



# Micobacterioses pulmonares: diagnóstico presuntivo pelos critérios microbiológicos internacionais adotados no estado de São Paulo, Brasil, 2011-2014

Lilian Regina Macelloni Marques<sup>1,a</sup>, Lucilaine Ferrazoli<sup>2,b</sup>, Érica Chimara<sup>2,c</sup>

1. Núcleo de Ciências Biomédicas, Centro de Laboratório Regional, Instituto Adolfo Lutz de Marília, Marília (SP) Brasil.
  2. Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo (SP) Brasil.
- a. <http://orcid.org/0000-0002-6730-8099>  
b. <http://orcid.org/0000-0002-5389-7056>  
c. <http://orcid.org/0000-0001-9574-8449>

Recebido: 12 setembro 2018.  
Aprovado: 20 janeiro 2019.

Trabalho realizado no Núcleo de Ciências Biomédicas, Centro de Laboratório Regional, Instituto Adolfo Lutz de Marília, Marília (SP) Brasil e no Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo (SP) Brasil.

## RESUMO

**Objetivo:** As micobacterioses pulmonares são doenças causadas por micobactérias não tuberculosas (MNTs), cujo diagnóstico microbiológico envolve o isolamento e a identificação da mesma espécie a partir de pelo menos duas amostras de escarro, uma de lavado brônquico ou uma de biópsia pulmonar. O objetivo do presente estudo foi determinar as frequências das diferentes espécies de MNTs em indivíduos selecionados e em potenciais casos de micobacterioses pulmonares. **Métodos:** Análise retrospectiva dos dados de identificação de espécies isoladas a partir de espécimes clínicos pulmonares de 2.843 indivíduos incluídos no estudo entre 2011 e 2014. A identificação dos potenciais casos baseou-se nos critérios microbiológicos internacionais adotados no estado de São Paulo. **Resultados:** Um total de 50 espécies foi identificado utilizando-se o método molecular *PCR-restriction enzyme analysis*. Dos 1.014 indivíduos analisados quanto aos critérios microbiológicos, 448 (44,18%) tiveram o diagnóstico presuntivo de micobacteriose pulmonar, sendo as maiores frequências de casos, em ordem decrescente, *Mycobacterium kansasii*, *M. abscessus*, *M. intracellulare*, *M. avium* e *M. szulgai*. **Conclusões:** Embora tenham sido identificadas diversas espécies de MNTs entre os indivíduos estudados, as que tiveram as maiores frequências de casos presuntivamente identificados pelos critérios microbiológicos adotados no estado de São Paulo foram as que mais frequentemente estão associadas a micobacterioses pulmonares mundialmente ou em várias regiões geográficas.

**Descritores:** Micobactérias não tuberculosas/classificação; Infecções por micobactéria não tuberculosa/diagnóstico; Pulmão.

## INTRODUÇÃO

Micobactérias não tuberculosas (MNTs) é o termo utilizado para designar as espécies do gênero *Mycobacterium* distintas de *M. leprae* e das que compõem o complexo *M. tuberculosis*. Essas espécies estão amplamente distribuídas na natureza, e algumas têm sido associadas com doenças em seres humanos caracterizadas por manifestações pulmonares e/ou extrapulmonares que são conhecidas genericamente como micobacterioses. Além de potenciais diferenças na virulência de diferentes espécies de MNTs, diversos fatores do hospedeiro são determinantes para o desenvolvimento de manifestações clínicas após a infecção pulmonar por MNTs, como alterações estruturais dos pulmões causadas por tuberculose prévia, fibrose cística, DPOC, silicose e pneumoconiose, assim como condições que alterem o sistema imune, tais como alcoolismo, tabagismo e tratamento com drogas imunossupressoras.<sup>(1-3)</sup>

