

# Micobacterias ambientales: componentes estructurales y no estructurales que evidencian su potencial como patógenas oportunistas

Tortone C.A.<sup>1,2</sup>, Oriani D.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Bacteriología y Micología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. <sup>2</sup>ctortone@yahoo.com.ar

## Resumen

Las infecciones producidas por micobacterias ambientales (MA) han ido cambiando a través del tiempo. Históricamente la mayoría de dichas infecciones se manifestaban en individuos inmunocomprometidos o en personas de edad avanzada con alguna afección pulmonar predisponente. Posteriormente se identificaron como una complicación común de pacientes infectados con HIV. En la actualidad y en todo el mundo se registran casos en pacientes inmunocompetentes sin una aparente causa predisponente, relacionados en general a procedimientos quirúrgicos o estéticos. Además, junto con el aumento en la frecuencia de aislamientos de MA, se van describiendo nuevas especies susceptibles de producir patología en humanos. Las micobacterias pueden ser agrupadas de acuerdo a su nivel de virulencia o significancia clínica. Algunas especies son consideradas de transición entre patógenas y saprófitas, definidas como patógenas oportunistas. No está claro qué particularidad lleva a que una MA saprófita pueda transformarse en patógena y a su vez que desencadene infección en huéspedes inmunocompetentes. En esta revisión se describen los componentes estructurales y no estructurales considerados posibles factores de patogenicidad más relevantes de las MA,

que intervienen mayoritariamente en la interacción microorganismo-célula fagocítica. También se hace referencia a nuevos descubrimientos *in vitro* dentro de la patogenia del género *Mycobacterium*, que tratan de elucidar diferencias y similitudes con las micobacterias patógenas obligadas, más específicamente con *M. tuberculosis*.

**Palabras claves:** micobacterias ambientales, factores de patogenicidad.

*Environmental mycobacteria: structural and non structural components that demonstrate its potential as opportunistic pathogens*

## Abstract

Infections caused by environmental mycobacteria (EM) have been changing over time. Historically, most of these infections are manifested in immunosuppressed individuals or those elderly people who had some predisposing lung condition. Later they were identified as a common complication of HIV-infected patients. Nowadays, and worldwide cases are registered in immunocompetent patients with no apparent predisposing cause, related generally to surgical or esthetical procedures. With the increase in the frequency of EM isolation, new species susceptible of producing human pathologies are discovered. *Mycobacterium* species can be grouped according to their

virulence level or their clinical significance. Some species are considered a transition between pathogenic and saprophytic, defined as opportunistic pathogens. It is not clear as to what leads a saprophyte mycobacterium to transform into pathogen and, in turn, trigger an infection in immunocompetent individuals. In this review, structural and non-structural components that are considered the most relevant possible pathogenicity factors of

environmental mycobacteria are described, those which intervene mostly in the microorganism-phagocytic cell interaction. We also refer to new discoveries in vitro in the pathogenesis of the Mycobacterium genus that try to elucidate differences and similarities with obligate pathogens mycobacteria, more specifically with *M. tuberculosis*.

**Keywords:** environmental mycobacteria, pathogenicity factors

---

## Introducción

---

La infección producida por micobacterias no tuberculosas (MNT) o micobacterias ambientales (MA) definida como micobacteriosis, ha ido cambiando respecto a su presentación histórica (Falkinham, 2003). Las infecciones diseminadas producidas por MNT fueron reconocidas por primera vez en pacientes inmunocomprometidos, posteriormente identificadas como una complicación común de pacientes con SIDA avanzado y como una de las principales causas de muerte entre dicha población. Desde los años 80 estudios clínicos y de laboratorio mostraron un incremento en la prevalencia de personas con enfermedades pulmonares por MNT mientras que durante el mismo periodo se reportó un continuo declive en la incidencia y prevalencia de la tuberculosis (WHO, 2004). Al tratarse de enfermedades que no requieren una declaración obligatoria no se disponen actualmente de datos precisos, pero en los últimos años se ha observado una reducción de las micobacteriosis en pacientes infectados por HIV, respecto a las nuevas manifestaciones en individuos con inmunosupresión iatrogénica subyacente (trasplantados, cáncer, enfermedades crónicas pulmonares, entre otras) (Tortoli, 2006; Browne *et al.*, 2012). Es necesario destacar que, conjuntamente con el aumento de la frecuencia de aislamientos de MA, se van describiendo nuevas especies susceptibles de producir patología en humanos. Sumado a ello, en los últimos años se han reportado infecciones por MA ligadas a procedimientos quirúrgicos o estéticos (mesoterapia, cirujías, tatuajes, fotorrejuvenecimiento, entre otros) sin una aparente causa predisponente (Cooksey *et al.*, 2004; García *et al.*, 2010; Culton *et al.*,

2013; Hunt *et al.*, 2013), así como en aquellos individuos con hábitos de alcoholismo y tabaquismo (Falkinham, 2009).

El género *Mycobacterium* está constituido por aproximadamente 181 especies, incluyendo las subespecies (DSMZ, [http://www.dsmz.de/microorganisms/bacterial\\_nomenclature.php](http://www.dsmz.de/microorganisms/bacterial_nomenclature.php)), que se pueden continuar agrupando según el nivel de patogenicidad o significancia clínica (Portaels, 1995). Algunas especies integran el complejo *M. tuberculosis*, (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. orygis* y *M. mungi sp. nov*) y el complejo *M. leprae* (*M. leprae* y *M. lepraemurium*), patógenas obligadas de humanos y animales. Las mismas generalmente no se encuentran en el ambiente y se caracterizan por una alta virulencia aún en la forma latente durante un largo tiempo en un huésped infectado. Aunque se ha reportado la presencia de ADN de *M. leprae* en muestras de agua (Matsuoka *et al.*, 1999) y de suelo (Lavania *et al.*, 2008) en regiones endémicas lo que indicaría un posible rol del medio ambiente en la dinámica de su transmisión. Otras especies son definidas como patógenas oportunistas, consideradas de transición entre patógenas y saprófitas, como ejemplo las pertenecientes al complejo *M. avium* (MAC) y complejo MAIS (*M. avium-intracellulare-scrofulaceum*) El número de otras especies se encuentra en constante aumento debido por un lado a las existencia de severas micobacteriosis en pacientes inmunocomprometidos y por otro al empleo de los métodos cada vez más sofisticados utilizados para su diferenciación (Kazda *et al.*, 2009). Por último se encuentran aquellas especies saprófitas que no son patógenas o lo son esporádicamente. Las especies del segundo y tercer grupo son las denominadas comúnmente micobacterias no tuberculosas, micobacterias atípicas, *mycobacteria other than tuberculosis* (MOTT), o simplemente micobacterias ambientales. Se aíslan tanto de ambientes terrestres como acuáticos pudiendo, bajo ciertas circunstancias, causar enfermedades en individuos que padecen afecciones crónicas o trastornos en el sistema inmunológico. Una característica de relevancia para la salud pública es el alto grado de resistencia a condiciones adversas tales como la desecación, presencia de desinfectantes y además presentan resistencia natural a los antibióticos (Vaerewijck *et al.*, 2005).

