tubos de tapón de rosca de 16 x 125 mm y baño de temperatura constante.

Reactivos. HCl concentrado diluido 1:2, solución al 2% de sulfanilamida, solución al 1% de dehidrocloruro de N-naftiletildiamina, solución de NaNO_3 0.01 M en amortiguador de fosfatos 0.022M, pH 7.0 y polvo de zinc. Las soluciones se mantienen a temperatura ambiente.

Procedimiento. Colocar unas gotas de agua destilada estéril en un tubo con tapón de rosca, añadiendo una asada del desarrollo bacteriano y 2 ml de NaNO_3 . Agitar la mezcla e incubar en un baño a 37°C por 2 horas. Se añaden 1 gota de HCl, 2 gotas de N-naftiletildiamina y 2 gotas de sulfanilamida. Examinar inmediatamente el desarrollo de un color rojo a rosa. Para esta prueba ya existe un método en tiras de papel de manera comercial, desarrollado por los laboratorios Difco (74).

Interpretación. Una prueba positiva se indica por el desarrollo de un color rojo en 30 a 60 segundos, el color puede variar de rosa a rojo intenso. La cuantificación puede hacerse comparando el color obtenido con colores estándares. Si no hay desarrollo de color se hace confirmación de prueba negativa adicionando una pequeña cantidad de polvo de zinc que reduce nitrato a nitrito. Si hay desarrollo de un color rojo después de la adición del zinc la prueba es verdaderamente negativa, si no hay color la prueba es positiva, toda falsa negativa debe repetirse.

Controles. Fuertemente positivo; *M. tuberculosis* H37Rv débilmente positivo; *M. kansasii*, negativo; *M. intracellulare*.

3. Prueba de catalasa

Material. Se requieren pipetas capilares de 1 y 5 ml, tubos de tapón de rosca de 16 x 125 mm, baño a temperatura constante y asa de cultivo.

Reactivos. Solución al 30% de peróxido de hidrógeno, almacenada en refrigeración, solución al 10% de Tween 80 esterilizada en autoclave por 10 minutos y guardada en refrigerador; el sustrato se prepara mezclando volúmenes iguales de Tween 80 y peróxido de hidrógeno o superoxol, solución amortiguadora de fosfatos 1/15 M a pH 7.0.

Procedimiento. En la prueba a temperatura ambiente, se añaden una a 2 gotas de la mezcla o sustrato al medio de cultivo sólido donde hay desarrollo bacteriano (32).

Interpretación. Por la proporción y cantidad de burbujas, se puede juzgar si las cepas son bajas o altamente positivas o negativas.

4. Pruebas de catalasa a 68°C

Con una pipeta estéril, tomar 0.5 ml de solución amortiguadora de fosfatos 1/15 M, pH 7.0, depositándola en un tubo con tapón de rosca con una asada de cultivo, emulsificar la masa bacteriana del medio sólido en el tubo que contiene el amortiguador. Posteriormente, colocar el tubo en un baño a 68°C por 20 minutos, después sacar los tubos y dejarlos enfriar a temperatura ambiente, añadir 0.5 ml de sustrato y observar la formación de burbujas que aparecen en la superficie del líquido.

Dejar reposar 20 minutos para dar un resultado negativo.

Existe una prueba semicuantitativa de catalasa, que se reporta en relación con los milímetros de una columna de burbujas sobre la superficie del medio. Esta prueba permite diferenciar entre especies productoras de catalasa en alta y baja concentración. Es útil para diferenciar *M. xenopi*, *M. avium*, *M. intracellulare* de *M. scrofulaceum*, para diferenciar *M. kansasii* de *M. avium*.

M. gastri, *M. xenopi*, *M. marinum*, *M. avium*, *M. tuberculosis* y *M. intracellulare* se reportan como bajos productores de catalasa, pero *M. kansasii* y *M. scrofulaceum* asociados con enfermedad, producen más de 45 mm de burbujas y se reportan como altamente productores de catalasa (32, 74, 124).

5. Prueba de hidrólisis de Tween 80

Material. Tubos de 16 x 125 mm con tapón de rosca.