O diagnóstico das micobacterioses pulmonares é bastante complexo e exige a combinação de achados clínicos, radiológicos e microbiológicos segundo critérios estabelecidos pela *American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America* (ATS/IDSA), cuja última

atualização foi em 2007.<sup>(4)</sup> A apresentação clínica é variável e inespecífica, enquanto as características radiográficas podem incluir lesões cavitárias ou nodulares. O isolamento pela cultura e a identificação da mesma espécie de MNT a partir de pelo menos duas amostras distintas de escarro, uma amostra de lavado brônquico ou uma amostra de biópsia pulmonar são as recomendações mínimas para o diagnóstico microbiológico desse agravo. O intervalo entre a coleta das duas amostras distintas de escarro não foi estabelecido na última publicação da ATS/IDSA,<sup>(4)</sup> mas o período de 12 meses foi considerado para a obtenção das culturas positivas em uma publicação anterior.<sup>(5)</sup>

Embora a complexidade do diagnóstico e a ausência de notificação compulsória para as micobacterioses pulmonares dificultem o estabelecimento de indicadores epidemiológicos, existem alguns dados que sugerem o aumento contínuo da prevalência desse agravo nos últimos anos.<sup>(3,6)</sup> As duas espécies que compuseram originalmente o *M. avium complex* (MAC, complexo *M. avium*), ou seja, *M. avium* e *M. intracellulare*,<sup>(7)</sup> assim como *M. abscessus*, têm sido frequentemente associadas a doenças pulmonares em todo o mundo, enquanto outras espécies parecem ter importância regional.<sup>(3)</sup> No Brasil,

## Endereço para correspondência:

Lilian Regina Macelloni Marques. Rua Lima e Costa, 1630, Bassan, CEP 17506-210, Marília, SP, Brasil.  
Tel.: 55 14 3433-1488. Cel.: 55 14 99782-2082. E-mail: lilian.marques@ial.sp.gov.br  
Apoio financeiro: Nenhum.

estudos realizados com a aplicação dos critérios da ATS/IDSA<sup>(4)</sup> mostraram que essas espécies e *M. kansasii* são as mais prevalentes causas de micobacterioses pulmonares nos estados do Rio de Janeiro<sup>(8)</sup> e Rio Grande do Sul.<sup>(9)</sup>

Alguns estudos têm utilizado apenas os critérios microbiológicos da ATS/IDSA para estimar a importância das diferentes espécies de MNTs como causa de micobacteriose pulmonar.<sup>(10-12)</sup> O presente trabalho teve como objetivo analisar retrospectivamente os dados de identificação das espécies de MNTs isoladas a partir de espécimes clínicos pulmonares, identificação essa realizada no laboratório de referência do estado de São Paulo entre 2011 e 2014, para determinar as frequências de identificação das diferentes espécies entre indivíduos selecionados e de potenciais casos de micobacteriose pulmonar identificados pelos critérios microbiológicos para cada espécie de MNTs.

## MÉTODOS

O Instituto Adolfo Lutz (IAL), laboratório de referência em saúde pública do estado de São Paulo, possui uma unidade central de referência para tuberculose e micobacterioses, localizada na cidade de São Paulo, e doze laboratórios regionais localizados estrategicamente nas diferentes regiões do estado. Esses doze laboratórios e cerca de 80 laboratórios públicos ou conveniados ao Sistema Único de Saúde realizam culturas para o isolamento de micobactérias e encaminham as culturas positivas para identificação à unidade central do IAL. Os dados dos indivíduos fornecidos pelos laboratórios regionais junto às solicitações e os resultados dos exames de identificação são registrados em um sistema informatizado de gestão laboratorial (SIGH). Para o presente estudo, todos os dados referentes à identificação de micobactérias foram extraídos do SIGH para uma planilha do programa Microsoft Office Excel 2007 para cada ano no período entre 2011 e 2014 e, a partir dessas planilhas, foram selecionados os registros de MNTs isoladas a partir de espécimes clínicos pulmonares.