El patrón cambiante de la enfermedad por MNT y el aumento de la prevalencia podría asociarse a la capacidad de estos patógenos para sobrevivir y proliferar en ambientes que comparten

con los seres humanos, tales como los sistemas de distribución del agua potable, sumado a la longevidad de la población y un aumento en la proporción de individuos inmunosuprimidos (Falkinham, 2003).

¿Qué particularidad del microorganismo lleva a que una especie saprófita se convierta en patógena? ¿Qué factores influyen para que en la actualidad esa bacteria desarrolle enfermedad en un individuo en apariencia inmunocompetente? Es probable que podamos dar respuesta a estos interrogantes gracias a que en los últimos años, ha habido considerables avances sobre las bases moleculares de la patogenicidad, virulencia y persistencia de las micobacterias en el huésped, así como la significativa contribución que ha sido la identificación de genes de virulencia esenciales (Forrellad *et al.*, 2013).

Esta revisión pretende describir los factores de patogenicidad más relevantes de las MA, refiriéndose también a nuevos descubrimientos *in vitro* dentro de la patogenia del género *Mycobacterium*, que tratan de elucidar diferencias y similitudes con las micobacterias patógenas obligadas, más específicamente con *M. tuberculosis*, especie modelo de estudio.

### • Componentes de la envoltura celular

El género *Mycobacterium* se caracteriza por una pared celular de estructura compleja y única, particularmente rica en lípidos, que representa alrededor del 30–60% de su peso seco (Daffe y Draper, 1998). La envoltura celular de las micobacterias ha sido considerada un factor de virulencia principal y por ese motivo ha sido ampliamente estudiada.

De acuerdo a lo descrito por Guenin-Macé *et al.* (2009), la envoltura de las micobacterias está organizada en tres compartimentos superpuestos: (i) la membrana plasmática, (ii) el esqueleto de la pared celular y (iii) la “pseudo-cápsula”. Algunos investigadores han demostrado que *M. tuberculosis* posee una capa externa con propiedades antifagocitarias muy similares a la cápsula rica en polisacáridos de otros patógenos (Stokes *et al.*, 2004). Al parecer cuando se cultiva a *M. tuberculosis* en medios líquidos estáticos o en el interior de una célula humana éste desarrolla una cápsula no consolidada que se separa fácilmente exponiendo una superficie lipofílica. Si bien estos componentes se reconocían en los filtrados de cultivo, su estructura y ubicación se han especificado no hace muchos años (Barrera, 2007).

La cápsula, con función protectora y bioactiva está principalmente constituida por polisacáridos, proteínas y por pequeñas cantidades de lípidos internos que están aparentemente en rotación constante (Barrera, 2007). Estos constituyentes pueden ser liberados *in vivo* dentro de las células infectadas del huésped. Los principales elementos polisacáridos son el glucano, de estructura muy similar al glucógeno, arabinomananos y mananos (Lemassu y Daffe, 1994).

Los componentes mayoritarios de la envoltura de las micobacterias son lípidos asociados a carbohidratos (glicolípidos), fosfolípidos glicosilados y/o carbohidratos complejos sustituidos con ácidos micólicos o péptidos. Las porciones glicosiladas de estas moléculas son importantes en la interacción con los componentes de la respuesta inmune innata y específica del huésped (Ehlers y Daffe, 1998). En las células eucariotas los glicolípidos, participan en mecanismos de comunicación celular, mientras que en los microorganismos se les considera factores de virulencia (Varki *et al.*, 1999).

#### • **Glicopeptidolípidos (GPLs)**

Los GPLs son una clase de glicolípidos producidos por varios miembros de las MA y son constituyentes predominantes de la envoltura celular, altamente antigénicos y serovar específicos (Schorey y Sweet, 2008). Se ha descrito que expresan GPLs aquellas micobacterias de rápido crecimiento asociadas con enfermedades humanas, tales como *M. abscessus* y *M. chelonae*, (Ripoll *et al.*, 2007), otras que son potencialmente patógenas de animales que incluyen *M. porcinum* y *M. senegalense* (Lopez Marin *et al.*, 1993; Ripoll *et al.*, 2007), también algunas micobacterias de crecimiento rápido saprofitas como *M. smegmatis*, así como miembros del complejo *M. avium* (MAC), responsables de infecciones diseminadas en pacientes con SIDA e infecciones pulmonares en pacientes HIV negativos (Wagner y Young, 2004).

En *M. smegmatis* y *M. avium* se ha observado una motilidad de deslizamiento o “*sliding*”, que se pone de manifiesto como halos de capas múltiples sobre las superficies del agar y que se asocia a la presencia de GPLs (Recht *et al.*, 2001). Esta motilidad de deslizamiento también puede ser considerada en relación con la capacidad de formación de biofilms tanto sobre superficies de PVC en sistemas de distribución de agua potable como *in vitro* (Carter *et al.*, 2003). Estas dos propiedades parecen participar

en la virulencia micobacteriana, ya que su presencia en el agua potable se relaciona con la principal fuente de infección y su motilidad puede contribuir a la invasión de células epiteliales después de la ingestión o la inhalación (Yamazaki *et al.*, 2006).

Las investigaciones realizadas por Yamazaki *et al.* (2006) encontraron correlación entre la formación de biofilms y la virulencia. Todas las cepas de *M. avium* que se aislaron de pacientes con SIDA formaron biofilms sobre plástico PVC y expresaron GPLs. Además, *M. avium* fue capaz de unirse y traslocarse a través del epitelio, mientras que mutantes defectivas en la formación de biofilms y biosíntesis de GPLs disminuyeron su capacidad de traslocación, pudiendo esta característica ser relevante en la colonización bacteriana (Yamazaki *et al.*, 2006).