Reactivos. Para el sustrato se combinan 100 ml de amortiguador de fosfatos 1/15 M, pH 7.0, 0.5 ml de Tween 80 y 2 ml de una solución acuosa al 1% de rojo neutro. Colocar 2 ml del sustrato en los tubos y esterilizar en autoclave durante 10 minutos, después de esterilizar, el líquido tiene un color ámbar. El sustrato debe almacenarse en refrigerador y en frasco ámbar, por no más de 2 semanas.

Procedimiento. Suspender en el tubo con sustrato una asada del desarrollo bacteriano e incubar a 37°C.

Interpretación. Se toma en cuenta el número de días requeridos para la aparición primaria del color rosa. Si éste es menor de 5 días, la prueba es positiva. Si sucede de 5 a 10 días la prueba es dudosa, si no hay cambio de color después de 10 días la prueba es negativa. Es importante

no agitar los tubos cuando se realizan las lecturas.

Controles. Rápido positivo; *M. kansasii*, lento positivo; *M. gastri*, negativo; *M. scrofulaceum*.

6. Prueba de arilsulfatasa

Material. Tubos de 18 x 60 mm con tapón de rosca.

Reactivos. Para la elaboración del sustrato se incorpora 1 ml de glicerol y 65 mg de la sal disulfato trisódico de fenoftaleína, esterilizada por filtración, en 100 ml de base de agar oleico de Dubos fundido, esterilizado en autoclave. Colocar 2 ml del sustrato en tubos con tapón de rosca. Solución de Na_2CO_3 1M (100 ml).

Procedimiento. Inocular 1 gota de la suspensión bacilar de prueba en los tubos con base de agar oleico de Dubos, incubando a 37°C por tres días, y por 2 semanas para *Mycobacteria* de lento desarrollo, añadir 1 ml de Na_2CO_3 y observar si hay una coloración rosa de fenoftaleína libre.

Interpretación. El desarrollo de un color rosa en el sustrato cercano al crecimiento bacilar, después de adicionar el carbonato de sodio indicando la liberación de fenoftaleína, es una prueba positiva. Se reporta en cruces de 1+ a 5+ de acuerdo a estándares preparados con una solución a base de fenoftaleína (como sal de sodio) al 0.1% en agua destilada (74).

Controles. Control negativo; *M. tuberculosis*, control positivo; *M. fortuitum*.

7. Prueba de ureasa

Material. Tubos de 16 x 125 mm con tapón de rosca.

Reactivos. Para el sustrato se mezcla una parte de base concentrada

de agar de urea con 9 partes de agua estéril. Colocar 4 ml del sustrato en los tubos y almacenar en refrigerador.

Procedimiento. Suspender una asada del desarrollo bacteriano en el tubo con sustrato, incubar a 35 y 37°C. Observar si hay cambio del color ámbar a rosa o rojo, descartar los tubos después de 3 días. Para esta prueba se pueden usar discos de papel preparados comercialmente con urea, los cuales se colocan en agua destilada.

Interpretación. Un cambio de color de ámbar a rosa o rojo en 3 días de incubación, se reconoce como reacción positiva.

Control. Control positivo; *M. kansasii*.

8. Prueba de utilización de hierro

Material. Recipientes pequeños.

Reactivos. Solución acuosa de citrato férrico al 20%, distribuir en recipientes pequeños y esterilizar en autoclave, mantenerlos en refrigeración.

Procedimiento. Inocular con 1 gota de suspensión bacteriana un medio de cultivo inclinado de L-J, incubar a 37°C hasta obtener un crecimiento visible, agregar la solución estéril de citrato férrico, 1 gota por cada ml de medio de cultivo. Incubar por un máximo de 21 días.

Interpretación. La observación de una capa de apariencia mohosa color café en las colonias, nos reporta un resultado positivo.

Control. Control positivo; *M. fortuitum*

Apéndice D

Pruebas de inhibición de crecimiento para *Mycobacteria*1. Inhibición de crecimiento de *Mycobacteria* por hidracida del ácido carboxílico-2-tiofeno

Material. Cajas de Petri

Reactivos. La hidracida del ácido carboxílico-2-tiofeno se incorpora al agar 7H10 ó 7H11 en concentración de 1 y 5 µg/ml. El medio puede colocarse en cajas de plástico con una división o con cuadrantes.