A partir da planilha de dados de identificação de MNTs, foi selecionado o primeiro registro de cada indivíduo para identificar aqueles que seriam incluídos no estudo ("indivíduos selecionados") e foram construídas planilhas específicas para cada espécie abrangendo todo o período estudado. Para cada indivíduo foi feita a consulta do prontuário de exames laboratoriais no SIGH para identificar aqueles que atenderam os requisitos para a análise dos critérios microbiológicos da ATS/IDSA para o diagnóstico de micobacterioses pulmonares, conforme previamente citado,<sup>(4)</sup> sendo anotados todos os dados na planilha específica. Após essa consulta, foram construídas planilhas para os indivíduos que atenderam os requisitos para a análise dos critérios ("indivíduos analisados") e para os indivíduos que tiveram um diagnóstico presuntivo com base nos critérios microbiológicos ("indivíduos identificados") de acordo com a espécie de MNT isolada.

A identificação das micobactérias no período estudado foi feita pelo método *PCR-restriction enzyme analysis* (PRA), que consiste na amplificação de um fragmento de 441 pb do gene *hsp65* relacionado a *heat shock protein* de 65 kDa, seguida da digestão do produto amplificado com duas enzimas de restrição (BstEII e HaeIII) e análise dos fragmentos obtidos após eletroforese em gel de agarose. As diferentes espécies de micobactérias apresentam padrões de restrição diferentes, e a definição da espécie é possível comparando-se esses padrões com um algoritmo.<sup>(13)</sup>

O presente estudo foi aprovado pelo Conselho Técnico-Científico e pelo Comitê de Ética do IAL (CTC no. 07-G/2014).

## RESULTADOS

Entre 2011 e 2014, foram identificadas 5.392 culturas de MNTs isoladas a partir de espécimes clínicos pulmonares de um total de 3.883 indivíduos. A espécie de MNT não pôde ser identificada pelo método PRA-*hsp65* em 881 indivíduos (22,69%), tendo sido caracterizada fenotipicamente apenas como micobactéria de crescimento lento ( $n = 630$ ) ou rápido ( $n = 251$ ). Um padrão de restrição sugestivo de cultura mista, ou seja, indicativo da presença tanto de MNTs como do complexo *M. tuberculosis*, foi identificado nas amostras de 159 indivíduos (4,09%). Dessa forma, foram selecionados 2.843 indivíduos para o estudo.

Apenas 1.014 (35,67%) dos 2.843 indivíduos selecionados preencheram os requisitos para a análise dos critérios microbiológicos da ATS/IDSA<sup>(4)</sup> para o diagnóstico das micobacterioses pulmonares. Foram identificadas 50 espécies, e a Tabela 1 apresenta as frequências de identificação dessas espécies entre os indivíduos selecionados e os analisados. Seis espécies foram identificadas mais frequentemente em ambos os grupos, sendo que as proporções da relação indivíduos analisados/selecionados foram decrescentes na seguinte ordem: *M. abscessus*, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. intracellulare* e *M. gordonae*.

Como pode ser observado na Tabela 2, um total de 448 (44,18%) dos 1.014 indivíduos analisados pelos critérios microbiológicos foram identificados como potenciais casos de micobacteriose pulmonar. Todos os demais indivíduos tiveram uma cultura de MNT seguida de culturas posteriores sem crescimento de micobactérias. As maiores frequências de potenciais casos foram verificadas para *M. kansasii* (66,50%) e *M. abscessus* (64,71%), seguidas de *M. intracellulare* (60,69%) e *M. avium* (46,97%). Embora tenham sido identificadas em um número considerável de indivíduos analisados, as frequências de *M. gordonae* e *M. fortuitum* foram de apenas 20,62% e 13,68%, respectivamente, nos indivíduos identificados como potenciais casos de micobacteriose pulmonar.

Um total de 19 espécies foi identificado entre os 568 indivíduos que tiveram uma cultura positiva e demais culturas negativas e, portanto, não foram identificados como potenciais casos. Essas espécies

**Tabela 1.** Frequência e proporção das espécies de micobactérias não tuberculosas entre os indivíduos selecionados para o estudo e os analisados quanto aos critérios microbiológicos de diagnóstico das micobacterioses pulmonares no estado de São Paulo, 2011-2014.