Por último se ha tratado de elucidar la capacidad inmunomoduladora de los GPLs observándose que son capaces de estimular la liberación de mediadores pro-inflamatorios. Pero parece ser que ello depende de su estructura específica ya que ciertos GPLs son pro-inflamatorios mientras que otros no lo son (Schorey y Sweet, 2008).

#### • **Lipomananos y Lipoarabinomananos**

Lipoarabinomananos (LAM), lipomananos (LM) y fosfatidil-*myo*-inositol manósidos (PIMs) se encuentran intercalados en la pared celular micobacteriana. LM y LAM son los lipoglicanos mayores que están unidos no covalentemente a la membrana plasmática anclado a través de su fosfatidil-*myo*-inositol y extendido hacia el exterior de la pared celular (Guenin-Macé *et al.*, 2009). Se cree que estas moléculas complejas son importantes tanto para la fisiología de la bacteria como también para la modulación de la respuesta del huésped durante la infección. Estos lipoglicanos complejos parecen promover la supervivencia de las micobacterias, interactuando con diferentes células del huésped, regulando la producción de citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias, inhibiendo la actividad microbicida de los macrófagos e impidiendo la proliferación de los linfocitos T. Las LAMs se han aislado a partir de especies de rápido y lento crecimiento, sus propiedades dependen de sus respectivas características estructurales y se constituyen por tres dominios: el fosfatidil-*myo*-inositol, una columna de polisacáridos y motivos terminales o de "*capping*" (Chatterjee y Khoo, 1998).

El LAM puede clasificarse en tres principales familias estructurales acorde al motivo de su “cap” terminal: LAM con terminaciones de manosa o ManLAM (presente en *M.tuberculosis*, *M.leprae*, *M. avium* y *M. kansasii*), LAM con terminaciones de fosfo-myo-inositol o PILAM (presente en *M. smegmatis* y *M. fortuitum*). LAM sin “cap” o AraLAM (presente en *M.chelonae*). Estas variantes estructurales, producidas por distintas especies de micobacterias, difieren en sus propiedades inmunomoduladoras (Guenin-Macé *et al.*, 2009). Se admite actualmente que PILAM de las especies avirulentas son pro-inflamatorias, mientras que ManLAM son anti-inflamatorias (Dulphy *et al.*, 2007).

La entrada de las micobacterias a la célula huésped esta mediada por receptores fagocíticos especializados. Los receptores del complemento (CRs) y el receptor de manosa (MR) juegan un rol principal en la entrada de las micobacterias al macrófago. Mientras MR es expresado por monocitos, macrófagos y células dendríticas, el receptor humano DC-SIGN es una lectina tipo C que se expresa en células dendríticas o es inducible en macrófagos alveolares. Ambos receptores reconocen al LAM aunque con variable afinidad dependiendo de su estructura de “capping”. Se ha sugerido que el receptor DC-SIGN es capaz de discriminar entre especies de *Mycobacterium* (Guenin-Macé *et al.*, 2009).

Los receptores CR1 y CR3, que reconocen los fragmentos C3b y C3i, intervienen en la fagocitosis de varias bacterias y parásitos intracelulares, no solo de *Mycobacterium*, sino también de *Brucella*, *Legionella pneumophila* y *Leishmania* (Aréstegui *et al.*, 2001). Esto provee al patógeno una vía segura de entrada y permanencia en los fagocitos mononucleares, de manera “silenciosa” ya que no se dispara la combustión oxidativa y la liberación de metabolitos tóxicos del oxígeno, procesos antimicrobianos importantes frente a patógenos intracelulares (Aréstegui *et al.*, 2001).

Algunos investigadores demostraron que las cepas *M. tuberculosis* virulentas como la H37Rv, que presentan ManLAM, utilizan el RM junto con los receptores de complemento CR1, CR3 y CR4 para internalizarse en el macrófago y las cepas no virulentas como la H37Ra que presentan AraLAM, utilizan solamente el RM (Cywes *et al.*, 1997). El uso simultáneo de ambos receptores confiere ventajas a la bacteria, pues no se activa la enzima NADPH oxidasa por lo que no se produce el estallido respiratorio (Cywes *et al.*, 1997). Además, la entrada de la micobacteria

evita que se activen las señales que dan origen a la maduración del fagosoma (Guenin-Macé *et al.*, 2009).

Los LAM sin *cap*, LM y PIM, junto con lípidos de la pared celular, son potentes activadores del receptor tipo toll (TLR) 2 por lo tanto importantes inductores de la respuesta inmune innata a la infección. En contraste, el ManLAM de *M. tuberculosis* no es un agonista del TLR2 y su blanco es el receptor DC-SIGN de las células dendríticas dando lugar a la inhibición de las funciones de inmunoestimulación y a la sobrevivencia del patógeno (Guenin-Macé *et al.*, 2009). Consecuentemente, el receptor utilizado por las micobacterias para mediar la invasión al fagocito influye críticamente tanto en la respuesta de las células huésped a la infección bacteriana como en el destino de las mismas. La entrada de micobacterias a los macrófagos vía CRs o MR desvía las respuestas bactericidas de estos fagocitos y permite la multiplicación intracelular. A la vez, estas observaciones sugieren que las micobacterias patógenas usan el receptor DC-SIGN para optimizar la invasión celular y desviar la respuesta inmune del huésped. Se cree que *M. tuberculosis* a través de este receptor modula la señalización de los TLRs dando lugar a una mayor respuesta de citoquinas anti-inflamatorias tal como la IL-10 (Guenin-Macé *et al.*, 2009). La IL-10 inhibe la producción de otras citocinas, como IL-12 y TNF- $\alpha$ , la expresión de moléculas coestimuladoras y moléculas MHC clase II en el macrófago, por lo que los macrófagos se ven limitados en su función como células presentadoras de antígeno (CPAs) (Gorocica *et al.*, 2005).

La densidad de los PAMPs (Patrones Moleculares Asociados a Patógenos) expuestos en la superficie de los microorganismos influye sobre la capacidad de los receptores de lectina tipo C para detectarlos, así como su grado de oligomerización y la presencia o ausencia de señales inflamatorias a través de otros receptores como los TLR (Cambi y Figdor, 2005).