Procedimiento. Inocular por estría el medio de cultivo que contiene 0.1 y 5 µg/ml de T₂H con una asada de un cultivo líquido del microorganismo a probar. Incubar en 5 a 8% de CO₂ durante 14 a 21 días y examinar el crecimiento.

Interpretación. Una prueba positiva debe mostrar buen crecimiento del microorganismo sobre el medio sin la droga e inhibición del crecimiento en el medio que contiene T₂H (74).

Controles. Control positivo; *M. bovis*, control negativo; *M. tuberculosis* H37Rv.

2. Prueba de tolerancia a 5% de NaCl

Material. Tubos de ensaye de 16 x 125 mm.

Reactivos. El sustrato es un medio inclinado de L-J o cualquier otro medio a base de huevo, que contenga 5% de NaCl, este medio se encuentra ya preparado comercialmente. Se requiere de un medio inclinado de L-J sin NaCl para control.

Procedimiento. Inocular el medio de cultivo con 0.1 ml de la suspensión bacteriana a probar. Incubar a 37°C, observar para crecimiento negativo o positivo en 4 semanas.

Interpretación. Una prueba positiva debe mostrar buen crecimiento del microorganismo sobre el medio sin NaCl e inhibición del crecimiento en el medio que contiene NaCl.

Controles. Control negativo; *M. tuberculosis*, control positivo; *M. fortuitum*.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Arroyo, J., G. Medoff. *Mycobacterium chelonae* infection: successful treatment based on a radiometric susceptibility test. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 11(4): 763-64, (1977).
2. Banerjee, D.K., I.B. Holmes. *In vitro* and *in vivo* studies of the action of rifampicin, clofazimine and B1912 on *Mycobacterium marinum*. *Chemotherapy* 22: 224-52, (1976).
3. Barksdale, L., K. Kim. *Mycobacterium*. *Bacteriol. Rev.*, 41(1): 217-372, (1977).
4. Bateman, D.E., *et al.* Miliary tuberculosis in association with chronic cutaneous tuberculosis. *Br. J. Dermatol.*, 103(5): 557-60, (1980).
5. Beyt, B.E., *et al.* Cutaneous mycobacteriosis: analysis of 34 cases with a new classification of the disease. *Medicine*, 60(2): 95-109, (1981).
6. Black, M.M., S.J. Eykyn. The successful treatment of tropical fish tank granuloma (*Mycobacterium marinum*) with cotrimoxazole. *Br. J. Dermatol.*, 97(6): 689-92, (1977).
7. Bodaness, R.S. Sporotrichoid *Mycobacterium marinum* infection in diabetes. *Chemotherapy with rifampin and ethambutol*. *NY State J. Med.*, 78(12): 1935-36, (1978).
8. Bogaert, D., M. Fernández. *MANUAL DE DERMATOLOGIA.* Ed. The C.V. Mosby Co. San Luis, Toronto, Londres. Cap. 6, p. 95-103, (1979).
9. Bolivar, R., *et al.* Cutaneous lesions due to *Mycobacterium kansasii*. *Arch. Dermatol.*, 116(2): 207-8, (1980).
10. Borghans, J.G.A., J.L. Stanford. *Mycobacterium chelonae* in abscesses after injection of diphtheria-pertussis-tetanus-polio vaccine. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 107: 1-8, (1973).
11. Breathnach, S.M., M.M. Black. Atypical tuberculide (acne scrofulosorum) secondary to tuberculous lymphadenitis. *Clin. Exp. Dermatol.*, 6(3): 339-44, (1981).
12. Brown, S.F. *et al.* Cutaneous tuberculosis. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 6(1): 101-06, (1982).
13. Brown, J., *et al.* Infection of the skin by *Mycobacterium marinum*: report of five cases. *Can. Med. Assoc. J.*, 117(8): 912-4, (1977).