Espécies	Indivíduos, n (%)		Razão analisados/ selecionados, %
	Selecionados (n = 2.843)	Analisados (n = 1.014)	
<i>Mycobacterium avium</i>	519 (18,26)	198 (19,53)	38,15
<i>M. kansasii</i>	453 (15,93)	197 (19,43)	43,49
<i>M. intracellulare</i>	423 (14,88)	145 (14,30)	34,28
<i>M. goodii</i>	374 (13,16)	97 (9,57)	25,94
<i>M. fortuitum</i>	310 (10,90)	117 (11,54)	37,74
<i>M. abscessus</i>	219 (7,70)	119 (11,74)	54,34
<i>M. peregrinum</i>	143 (5,03)	35 (3,45)	24,48
<i>M. chelonae</i>	96 (3,38)	19 (1,87)	19,79
<i>M. mucogenicum</i>	66 (2,32)	16 (1,58)	24,24
<i>M. lentiflavum</i>	46 (1,62)	9 (0,89)	19,57
<i>M. simiae</i>	26 (0,91)	7 (0,69)	26,92
<i>M. szulgai</i>	19 (0,67)	11 (1,08)	57,89
<i>M. asiaticum</i>	16 (0,56)	6 (0,59)	37,50
<i>M. florentinum</i>	15 (0,53)	1(0,10)	6,67
<i>M. chitae</i>	14 (0,49)	4(0,39)	28,57
<i>M. goodii</i>	14 (0,49)	5 (0,49)	35,71
<i>M. nonchromogenicum</i>	12 (0,42)	6 (0,59)	50,00
<i>M. neoaurum</i>	8 (0,28)	2 (0,20)	25,00
<i>M. parascrofulaceum</i>	8 (0,28)	2 (0,20)	25,00
<i>M. novocastrense</i>	7 (0,25)	1 (0,10)	14,29
<i>M. xenopi</i>	6 (0,21)	3 (0,30)	50,00
<i>M. terrae</i>	5 (0,18)	1 (0,10)	20,00
<i>M. immunogenum</i>	4 (0,14)	1 (0,10)	25,00
<i>M. heidelbergense</i>	3 (0,11)	1 (0,10)	33,33
<i>M. kumamotoense</i>	3 (0,11)	1 (0,10)	33,33
<i>M. nebraskense</i>	3 (0,11)	3 (0,30)	100,00
<i>M. celatum</i>	2 (0,07)	1 (0,10)	50,00
<i>M. flavescens</i>	2 (0,07)	1 (0,10)	50,00
<i>M. gastri</i>	2 (0,07)	1 (0,10)	50,00
<i>M. parmense</i>	2 (0,07)	1 (0,10)	50,00
<i>M. sherrisii</i>	2 (0,07)	1 (0,10)	50,00
<i>M. brisbanense</i>	2 (0,07)	0	-
<i>M. monacense</i>	2 (0,07)	0	-
<i>M. triviale</i>	2 (0,07)	0	-
<i>M. genavense</i>	1 (0,04)	1 (0,10)	100,00
<i>M. triplex</i>	1 (0,04)	1 (0,10)	100,00
Outras <sup>a</sup>	13 (0,46)	0	-

<sup>a</sup>Treze espécies com apenas um indivíduo selecionado: *M. arupense*, *M. aubagnense*, *M. branderi*, *M. brumae*, *M. conceptionense*, *M. farcinogenes*, *M. hiberniae*, *M. kubicae*, *M. montefiorensis*, *M. scrofulaceum*, *M. senegalense*, *M. shimoidei* e *M. wolinskyi*.

foram *M. asiaticum*, *M. chitae*, *M. flavescens*, *M. florentinum*, *M. gastri*, *M. genavense*, *M. goodii*, *M. heidelbergense*, *M. immunogenum*, *M. kumamotoense*, *M. mucogenicum*, *M. nebraskense*, *M. neoaurum*, *M. nonchromogenicum*, *M. novocastrense*, *M. parmense*, *M. terrae*, *M. triplex* e *M. xenopi*.