Algunas investigaciones han mostrado que los receptores DC-SIGN, expresados en las células dendríticas inmaduras, capturan a los microorganismos que entran en los tejidos periféricos como piel y mucosas. Posteriormente las células dendríticas migran por los vasos linfáticos periféricos a los órganos linfoides secundarios, una vez en las células dendríticas maduras se procesan los antígenos microbianos y se presentan a los linfocitos T CD4+ en el contexto de las moléculas del CMH (Park *et al.*, 2001). Parece ser que el DC-SIGN no es un receptor exclusivo para ser



utilizado por *Mycobacterium* sino que también tiene la capacidad de unirse al HIV y otros patógenos, incluyendo, *Candida albicans*, *Helicobacter pylori*, *Schistosoma mansoni* y el virus de la hepatitis C (McGreal *et al.*, 2005). Se ha descrito que un rango de virus, incluyendo el HIV, virus de la hepatitis C, virus del dengue pueden “utilizar” al receptor para proteger viriones de las vías de degradación lisosómica y presentación a las células T (McGreal *et al.*, 2005).

Otra estrategia de supervivencia de las micobacterias patógenas asociadas al poder inmunomodulador de ManLAM por estimulación de la expresión de IL-10, es la inhibición de la apoptosis tanto de macrófagos como de células dendríticas (Mustafa *et al.*, 2001).

Finalmente, también se ha sugerido que ManLAM inhibe la fusión del fagosoma al lisosoma, lo que impediría que éste vertiera sus agentes oxidantes y diversas enzimas líticas sobre las MA que se reproducen intracelularmente (Briken *et al.* 2004).

Se ha propuesto que ManLAM directamente inhibe el incremento de la concentración citosólica del ión  $Ca^{+2}$ , y como éste sería un mediador central llevaría a la inhibición de tres importantes respuestas del macrófago a la infección: maduración del fagosoma, apoptosis y producción de INF- $\gamma$  (Briken *et al.*, 2004).

Las enzimas que participarían en la síntesis de la LAM, a partir de LM, serían determinantes para la virulencia de las micobacterias. Dado que los LMs y LAMs coexisten en la pared celular de las micobacterias, la proporción en la que se encuentran podría ser importante respecto a la capacidad para modular la respuesta inmune y la apoptosis, potenciando el proceso infeccioso (Dao *et al.*, 2004).

### • Ácidos micólicos

Los ácidos micólicos representan un tercio de la masa seca de la envoltura celular y corresponden a cadenas de ácidos grasos de alto peso molecular, esterificados a los arabinogalactanos de la pared. Confieren al microorganismo una gran resistencia al daño químico y a la deshidratación, así como baja permeabilidad a diversos antibióticos lipofílicos, y protección frente a defensinas y lizosimas (Gao *et al.*, 2003). Por lo cual representan un componente importante del complejo de la pared celular micobacteriana, que proporciona la primera línea de defensa contra las condiciones ambientales potencialmente letales.

Se ha podido comprobar que la modificación de un sitio específico en estos ácidos de la pared podría ser un determinante importante en la interacción entre las micobacterias y el huésped, dado que alguna de estas modificaciones están ausentes en micobacterias no patógenas (Glickman *et al.*, 2000; Forrellad *et al.*, 2013). También se ha sugerido que estas modificaciones, por ciclopropanación de los ácidos micólicos, puede estar asociada con un aumento en la resistencia al estrés oxidativo (Yuan *et al.*, 1995).

El denominado factor cuerda o trehalosa 6,6- dimicolato (TDM) es una molécula mixta que en su estructura posee dos ácidos micólicos y se encuentra en la capa periférica de la envoltura celular. Es abundante en todas las micobacterias patógenas y recibe ese nombre debido a que las micobacterias provenientes de cultivos se observan microscópicamente formando agregados semejantes a cordones. Se considera que el factor cuerda estimula la actividad de la enzima que hidroliza al dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADasa) en el huésped, lo que trae como consecuencia la disminución en la cantidad de coenzima NAD (Vergne y Daffe, 1998). Esta coenzima es común en las reacciones catabólicas de óxido-reducción, y la ausencia de NAD interrumpe la cadena respiratoria en la mitocondria de las células (Verne y Daffe, 1998).

El factor cuerda también se ha asociado a la inhibición de la fusión de los lisosomas con los fagosomas en los macrófagos, fenómeno que se considera clave para la supervivencia de *M. tuberculosis* en estas células (Axelrod *et al.*, 2008).

#### • Micolactonas

Una característica distintiva de la especie patógena *M. ulcerans*, agente etiológico de la enfermedad “úlceras de Buruli”, infección crónica y debilitante de la piel y tejidos blandos, es la producción de micolactona, un policétido macrocíclico con propiedades citopáticas e inmunomoduladoras (Demangel *et al.*, 2009). Otras micobacterias, relacionadas genéticamente con *M. ulcerans*, que causan enfermedades ulcerativas en peces (*M. marinum*) y ranas (*M. liflandii*) producen moléculas similares a la micolactona (Kishi, 2011). Actualmente se han identificado estructuras moleculares distintas (A/B-F) que incluyen variantes producidas por aislados clínicos de *M. ulcerans* de distintos orígenes geográficos. Las variantes difieren en la estructura de

la cadena lateral y muestran una actividad biológica diferente sobre las células eucariotas (Mve-Obiang *et al.*, 2003). Se ha encontrado que las micolactonas de *M. ulcerans* son capaces de suprimir la maduración de las células dendríticas e inhibir de manera selectiva la producción de citoquinas proinflamatorias (Coutanceau *et al.*, 2007). Las micolactonas también son potentes inhibidores de la producción de FNT- $\alpha$  por macrófagos. En particular, los niveles de producción de FNT- $\alpha$  por macrófagos infectados se correlaciona con la citotoxicidad/virulencia de las cepas de *M. ulcerans* (Torrado *et al.*, 2007).

### • Fosfolipasas

La fosfolipasa C (PLC) juega un rol importante en la virulencia de varias bacterias. *M. tuberculosis* posee cuatro genes que codifican las posibles fosfolipasas C, *plcA*, *plcB*, *plcC* y *plcD* (Raynaud *et al.*, 2002). Las fosfolipasas manifiestan un amplio espectro de efectos que incluyen desde alteraciones menores en la membrana celular hasta fenómenos letales. Estas enzimas se dividen en cuatro grupos: A1, A2, C y D, dependiendo de la posición del enlace que hidrolizan en la molécula de sustrato (Raynaud *et al.*, 2002). Las actividades tanto de fosfolipasa C (PLC) como de fosfolipasa D (PLD) se han descrito en varias especies de micobacterias y han mostrado una participación en la patogenia de las micobacteriosis. Sin embargo, a pesar de que la actividad de PLD se ha detectado tanto en especies virulentas como en saprofitas, la actividad de PLC y esfingomielinasa parecen estar restringidas a especies patógenas (Johansen *et al.*, 1996). Por ejemplo, los extractos de células de *M. tuberculosis* y *M. ulcerans*, contienen tanto actividades PLD y PLC, mientras que sólo se ha reportado la actividad PLD en extractos de células de la especie apatógena *M. smegmatis* (Johansen *et al.*, 1996).