14. Calderón, P.G. La importancia clínica de las *Mycobacteria* diferentes de *M. tuberculosis*. Trabajo monográfico, Fac. Química, UNAM (1982).
15. Catinella, P.J. *Mycobacterium marinum* granuloma. Arch. Dermatol., 114(10): 1564, (1978).
16. Cole, G.W., J. Gebhard. *Mycobacterium avium* infection of the skin resembling lepromatous leprosy. Br. J. Dermatol., 101(1): 71-4, (1979).
17. Conti, A., P. Rojas. Tuberculosis cutánea. Arch. Argent. Dermat., 29: 29-46, (1979).
18. Cox, S.K., I.J. Strausbaugh. Chronic cutaneous infection caused by *Mycobacterium intracellulare*. Arch. Dermatol., 117(12): 794-6, (1981).
19. Cutaneous tuberculosis of the nose with unusual clinical and histologic features leading to a delay in diagnosis. Year Book of Dermatology, Year Book Medical Publishers, p. 290-1, (1978).
20. Chaparas, S.D. Composition of antigens of various mycobacterial species detected with a *Mycobacterium tuberculosis* reference serum. Amer. Rev. Resp. Dis., 112: 135-7, (1975).
21. Chavalittamrong, B., N. Chantarakul. Tuberculous verrucosa cutis. Report of a childhood case. Clin. Pediatr., 17(8): 620-3, (1978).
22. Chusid, M.J., et al. Chronic granulomatous disease. Diagnosis in a 27-year-old man with *Mycobacterium fortuitum*. JAMA, 233(12): 1295-6, (1975).
23. Davolisio, J.R., et al. Clinical usefulness of amikacin and doxycycline in the treatment of infection due to *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. Rev. Infect. Dis., 3(5): 1068-74, (1981).
24. _____ and G.A. Pankey. Group IV atypical *Mycobacteria*: frequency and significance of isolation and spectrum of disease. Amer. Rev. Resp. Dis., 115(suppl): 257, (1977).
25. _____ and _____. In vitro susceptibility of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* to amikacin. J. Infect. Dis., 137(3): 318-21, (1978).
26. _____ and _____. Problems in diagnosis and therapy of *Mycobacterium fortuitum* infections. Amer. Rev. Resp. Dis., 117: 625-30, (1978).
27. _____ and _____. Susceptibility of group IV atypical *Mycobacteria* to antibiotics not usually tested against *Mycobacteria*. Amer. Rev. Resp. Dis., 115(suppl): 257., (1977).

26. Damaker, B., E.J. Bottone. Nontuberculous *Mycobacteria* as unsuspected agents of dermatological infections: diagnosis through microbiological parameters. *J. Clin. Microbiol.*, 11(6): 569-72, (1969).
29. Daniel, T.M., *et al.* Immuno-electrophoresis of *Mycobacterium tuberculosis* antigens. Comparative analysis of cell extract and culture filtrate antigens. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 112: 639-44, (1975).
30. _____, B.W. Janicki. Mycobacterial antigens: a review of their isolation, chemistry and immunological properties. *Micobiol. Rev.* 42(1): 84-113, (1978).
31. _____, A. Misaki. Carbohydrate analysis of concanavalin A-reactive and concanavalin A-nonreactive mycobacterial polysaccharides. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 113: 705-6, (1976).
32. David, L.H. BACTERIOLOGY OF THE MYCOBACTERIOSES. Center for disease Control, U.S. Department of Health, Education and Welfare. Chapter I, p. 3-166, (1976).
33. Davidson, P.T., *et al.* Treatment of disease due to *Mycobacterium intracellulare*. *Rev. Infect. Dis.*, 3(5): 1052-9, (1981).
34. Degos, R. DERMATOLOGIA. Edit. La Prensa Médica Mexicana, 1ra. Ed., México. p. 171-2, (1979).
35. Dreisin, R.B., *et al.* The pathogenicity of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* in man: a report of seven cases. *Tubercle*, 57: 49-57, (1976).
36. Dulbeco, R., B. Davis. TRATADO DE MICROBIOLOGIA. Edit. Salvat, p. 857-81, (1977).
37. Dutt, A.K., W.W. Stead. Long-term results of medical treatment in *Mycobacterium intracellulare* infection. *Am. J. Med.*, 67: 449-53, (1979).
38. Engbaek, H.C., *et al.* Aquarium-borne *Mycobacterium marinum* granulomas. *Scand. J. Infect. Dis.*, 12: 74-8, (1980).
39. Epstein, W.L. Cutaneous granulomas. *Int. J. Dermatol.*, 10(7): 574-9, (1977).
40. Escalona, P.E. DERMATOLOGIA, LO ESENCIAL PARA EL ESTUDIANTE. Ediciones Modernas, 5a. Edic., México. p. 116-28, (1975).
41. Estrada, R.A. Tuberculosis cutánea en el estado de Guerrero. *Dermatol. Rev. Méx.*, 21: 172-82, (1977).
42. Even-Paz, Z., *et al.* *Mycobacterium marinum* skin infections mimicking cutaneous leishmaniasis. *Br. J. Dermatol.*, 94: 433-42, (1976).