## DISCUSSÃO

A identificação de espécies de MNTs é de extrema importância uma vez que a relevância clínica e o tratamento antimicrobiano das micobacterioses

pulmonares são definidos de acordo com as características da mesma. O método molecular utilizado (PRA-*hsp65*) é mais específico e rápido do que os métodos fenotípicos, mas apresenta como limitações a interferência de inibidores da reação da polimerase em cadeia na amostra e a falta de definição do perfil de restrição da espécie no algoritmo disponível para utilização. No presente estudo, a MNT isolada de espécimes clínicos pulmonares em 22,68% dos indivíduos selecionados para o estudo não pôde ter a espécie identificada por esse método molecular, tendo

**Tabela 2.** Espécies de micobactérias não tuberculosas isoladas de espécimes pulmonares de indivíduos analisados pelos critérios microbiológicos de diagnóstico de micobacterioses pulmonares e frequência de indivíduos identificados como potenciais casos no estado de São Paulo, 2011-2014.

Espécies	Número de Indivíduos		
	Analisados	Identificados	%
<i>Mycobacterium kansasii</i>	197	131	66,50
<i>M. abscessus</i>	119	77	64,71
<i>M. intracellulare</i>	145	88	60,69
<i>M. avium</i>	198	93	46,97
<i>M. szulgai</i>	11	5	45,45
<i>M. peregrinum</i>	35	8	22,86
<i>M. chelonae</i>	19	4	21,05
<i>M. gordonae</i>	97	20	20,62
<i>M. goodii</i>	5	1	20,00
<i>M. simiae</i>	7	1	14,29
<i>M. fortuitum</i>	117	16	13,68
<i>M. lentiflavum</i>	9	1	11,11
Outras <sup>a</sup>	55	3 <sup>b</sup>	5,45
Total	1.014	448	44,18

<sup>a</sup>Vinte e uma espécies (15 com apenas 1 ou 2 indivíduos analisados). <sup>b</sup>*M. celatum*, *M. parascrofulaceum* e *M. sherrisii*.

sido caracterizada apenas fenotipicamente. Utilizando o mesmo algoritmo do presente estudo, Esparcia et al.<sup>(14)</sup> relataram que 32 (23,88%) de 134 amostras de MNTs não foram identificadas pelo método PRA-*hsp65*.

Embora uma grande variedade de espécies de MNTs tenha sido identificada, 6 foram identificadas mais frequentemente tanto entre os indivíduos selecionados como entre os analisados, com proporções decrescentes para *M. avium*, *M. kansasii*, *M. intracellulare*, *M. gordonae*, *M. fortuitum* e *M. abscessus*. Em um estudo realizado no estado do Rio Grande do Sul entre 2003 a 2013, as três primeiras espécies também foram as mais frequentes, seguidas de *M. abscessus*, *M. fortuitum* e *M. gordonae*.<sup>(9)</sup> Entre 1993 a 2011 no estado do Rio de Janeiro, foi identificado um maior número de indivíduos com *M. kansasii*, seguido por *MAC*, *M. abscessus* e *M. fortuitum*.<sup>(8)</sup> É importante ressaltar que *M. abscessus* foi a espécie com maior proporção nos indivíduos analisados no presente estudo, e as possíveis explicações para tal seriam a resistência dessa espécie a muitos antimicrobianos,<sup>(3)</sup> o que impede a melhora clínica do paciente, assim como maior conhecimento dos profissionais da saúde sobre a relevância dessa espécie.

Menos de 40% dos indivíduos selecionados preencheram os requisitos para a análise dos critérios microbiológicos do diagnóstico das micobacterioses pulmonares, e essa proporção provavelmente decorre do fato de que espécimes clínicos posteriores à primeira identificação de MNTs tenham sido examinados em laboratórios que não utilizam o SIGH, tornando assim impossível, no presente estudo, o rastreamento quando o resultado obtido era negativo. Entretanto, também

foi observado que muitos indivíduos com culturas de MNTs realizadas em laboratórios que utilizam o SIGH não tiveram espécimes posteriores submetidos para análise. As prováveis razões para tal seriam a perda de seguimento do indivíduo e o desconhecimento da equipe de saúde sobre a necessidade de múltiplos exames de escarro para o diagnóstico laboratorial de um caso de micobacteriose pulmonar.