La PLC también se ha reportado en extractos de MA patógenas tales como *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. ulcerans* y *M. marinum*, proponiéndose que propicia la degradación de la membrana del fagosoma y la modulación de la respuesta inmune, vía la activación de la cascada del ácido araquidónico. Su expresión aumenta en macrófagos infectados, lo que sugiere algún papel relevante en la patogénesis (Raynaud *et al.*, 2002).

## **Inhibición de la formación del fagolisosoma**

La infección por micobacterias patógenas depende de la entrada y multiplicación en fagocitos mononucleares. Se ha establecido que una variedad de especies virulentas tales como *M. tuberculosis*, *M. marinum*, *M. avium* y *M. bovis* BCG, residen en un compartimento fagosomal privilegiado (Guenin-Macé *et al.*, 2009). En los fagosomas de macrófagos que contienen micobacterias falla la fusión con los lisosomas y la maduración para convertirse en fagolisosoma. Los fagosomas micobacterianos exhiben acidificación limitada, ausencia de hidrolasas lisosomales y muestran aberraciones en el tráfico de marcadores de membrana (Guenin-Macé *et al.*, 2009).

A pesar de no poderse fusionar con los lisosomas, los fagosomas micobacterianos permanecen dinámicos, según lo sugerido por el acceso de las micobacterias al hierro unido a transferrina de la vía de reciclaje endosomal y al tráfico de receptores de transferrina (Russell *et al.*, 1996).

El ManLAM de *M. tuberculosis* inhibe la maduración del fagosoma, los lipoarabinomananos son liberados en los fagosomas que contienen micobacterias y se intercalan en varias endomembranas de los macrófagos infectados. Esta inserción es un prerrequisito para el arresto fagosomal (Guenin-Macé *et al.*, 2009).

Otros lípidos micobacterianos, como el glicolípido 6,6'-dimicolato de trealosa (TDM), intervienen en la inhibición de la maduración del fagosoma. La función virulenta del TDM es superada por la inducción de la enzima óxido nítrico sintetasa mediada por el  $\gamma$ -IFN en la célula huésped (Axelrod *et al.*, 2008).

También han descrito una serina/treonina quinasa, PknG, de micobacterias patógenas que podrían modificar las proteínas del huésped implicadas en el control de las vías del tráfico intracelular a partir de los fagosomas que contienen micobacterias vivas (Vergne *et al.*, 2005). Esto demuestra que el arresto fagosomal parece ser un fenómeno complejo donde se involucran múltiples genes micobacterianos (Pethe *et al.*, 2004).

## **Escape del fagosoma**

Se ha demostrado que algunas cepas de *M. marinum*, son capaces de inducir la polimerización de actina activamente dentro de los macrófagos. Estos hallazgos demuestran que *M. marinum* puede escapar del fagosoma al citoplasma de los macrófagos

infectados, en los que puede reclutar factores citoesqueléticos de la célula huésped para inducir la polimerización de actina que lleva a la propagación de célula a célula. Este mecanismo ya se ha descrito en otros microorganismos de vida endocelular que incluyen *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* y *Rickettsia rickettsii* (Goldberg, 2001). La propagación directa entre célula y célula permite a estos patógenos eludir de cierta manera al sistema inmune del huésped, por ejemplo a la acción del complemento y a los anticuerpos (Stamm *et al.*, 2003).

Van der Wel *et al.* (2007) han observado que los lisosomas rápidamente se fusionan con los fagosomas que contienen cepas virulentas de *M. tuberculosis* y *M. leprae* en macrófagos y células dendríticas derivadas de monocitos humanos y después escapan del fagolisosoma al citosol en células no apoptóticas. Esta entrada al citosol no fue observada en el caso de *M. bovis* BCG y se describió que es dependiente de los productos génicos micobacterianos CFP-10 (10-kDa *Culture Filtrate Protein*) y ESAT-6 (6-kDa *Early Secretory Antigenic Target*), implicados en la motilidad ya expuesta para *M. marinum* (Gao *et al.*, 2006). Se ha descrito que estas dos proteínas de secreción poseen propiedad de lisar membranas y con ello capacidad de ruptura fagolisosómica permitiendo el acceso de las micobacterias al citosol, pero en etapas posteriores de la infección y seguido por la muerte celular necrótica de los macrófagos (Simeone *et al.*, 2012).

Las micobacterias también han desarrollado un sistema de secreción especializado para el transporte de proteínas a través de la pared celular altamente impermeable e hidrofóbica denominado sistema de secreción tipo VII (T7SS) (Forrellad *et al.*, 2013). *M. marinum* posee un T7SS muy semejante al de *M. tuberculosis*, y se ha demostrado su localización polar en el bacilo por microscopía electrónica y confocal (Carlsson *et al.*, 2009). Similares resultados han sido obtenidos en *M. smegmatis* (Wirth *et al.*, 2012). ESAT6 y CFP10 son dos proteínas importantes secretadas por el T7SS, localizadas en el locus de virulencia llamado RD1 (Region of Difference 1), que además de estar presentes en *M. tuberculosis*, también se encuentra en *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. africanum*, *M. leprae*, *M. zulgai* y *M. riyadhense*, y ausente en *M. bovis* BCG y *M. microti* (Harboe *et al.*, 1996; van Ingen *et al.*, 2009).

## Conclusiones

En el género *Mycobacterium* la mayoría de los genes de virulencia codifican enzimas que intervienen en varias rutas de síntesis de lípidos, proteínas de la superficie celular, proteínas reguladoras y proteínas de los sistemas de transducción de señales. Otro grupo de relevancia son los genes implicados en la supervivencia micobacteriana dentro del microambiente agresivo de los macrófagos del huésped. Además, ciertos lípidos de la envoltura celular que se unen a grupos azúcares (glicolípidos) presentan estructuras altamente específicas que inducen una respuesta inmunosupresora (Borrero *et al.*, 2011). Muchos de los genes de virulencia de las especies del complejo *M. tuberculosis* también están presentes en micobacterias no patógenas. Estos hallazgos podrían sugerir que las especies patógenas han adaptado sus genomas a partir de un estilo de vida endocelular desarrollado en condiciones ambientales, con una adquisición mínima de genes de virulencia exclusivos (Forrellad *et al.*, 2013). Algunos investigadores han demostrado que micobacterias ambientales ingeridas por amebas de vida libre crecen intracelularmente y adquieren un fenotipo invasivo, evidente cuando la bacteria escapa de la ameba infectada (Harriff y Bermudez, 2009).