43. Feldman, R.A. Mycobacterial skin infection by unidentified species: Report of 29 patients. Year Book of Dermatology, Year Book Medical Publishers, p. 290-1, (1978).
44. Fenske, N.A., J.L. Millns. Resistant cutaneous infection caused by *Mycobacterium chelonae*. Arch. Dermatol., 117: 151-3, (1981).
45. Fisher, J.R. Miliary tuberculosis with unusual cutaneous manifestations. JAMA, 238: 241-2, (1977).
46. Fraser, D.W., et al. Disseminated *Mycobacterium kansasii* infection presenting as cellulitis in a recipient of a renal homograft. Amer. Rev. Resp. Dis., 112: 125-9, (1975).
47. Fuentes, J. Tuberculosis nodular profunda. Tesis de Postgrado C.D.P., SSA, México, (1980).
48. Gay, P.J. DERMATOLOGIA. Edit. Aguilar, S.A., 2a. Edic. Cap. 28, p. 140-4, (1976).
49. Goette, D.K. et al. Primary inoculation tuberculosis of the skin. Prosector's Paronychia. Arch. Dermatol., 114: 567-9, (1978).
50. Gombert, M.E., et al. Disseminated *Mycobacterium marinum* infection after renal transplantation. Ann. Intern. Med., 94 (4 pt 1): 486-7, (1981).
51. González de Canales, F., J. Cabré. Tuberculosis cutánea. Forma lupolicuativa. Actas dermosifilogr., 71 (1-2): 51-4, (1980).
52. Goslee, S., E. Wolinsky. Water as a source of potentially pathogenic *Mycobacteria*. Amer. Rev. Resp. Dis., 113: 287-92, (1976).
53. Graham-Brown, et al. Lichen scrofulosorum with tuberculous dactylitis. Br. J. Dermatol., 103(5): 561-4, (1980).
54. Greer, K.E., et al. Sporotrichoid cutaneous infection due to *Mycobacterium chelonae*. Arch. Dermatol., 115: 738-9, (1979).
55. Gruft, H., et al. Postulated sources of *Mycobacterium intracellulare* and *Mycobacterium scrofulaceum* infection: isolation of *Mycobacteria* from estuaries and ocean water. Amer. Rev. Resp. Dis., 120: 362-4, (1979).
56. Haim, S., R. Friedman-Birnbaum. Cutaneous tuberculosis and malignancy. Cutis., 21(5): 643-7, (1978).
57. Hanke, C.W., et al. Sporotrichoid *Mycobacterium marinum* skin infection treated with minocycline hydrochloride. Cleve Clin. Q., 47(4): 339-42, (1980).
58. Hetzel, M.R., I.P. Williams. Cutaneous tuberculosis in Asian. Practitioner, 223(1336): 563-4, (1979).