Devido a sua ampla distribuição no meio ambiente, o isolamento de MNTs a partir de um espécime clínico pode representar colonização, infecção ou pseudoinfecção. A colonização é definida como sendo o estabelecimento da MNT entre a microflora do hospedeiro sem o desenvolvimento de manifestações clínicas, enquanto na infecção essas manifestações são evidenciadas. Quando a colonização e a infecção não podem ser conclusivamente evidenciadas, a pseudoinfecção deve ser considerada e geralmente ocorre pela contaminação durante a manipulação do espécime clínico. Surto de colonização e pseudoinfecção do trato respiratório por MNTs em unidades hospitalares têm sido descritos e relacionados principalmente à presença da espécie identificada no sistema de distribuição de água potável, mas também em instrumentos médicos inadequadamente descontaminados.<sup>(15)</sup>

O diagnóstico presuntivo de micobacteriose pulmonar pelos critérios microbiológicos foi feito para 14 diferentes espécies de MNTs no presente estudo. As espécies que tiveram um maior número de indivíduos analisados e uma maior proporção de indivíduos identificados como potenciais casos de micobacteriose são as que serviram de base para o estabelecimento de todos os critérios de ATS/IDSA,<sup>(4)</sup> ou seja, *M. avium* ou *M. intracellulare* (MAC), *M. kansasii* e *M. abscessus*. Como no presente trabalho, *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. chelonae* e *M. szulgai* também foram presuntivamente associadas a alguns casos de micobacteriose pulmonar em um estudo realizado no Japão com a utilização dos critérios microbiológicos.<sup>(12)</sup> A baixa virulência de *M. fortuitum* foi aventada quando indivíduos com uma<sup>(16)</sup> ou mais culturas positivas<sup>(17)</sup> foram monitorados por meses e a progressão para doença pulmonar não foi constatada. *M. gordonae* também é outra espécie considerada pouco virulenta, tendo sido associada a vários surtos de pseudoinfecção respiratória em unidades hospitalares.<sup>(18)</sup>

Winthrop et al.<sup>(19)</sup> relataram que os critérios microbiológicos de ATS/IDSA<sup>(4)</sup> são altamente preditivos de doença pulmonar por MNTs quando verificaram que 183 (86%) de 214 indivíduos identificados presuntivamente como casos por aqueles critérios<sup>(4)</sup> foram confirmados quando as condições clínicas e quadros radiológicos foram avaliados. A ATS/IDSA recomenda que indivíduos com suspeita de doença pulmonar que não atendam os critérios de diagnóstico devem ser monitorados até a confirmação ou a exclusão definitiva da suspeita.<sup>(4)</sup> Um acompanhamento clínico e laboratorial extenso de todo e qualquer isolamento de MNTs a partir de espécimes clínicos de pacientes sintomáticos respiratórios certamente permitiria avaliar

a relevância das diferentes espécies, especialmente frente aos potenciais fatores de risco apresentados por cada indivíduo.

Pelo que sabemos, o presente estudo é o primeiro no Brasil a abranger uma extensa área geográfica para analisar a frequência de identificação das espécies de MNTs entre um grande número de indivíduos e não somente entre um grande número de espécimes pulmonares. Limitações inerentes a um estudo retrospectivo estão presentes, entre as quais destacamos a falta de informação sobre a utilização de medicamentos pelos indivíduos quando da realização das múltiplas culturas, a qual é minimizada pela

resistência de MNTs a antimicrobianos. Embora tenham sido identificadas diversas espécies de MNTs entre os indivíduos estudados, as que tiveram as maiores frequências de casos presuntivamente identificados pelos critérios microbiológicos usados no estado de São Paulo foram as que mais frequentemente estão associadas a micobacterioses pulmonares mundialmente ou em várias regiões geográficas. Esse agravo precisa ser mais bem conhecido pelos profissionais da saúde, e estudos multidisciplinares prospectivos, com a aplicação de todos os critérios diagnósticos estabelecidos pela ATS/IDSA,<sup>(4)</sup> assim como a determinação de todas as características de cada indivíduo, necessitam ser desenvolvidos.