Las diferencias estructurales de los PAMPs entre las especies son sumamente importantes en el reconocimiento y la respuesta del sistema inmunológico del huésped a la exposición del microorganismo. Cuando el patógeno se une a receptores de las células inmunitarias inicia la activación del sistema inmune innato, e incluso la del sistema inmune específico (Aréstegui *et al.*, 2001). Por otro lado, la presencia de distintos linajes de células del sistema inmune, no tratadas en esta revisión, que manifiestan diferentes receptores ante el encuentro con el antígeno, conlleva a una selectividad de reconocimiento del patógeno que desencadena en una respuesta del huésped específica, ya sea de protección o hacia el desarrollo de la infección (Abbas *et al.*, 2008). También se ha propuesto la participación de un factor genético del huésped en la respuesta a la infección frente algunos patógenos intracelulares (Aréstegui *et al.*, 2001).

La estrategia de evasión o supervivencia “generalizada”, no específica de *Mycobacterium*, que dependería de un selectivo grupo de moléculas ligandos reconocidas por receptores de células inmunológicas del huésped, desencadenarían respuestas

inmunosupresoras. Encontrar una forma de contrarrestar dicha interacción podría ser una solución como tratamiento efectivo para aquellas enfermedades de curso crónico donde intervienen patógenos de vida endocelular, más allá de las condiciones fisiológicas y genéticas del huésped.

## Bibliografía

- Abbas, A.K.; Lichtman, A.H.; Pillai, S. 2008.** *Inmunología celular y molecular*. 6<sup>o</sup> Ed. Editorial Elsevier. España. Barcelona. P: 47
- Aréstegui, M.; S. Gualtieri; J. Domínguez; G. Scharowsky. 2001.** El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. *Rev. Mex. Cienc. Vet.*, 32: 131-139.
- Axelrod, S.; Oschkinat, H.; Enders, J.; Schlegel, B.; Brinkmann, V.; Kaufmann, S.H.; Haas, A.; Schaible, U.E. 2008.** Delay of phagosome maturation by a mycobacterial lipid is reversed by nitric oxide. *Cell Microbiol.*, 10: 1530-1545.
- Barrera, L. 2007.** The Basics of Clinical Bacteriology. In: "Tuberculosis 2007: From basic science to patient care." (Eds Palomino JC, Ritacco V y Leão S). Estados Unidos. Amedeo. pp: 93-112.
- Borrero, R.; Álvarez, N.; Reyes, F.; Sarmiento, M.E.; Acosta, A. 2011.** *Mycobacterium tuberculosis*: factores de virulencia. *Vaccinmonitor*, 20: 34-38.
- Briken, V.; Porcelli, S.A.; Besra, G.S.; Kremer, L. 2004.** Mycobacterial lipoarabinomannan and related lipoglycans: from biogenesis to modulation of the immune response. *Mol Microbiol.*, 53: 391-403.
- Browne, S.K.; Zaman, R.; Sampaio, E.P.; Jutivorakool, K.; Rosen, L.B.; Ding, L.; Pancholi, M.J.; Yang, L.M.; Priel, D.L.; Uzel, G.; Freeman, A.F.; Hayes, C.E.; Baxter, R.; Cohen, S.H.; Holland, S.M. 2012.** Anti-CD20 (rituximab) therapy for anti-IFN- $\gamma$  autoantibody-associated nontuberculous mycobacterial infection. *Blood*, 119: 3933-3939.
- Cambi, A.; Figdor, C. 2005.** Levels of complexity in pathogen recognition by C-type lectins. *Curr Opin in Immunol.*, 17: 345-351.
- Carlsson, F.; Joshi, S.A.; Rangell, L.; Brown, E.J. 2009.** Polar localization of virulence-related Esx-1 secretion in mycobacteria. *PLoS Pathog.* 5:e1000285.
- Carter, G.; Wu, M.; Drummond, D.C.; Bermudez, L.E. 2003.** Characterization of biofilm formation by clinical isolates of *Mycobacterium avium*. *J Med Microbiol.*, 52: 747-752.
- Chatterjee, D.; Khoo, K.H. 1998.** Mycobacterial lipoarabinomannan: an extraordinary lipoheteroglycan with profound physiological effects. *Glycobiol.*, 8: 113-120.
- Cooksey, R.C.; de Waard, J.H.; Yakrus, M.A.; Rivera, I.; Chopite, M.; Toney, S.R.; Morlock, G.P.; Butler, W.R. 2004.** *Mycobacterium cosmeticum* sp. nov., a novel rapidly growing species isolated from a cosmetic infection and from a nail salon. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 54: 2385-2391.
- Coutanceau, E.; Decalf, J.; Martino, A.; Babon, A.; Winter N. Cole, S. T.; Albert, M. L.; Demangel, C. 2007.** Selective suppression