59. Higuchi, S., et al. Persistence of protein, carbohydrate and wax components of tubercle bacilli in dermal BCG lesions. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 123(4 pt 1): 397-401, (1981).
60. Hirsh, F.S., O.E. Saffold. *Mycobacterium kansasii* infection with dermatologic manifestations. *Arch. Dermatol.*, 112(1): 706-8, (1976).
61. Hockmeyer, W.T., et al. Further characterization of *Mycobacterium ulcerans* toxin. *Infect. Immun.*, 21(1): 124-8, (1978).
62. Hoffman, P.C., et al. Delayed hypersensitivity reactions in patients with *Mycobacterium chelonae* and *Mycobacterium fortuitum* infections. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 117: 527-31, (1978).
63. Horne, N.W. Cutaneous Mycobacteriosis. *Br. Med. J.*, 283(6306): 1560-1, (1981).
64. Hoyt, E.M. Primary inoculation tuberculosis. Report of a case. *JAMA*, 245(15): 1556-7, (1981).
65. Huriez, C. *MANUAL DE DERMATOLOGIA Y VENEROLOGIA*. Edit. Toray-Masson, S.A., 1a. Edic., Barcelona. p. 177-90, (1975).
66. Iden, D.L., et al. Papulonecrotic tuberculid secondary to *Mycobacterium bovis*. *Arch. Dermatol.*, 114(4): 564-6, (1978).
67. Irani, A., et al. Cutaneous primary complex following venepuncture. *Indian Pediatr.*, 15(2): 181-3, (1978).
68. Izumi, A.K., et al. *Mycobacterium marinum* infections treated with tetracycline. *Arch. Dermatol.*, 113: 1067-8, (1977).
69. Jackson, P.G., et al. Injection abscesses due to *Mycobacterium chelonae* occurring in a diabetic patient. *Tubercle*, 62(4): 227-9, (1981).
70. Kahana, L.M., et al. Clinical aspects of atypical mycobacterial infection. *Can. Med. Assoc. J.*, 112: 321-4, (1975).
71. Kelly, R., et al. *Mycobacterium marinum* infection from a tropical fish tank. Treatment with trimethoprim and sulphamethoxazole. *Med. J. Aust.*, 2: 681-2, (1976).
72. Kennedy, C., G.K. Knowles. Miliary tuberculosis presenting with skin lesions. *Br. Med. J.*, 3: 356, (1975).
73. Kewdig, F. *TRASTORNOS PULMONARES EN LOS NIÑOS*. Ed. Salvat, Vol. I, p. 670-700, (1977).
74. Koneman, E.W., et al. *COLOR ATLAS AND TEXTBOOK OF DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY*. Edited by Lippincott Company, Cap. 12, p. 347-79, (1979).

75. Kounis, N.G., K. Constantinidis. Unusual tuberculous skin manifestations. *Practitioner*, 222(1329): 390-3, (1979).
76. Krieg, R.E. *et al.* Toxin of *Mycobacterium ulcerans*. Production and effects in guinea pig skin. *Arch. Dermatol.*, 110: 783-8, (1974).
77. Kumate, J. MANUAL DE INFECTOLOGIA. Ed. Medios del Hospital Infantil de México, 6a. Edic. México. p. 65-74, (1978).
78. Kuze, F., *et al.* *In vitro* e *in vivo* Suceptibility of atypical *Mycobacteria* to various drugs. *Rev. Infect. Dis.*, 3(5): 885-97, (1981).
79. Lever, W. HISTOPATOLOGIA DE LA PIEL. Inter-Médica. 5a. Edic. Buenos Aires, Argentina. p. 245-52, (1979).
80. Lockshin, N.A. Treatment of *Mycobacterium marinum* infections with minocycline. *Arch. Dermatol.*, 113: 987, (1977).
81. Loria, P.R. Minocycline hydrochloride treatment for atypical acid-fast infection. *Arch. Dermatol.*, 112: 517-9, (1976).
82. Magnin, P.H. DERMATOLOGIA EN EL PREGRADO. López Libreros Editores, 2a. Edic. Buenos Aires. Cap. 14 p. 133-4, (1977).
83. Magnon, R., R.L. DeVillez. Disseminated cutaneous granulomas from BCG therapy. *Arch. Dermatol.*, 116(3): 355, (1980).
84. Marimoto, M.G., *et al.* Isolation of acid-fast organisms for sugical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 10(4): 598-600, (1979).
85. Marks, J., *et al.* A differential tuberculin test for mycobacterial infection in children. *Tubercle*, 58: 19-23, (1977).
86. Martin-Pascual, A., *et al.* Aspectos ultraestructurales del lupus tuberculoso. *Actas Dermosifilogr.*, 71(7-8): 319-26, (1980).
87. Mazzini, M.A. DERMATOLOGIA CLINICA. Ed. López Libreros Editores. Buenos Aires. p. 1182-1202, (1977).
88. McCray, M.K., N.B. Esterly. Cutaneous eruptions in congenital tuberculosis. *Arch. Dermatol.*, 117(8): 460-4, (1981).
89. Moschella, S.L., *et al.* DERMATOLOGY. Edit. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Vol. I, p. 789-801, (1975).
90. Myrvik, Q.N. *et al.* BACTERIOLOGIA Y MICOLOGIA MEDICAS. Edit. Interamericana, México, D.F. Cap. 26, p. 331-61, (1977).
91. Opportunistic *Mycobacteria*. *Lancet.*, i: 4245, (1981).
92. Ortals, D.W., J.J. Marr. A comparative study of tuberculous and other mycobacterial infections and their associations with malignancy. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 117: 39-45, (1978).