## REFERÊNCIAS

1. Katoch VM. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). *Indian J Med Res.* 2004;120(4):290-304.
2. Weiss CH, Glassroth J. Pulmonary disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Expert Rev Respir Med.* 2012;6(6):597-612; quiz 613. <https://doi.org/10.1586/ers.12.58>
3. Stout JE, Koh W, Yew WW. Update on pulmonary disease due to non-tuberculous mycobacteria. *Int J Infect Dis.* 2016;45:123-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.03.006>
4. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(4):367-416. <https://doi.org/10.1164/rccm.200604-571ST>
5. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. This official statement of the American Thoracic Society was approved by the Board of Directors, March 1997. Medical Section of the American Lung Association. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(2 Pt 2):S1-25.
6. Prevots DR, Marras TK. Epidemiology of human pulmonary infection with non-tuberculous mycobacteria: a review. *Clin Chest Med.* 2015;36(1):13-34. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2014.10.002>
7. Kim SY, Shin SH, Moon SM, Yang B, Kim H, Kwon OJ, et al. Distribution and clinical significance of *Mycobacterium avium* complex species isolated from respiratory specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;88(2):125-137. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.02.017>
8. de Mello KG, Mello FC, Borga L, Rolla V, Duarte RS, Sampaio EP, et al. Clinical and therapeutic features of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, Brazil, 1993-2011. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(3):393-9.
9. Carneiro MDS, Nunes LS, David SMM, Dias CF, Barth AL, Unis G. Nontuberculous mycobacterial lung disease in a high tuberculosis incidence setting in Brazil. *J Bras Pneumol.* 2018;44(2):106-111. <https://doi.org/10.1590/s1806-37562017000000213>
10. Prevots DR, Shaw PA, Strickland D, Jackson LA, Raebel MA, Blosky MA, et al. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(7):970-6. <https://doi.org/10.1164/rccm.201002-0310OC>
11. Henkle E, Hedberg K, Schafer S, Novosad S, Winthrop KL. Population-based Incidence of Pulmonary Nontuberculous Mycobacterial Disease in Oregon 2007 to 2012. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12(5):642-7. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201412-5590OC>
12. Morimoto K, Hasegawa N, Izumi K, Namkoong H, Uchimura K, Yoshiyama T, et al. A Laboratory-based Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in Japan from 2012 to 2013. *Ann Am Thorac Soc.* 2017;14(1):49-56. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201607-5730C>
13. Chimara E, Ferrazoli L, Ueky SY, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, et al. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-hsp65 in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-hsp65 patterns. *BMC Microbiol.* 2008;8:48. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-48>
14. Esparcia Ó, Español M, Garrigó M, Moreno C, Montemayor M, Navarro F, et al. Use of different PCR-based techniques integrated into a non-tuberculous identification algorithm [Article in Spanish]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(1):3-10. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.06.014>
15. Phillips M, von Reyn CF. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. *Clin Infect Dis.* 2001;33(8):1363-74. <https://doi.org/10.1086/323126>
16. Lee MR, Yang Cy, Shu CC, Lin CK, Wen YF, Lee SW, et al. Factors associated with subsequent nontuberculous mycobacterial lung disease in patients with a single sputum isolate on initial examination. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(3):250.e1-e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.08.025>
17. Park S, Suh GY, Chung MP, Kim H, Kwon OJ, Lee KS, et al. Clinical significance of *Mycobacterium fortuitum* isolated from respiratory specimens. *Respir Med.* 2008;102(3):437-42. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2007.10.005>
18. Scorzolini L, Mengoni F, Mastroianni CM, Baldan R, Cirillo DM, De Giusti M, et al. Pseudo-outbreak of *Mycobacterium gordonae* in a teaching hospital: importance of strictly following decontamination procedures and emerging issues concerning sterilization. *New Microbiol.* 2016;39(1):25-34.
19. Winthrop KL, McNelley E, Kendall B, Marshall-Olson A, Morris C, Cassidy M, et al. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease prevalence and clinical features: an emerging public health disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(7):977-82. <https://doi.org/10.1164/rccm.201003-0503OC>