- of dendritic cell functions by *Mycobacterium ulcerans* toxin mycolactone. *J Exp Med.*, 204: 1395-1403.
- Culton, D.A.; Lachiewicz, A.M.; Miller, B.M.; Miller, M.B.; MacKuen, C.; Groben, P.; White, B.; Cox, G.M.; Stout, J.E.** 2013 Nontuberculous mycobacterial infection after fractionated CO<sub>2</sub> laser resurfacing. *Emerg Infect Dis.*, 9: 365-70.
- Cywes, C.; Hoppe, H. C.; Daffe, M.; Ehlers, M. R.** 1997. Nonopsonic binding of *Mycobacterium tuberculosis* to complement receptor type 3 is mediated by capsular polysaccharides and is strain dependent. *Infect. Immun.*, 65: 4258-4266.
- Daffe, M.; Draper, P.** 1998. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Adv Microb Physiol.*, 39: 131-203.
- Demangel, C.; Stinear, T.P.; Cole, S.T.** 2009. Buruli ulcer: reductive evolution enhances pathogenicity of *Mycobacterium ulcerans*. *Nat Rev.*, 7: 50-60.
- Dao, D.N.; Kremer, L.; Guerardel, Y.; Molano, A.; Jacobs, W.R.; Porcelli, S.A. Brinken, V.** 2004. *Mycobacterium tuberculosis* lipomamm induces apoptosis and IL-12 production in macrophages. *Infect Immun.*, 72: 2067-2074.
- DSMZ.** 2015. Leibniz Institute -German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Germany, Prokaryotic Nomenclature Up-to-date 01/03/2015 (<http://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature-up-to-date>).
- Dulphy, N.; Herrmann, J.L.; Nigou, J.; Réa, D.; Boissel, N.; Puzo, G.; Charron, D.; Lagrange, P.H.; Toubert, A.** 2007. Intermediate maturation of *Mycobacterium tuberculosis* LAM-activated human dendritic cells. *Cell Microbiol.*, 9: 1412-1425.
- Ehlers, M.R.; Daffe M.** 1998. Interactions between *Mycobacterium tuberculosis* and host cells: are mycobacterial sugars the key? *Trends Microbiol.*, 6: 328-335.
- Falkinham, III, J.O.** 2003. The changing pattern of nontuberculous mycobacterial disease. *Can. J. Infect. Dis.*, 14: 281-286.
- Falkinham III, J.O.** 2009. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J Appl Microbiol.*, 107: 356-367.
- Forrellad, M.A.; Klepp, L.I.; Gioffré, A.; Sabio y García, J.; Morbidoni, H.R.; de la Paz Santangelo, M.; Cataldi, A.A.; Bigi, F.** 2013. Virulence factors of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Virulence.* 4:3-66.
- García, L. M.; Garzón, M.C.; Orjuela, D.L.; Mejía, G.; Llerena, C.** 2010. Micobacterias no tuberculosas asociadas a procedimientos de mesoterapia en Colombia, 2004-2007. *Infectio.*, 14: 93-96.
- Gao, L.; Laval, F.; Lawson, E.; Groger, R.; Woodruff, A.; Morisaki, J.; Cox, J.; Daffe, M.; Brown, E.** 2003. Requirement for kasB in *Mycobacterium mycolic acid* biosynthesis, cell wall impermeability and intracellular survival: implications for therapy. *Mol Microbiol.*, 49: 1547-1563.
- Gao, L.Y.; Pak, M.; Kish, R.; Kajihara, K.; Brown, E.J.** 2006. A mycobacterial operon essential for virulence in vivo and invasion and intracellular persistence in macrophages. *Infect. Immun.*, 74: 1757-1767.
- Glickman, M.S.; Cox, J.S.; Jacobs, W.R. Jr.** 2000. A novel mycolic acid cyclopropane synthetase is required for cording, persistence,



- and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Cell.*, 5: 717-727.
- Goldberg, M.B. 2001.** Actin-based motility of intracellular microbial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev.* 65:595-626.
- Gorocica, P.; Jiménez-Martínez, M.C.; Garfias, Y.; Sada, I.; Lascurain, R. 2005.** Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.*, 18(2): 142-153.
- Guenin-Macé, L.; Siméone, R.; Demangel C. 2009.** Lipids of pathogenic *Mycobacteria*: contributions to virulence and host immune suppression. *Transbound Emerg Dis.*, 56: 255-268.
- Harboe, M.; Oettinger, T.; Wiker, H.G.; Rosenkrands, I.; Andersen P. 1996.** Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in *Mycobacterium tuberculosis* and virulent *Mycobacterium bovis* and for its absence in *Mycobacterium bovis* BCG. *Znfect Zmmun.*, 64: 16-22.
- Harriff, M.; Bermudez, L.E. 2009.** Environmental amoebae and mycobacterial pathogenesis. *Methods Mol Biol.*, 465: 433-42.
- Howard, S.T.; Byrd, T.F. 2000.** The rapidly growing mycobacteria: Saprophytes and parasites. *Microbes Infect.*, 2: 1845-1853.
- Hunt, C.; Olivares, L.; Jaled, M.; Cergneux F.; De Tezanos Pinto, O.; Esteban Maronna, E. 2013.** Infección por *Mycobacterium marinum*: a propósito de tres casos. *Dermatol Argent.*, 19(5): 332-336.
- Johansen, K.A.; Gill, R.E.; Vasil, M.L. 1996.** Biochemical and molecular analysis of phospholipase C and phospholipase D activity in mycobacteria. *Infect Immun.*, 64: 3259-3266.
- Kazda, J.; Pavlik, I.; Falkinham III, J.O.; Hruska, K. 2009.** The Ecology of *Mycobacteria*: Impact on Animal's and Human's Health. 1° Ed. Springer. Dordrecht Heidelberg London, New York. pp:7-11.
- Kishi, Y. 2011.** Chemistry of mycolactones, the causative toxins of Buruli ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 108: 6703-6708
- Lavania, M.; Katoch, K.; Katoch, V.M.; Gupta, A.K.; Chauhan, D.S.; Sharma, R.; Gandhi, R.; Chauhan, V.; Bansal, G.; Sachan, P.; Sachan, S.; Yadav, V.S.; Jadhav, R. 2008.** Detection of viable *Mycobacterium leprae* in soil samples: insights into possible sources of transmission of leprosy. *Infect. Genet Evol.*, 8: 627-631.
- Lemassu, A.; Daffe, M. 1994.** Structural features of the exocellular polysaccharides of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochem J.*, 297: 351-357.
- Lopez Marin, L.M.; Laneelle, M.A.; Prome, D.; Daffe M. 1993.** Structures of the glycopeptidolipid antigens of two animal pathogens: *Mycobacterium senegalense* and *Mycobacterium porcinum*. *Eur J Biochem.*, 215: 859-866.
- McGreal, E.; Miller, J.; Gordon, S. 2005.** Ligand recognition by antigen-presenting cell C-type lectin receptors. *Curr Opin in Immunol.*, 17: 18-24.
- Matsuoka, M.; Izumi, S.; Budiawan, T.; Nakata, N.; Saeki, K. 1999.** *Mycobacterium leprae* DNA in daily using water as a possible source of leprosy infection. *Indian J Lepr.*, 71: 61-67.
- Mustafa, T.; Bjune, T.G.; Jonsson, R.; Pando, R.H.; Nilsen, R. 2001.**