93. Owens, D.W. Atypical *Mycobacteria*. Int. J. Dermatol., 17(3): 180-5, (1978).
94. Pegum, J.S., H. Baker. DERMATOLOGY. Bailliere's Consise Medical Textbook. Great Britain. 3rd. ed. p. 54-5, (1979).
95. Pereira, C.A., et al. Primary tuberculous complex of the skin. JAMA, 235(9): 942, (1976).
96. Pien, F.D. *Mycobacterium marinum* infections. Arch. Dermatol., 114: 966, (1978).
97. Pinkus, H., A.H. Mehregan. A GUIDE TO DERMATOHISTOPATHOLOGY. Appleton-Century-Craft, 2nd. Ed. N.Y. Chapter 19, p. 289-300, (1976).
98. Polansky, S.M., et al. Congenital tuberculosis. AJR, 130: 994-6, (1978).
99. Ratledge, Colin. The Physilogy of the *Mycobacteria*. Advances in Microbiology Physiology., 13: 115-244, (1976).
100. Robicsek, F., et al. *Mycobacterium fortuitum* epidemics after open-heart surgery. J. Thorac. Cardiovasc. Surgery. 75(1): 91-6, (1978).
101. Rhode, A.P. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO Y DE PRODUCTOS. Becton Dickinson and Company. (1974).
102. Rook, A., et al. TEXTBOOK OF DERMATOLOGY. Blackwell Scientific Publications, 3rd. Ed. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne. p. 684, (1979).
103. Runyon, E.H. Tuberculins and other mycobacterins. Amer. Rev. Resp. Dis., 113: 715, (1976).
104. Sanders, W.E., et al. Suceptibility of organisms in the *Mycobacterium fortuitum* complex to antituberculous and other antimicrobial agents. Antimicrob. Agents. Chemother., 12(2): 295-7, (1977).
105. Sanders, W.J., E. Wolinsky. In vitro suceptibility of *Mycobacterium marinum* to eight antimicrobial agents. Antimicrob. Agents. Chemother., 18(4): 529-31, (1980).
106. Sauder, D.N., C.W. Hanke. *Mycobacterium marinum* infections of the skin. Can. Med. Assoc. J., 118(8): 900-1, (1978).
107. Saúl, A. La tuberculosis de la piel. Rev. Med. Hosp. Gral., 38(8) 512-25, (1975).
108. _____, LECCIONES DE DERMATOLOGIA. Ed. Fco. Méndez Sa. Edic. México. p. 119-28, (1977).
109. Sauer, G.C. ENFERMEDADES DE LA PIEL. Ed. Interamericana. México. p. 96-9, (1976).