- Increased expression of fas ligand in human tuberculosis and leprosy lesions: a potential novel mechanism of immune evasion in mycobacterial infection. *Scand J Immunol.*, 54: 630–639.
- Mve-Obiang, A.; Lee, R.E.; Portaels, F.; Small, P.L. 2003.** Heterogeneity of mycolactones produced by clinical isolates of *Mycobacterium ulcerans*: implications for virulence. *Infect Immun.*, 71: 774–783.
- Park, C.G.; Takahara, K.; Umemoto, E.; Yashima, Y.; Matsubara, Y.; Clausen, B.E.; Inaka, K.; Steinman R.M. 2001.** Five Mouse homologues of the human dendritic cell C-type lectin, DC-SIGN. *Int Immunol.*, 13: 1283–1290.
- Pethe, K.; Swenson, D.L.; Alonso, S.; Anderson, J.; Wang, C.; Russell, D.G. 2004.** Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* mutants defective in the arrest of phagosome maturation. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 13642–13647.
- Portaels, F. 1995.** Epidemiology of mycobacterial diseases. *Clinics Dermatol.*, 13: 207–222.
- Raynaud, C.; Guilhot, C.; Rauzier, J.; Bordat, Y.; Pelicic, V.; Manganeli, R.; Smith, I.; Gicquel, B.; Jackson, M. 2002.** Phospholipases C are involved in the virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol.*, 45: 203–217.
- Recht, J.; Martinez, A.; Torello, S. Kolter, R. 2001.** Sliding motility and biofilm formation in mycobacteria. *Acta Cient Venez.*, 52: 45–49.
- Ripoll, F.; Deshayes, C.; Pasek, S.; Laval, F.; Beretti, J.L.; Biet, F.; Risler, J.L.; Daffe, M.; Etienne, G.; Gaillard, J.L.; Reytrat J.M. 2007.** Genomics of glycopeptidolipid biosynthesis in *Mycobacterium abscessus* and *M. chelonae*. *BMC Genomics*, 8:114.
- Russell, D.G.; Dant, J.; Sturgill-Koszycki, S. 1996.** *Mycobacterium avium*- and *Mycobacterium tuberculosis*-containing vacuoles are dynamic, fusion-competent vesicles that are accessible to glycosphingolipids from the host cell plasmalemma. *J. Immunol.*, 156: 4764–4773.
- Simeone, R.; Bobard, A.; Lippmann, J.; Bitter, W.; Majlessi, L.; Brosch, R.; Enninga, J. 2012** Phagosomal Rupture by *Mycobacterium tuberculosis* Results in Toxicity and Host Cell Death. *PLoS Pathog* 8(2): e1002507. doi:10.1371/journal.ppat.1002507
- Schorey, J.S.; Sweet, L. 2008.** The mycobacterial glycopeptidolipids: structure, function, and their role in pathogenesis. *Glycobiol.*, 18: 832–841.
- Stamm, L.M.; Morisaki, J.H.; Gao, L.Y.; Jeng, R.L.; McDonald, K.L.; Roth, R.; Takeshita, S.; Heuser, J.; Welch, M.D.; Brown, E.J. 2003.** *Mycobacterium marinum* escapes from phagosomes and is propelled by actin-based motility. *J. Exp. Med.*, 198: 1361–1368.
- Stokes, R.W.; Norris-Jones, R.; Brooks, D.E.; Beveridge, T.J.; Doxsee, D.; Thorson, L.M. 2004.** The glycan-rich outer layer of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis* acts as an antiphagocytic capsule limiting the association of the bacterium with macrophages. *Infect Immun.*, 72: 5676–5686.
- Torrado, E.; Adusumilli, S.; Fraga, A.G.; Small, P.L.C.; Castro, A.G.; Pedrosa, J. 2007.** Mycolactone-mediated inhibition of tumor necrosis factor production by macrophages infected with *Mycobacterium ulcerans*

- has implications for the control of infection. *Infect Immun.*, 75: 3979-3988.
- Tortoli, E. 2006.** The new mycobacteria: an update. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, 48: 159-178.
- Vaerewijck, M.J.M.; Huys, G.; Palomino, J.C.; Swings, J. Portaels F. 2005.** Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health. *FEMS Microbiol Rev.*, 29: 911-934.
- van der Wel, N.; Hava, D.; Houben, D.; Fluitsma, D.; Van Zon, M.; Pierson, J.; Brenner, M.; Peters, P.J. 2007.** *M.tuberculosis* and *M. leprae* translocate from the phagolysosome to the cytosol in myeloid cells. *Cell.*, 129: 1287-1298.
- van Ingen, J.; de Zwaan, R.; Dekhuijzen, R.; Boeree, M.; van Soolingen, D. 2009.** Region of difference 1 in nontuberculous *Mycobacterium* species adds a phylogenetic and taxonomical character. *J Bacteriol.* 191: 5865-5867.
- Varki, A.; Cumming, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G.; Marth, J. Editors 1999.** Bacterial polysaccharides. In: *Essential of glycobiology*. NY: Cold Spring Harbor Press. pp.321-332.
- Vergne, I.; Daffe, M. 1998.** Interaction of mycobacterial glycolipids with host cells. *Front Biosci.*, 3: d865-d876.
- Vergne, I.; Chua, J.; Lee, H.H.; Lucas, M., Belisle, J.; Deretic, V. 2005.** Mechanism of phagolysosome biogenesis block by viable *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 4033-4038.
- Wagner, D.; Young, L.S. 2004.** Nontuberculous mycobacterial infections: a clinical review. *Infection* 32: 257-270.
- Wirth, S.E.; Krywy, J.A.; Aldridge, B.B., Fortune, S.M.; Fernandez-Suarez, M.; Gray, T.A. Derbyshire, K.M. 2012.** Polar assembly and scaffolding proteins of the virulence-associated ESX-1 secretory apparatus in mycobacteria. *Mol Microbiol.*, 83: 654-64.
- World Health Organization. 2004.** Pathogenic mycobacteria in water. A guide to public health consequences, monitoring and management. Pedley S, Bartram J, Rees G, Dufour A, Cotruvo J (Ed.). London: IWA Publishing.
- Yamazaki, Y.; Danelishvili, L.; Wu, M.; Hidaka, E.; Katsuyama, T.; Stang, B.; Petrofsky, M.; Bildfell, R.; Bermudez, L.E. 2006.** The ability to form biofilm influences *Mycobacterium avium* invasion and translocation of bronchial epithelial cells. *Cell Microbiol.*, 8: 806-814
- Yuan, Y.; Lee, R.E.; Besra, G.S.; Belisle, J.T.; Barry, C.E. 1995.** Identification of a gene involved in the biosynthesis of cyclopropanated mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92: 6630-6634.