110. Schmit, C.L., *et al.* Lupus Vulgaris: recovery of living tubercle bacilli 35 years after onset. *Cutis.*, 18: 221-3, (1976).
111. Sengupta, L.K., *et al.* Cell mediated immunity in cutaneous tuberculosis. *Indian J. Med. Res.*, 73: 746-50, (1981).
112. Shield, M.J., *et al.* Multiple skin testing of tuberculosis patients with a range of new tuberculins, and a comparison with leprosy and *Mycobacterium ulcerans* infection. *J. Hyg.* 78: 331-48, (1977).
113. Smith, A.G., M. Rouben. Cutaneous infection due to a rough variant of *Mycobacterium marinum*. *A.J.C.P.*, 64: 263-70, (1975).
114. Smith, N.P., *et al.* Lichen scrofulosorum. A report of four cases. *Br. J. Dermatol.*, 94: 319-25, (1976).
115. Somorin, A.O., *et al.* Cutaneous tuberculosis in nigerians. *East Afr. Med. J.*, 55(4): 163-5, (1978).
116. Stead, W., J. Bates. *MEDICINA INTERNA de Harrison*. Edit. La Prensa Médica Mexicana, 5a. Edic. México. Tomo I, p. 1056-70, (1977).
117. Steadham, J.E. High-catalase strains of *Mycobacterium kansasii* isolated from water in Texas. *J. Clin. Microbiol.*, 11(5): 496-8, (1980).
118. Stein, S.C. *Mycobacteria* and the skin. *Int. J. Dermatol.*, 21(2): 82-3, (1982).
119. Stewart, W.D. *et al.* *DIAGNOSIS AND TREATMENT OF CUTANEOUS DISORDERS*. The C.V. Mosby Co, 4th. Ed. St. Louis. p. 218-55, (1978).
120. Sybert, A., *et al.* Cutaneous infection due to *Mycobacterium zulgai*. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 115: 695-8, (1977).
121. Tice, A.D., R.J. Solomon. Disseminated *Mycobacterium chelonae* infection: response to sulfonamides. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 120: 197-201, (1979).
122. Torres, J.R., *et al.* *In vitro* sensitivity of *Mycobacterium marinum* to minocycline and doxycycline. *Tubercle*, 59: 193-5, (1978).
123. Tschen, E.H., *et al.* Erythema multiforme as a complication of BCG scarification technique. *Arch. Dermatol.*, 115: 614-5, (1979).
124. Tsukamura, Michio. A review of the methods of identification and differentiation of *Mycobacteria*. *Rev. Infect. Dis.*, 3(5): 841-61, (1981).
125. Turner, T., *et al.* *Mycobacterium marinum* infection. *Arch. Dermatol.*, 111: 525, (1975).
126. Tyldesley, W.R. Oral tuberculosis- an unusual presentation. *Br. Med. J.*, 2: 928, (1978).

127. Van Dyke, J.J., K.B. Lake. Chemotherapy for aquarium granuloma. JAMA., 233(13): 1380-1, (1975).
128. Wallace, R.J. et al. Sulfonamides activity against *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. Rev. Infect. Dis., 3(5): 898-904, (1981).
129. Ward, J.M. *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* -fast growing *Mycobacteria*. Br. J. Dermatol., 92:453-9, (1975).
130. _____. *Mycobacteria fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* -fast growing *Mycobacteria*: review with case report. Year Book of Dermatology. Year Book Medical Publishers. p. 332-3, (1975).
131. Weinberg, S., et al. COLOR ATLAS OF PEDIATRIC DERMATOLOGY. Edit. McGraw Hill Book Company. Great Britain p. 18-29, (1975).
132. Wolff, K. DERMATOLOGY IN GENERAL MEDICINE of Fitzpatrick et al. . Ed. McGraw Hill Book Company 2nd. Ed. N.Y. p. 1743-63, (1977).
133. Wolinsky, F. Nontuberculous *Mycobacteria* and associated diseases. Amer. Rev. Resp. Dis., 119: 107-59, (1979).
134. Yip, S.Y., et al. Tuberculoid cutaneous infection due to a niacin-positive *Mycobacterium chelonae*. Br. J. Dermatol., 101: 63-9, (1979).
135. Ziefer, A., et al. *Mycobacterium ulcerans*. Infection of two patients in Liberia. Int. J. Dermatol., 20:362-4, (1981).
136. Zina, A.M. et al. Cutaneous-mucous infection with lymphadenopathy caused by *Mycobacterium chelonae* . Dermatologica, 160(6): 376-9, (1980).