



Universidad de Buenos Aires

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología Primera Cátedra



Facultad de Medicina

**Asignatura:
Microbiología y Parasitología II**

Tuberculosis (parte 1 de 4)

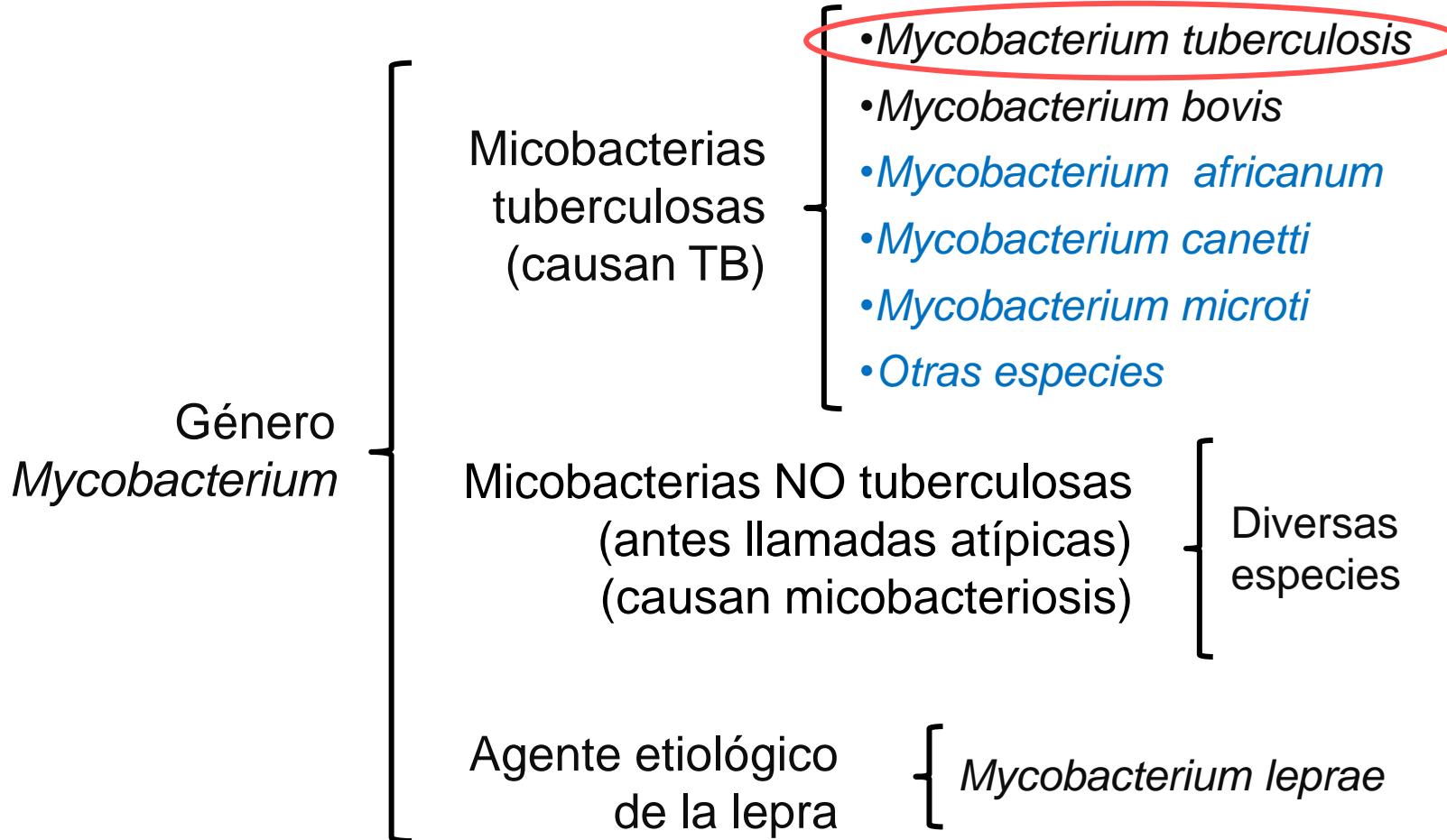


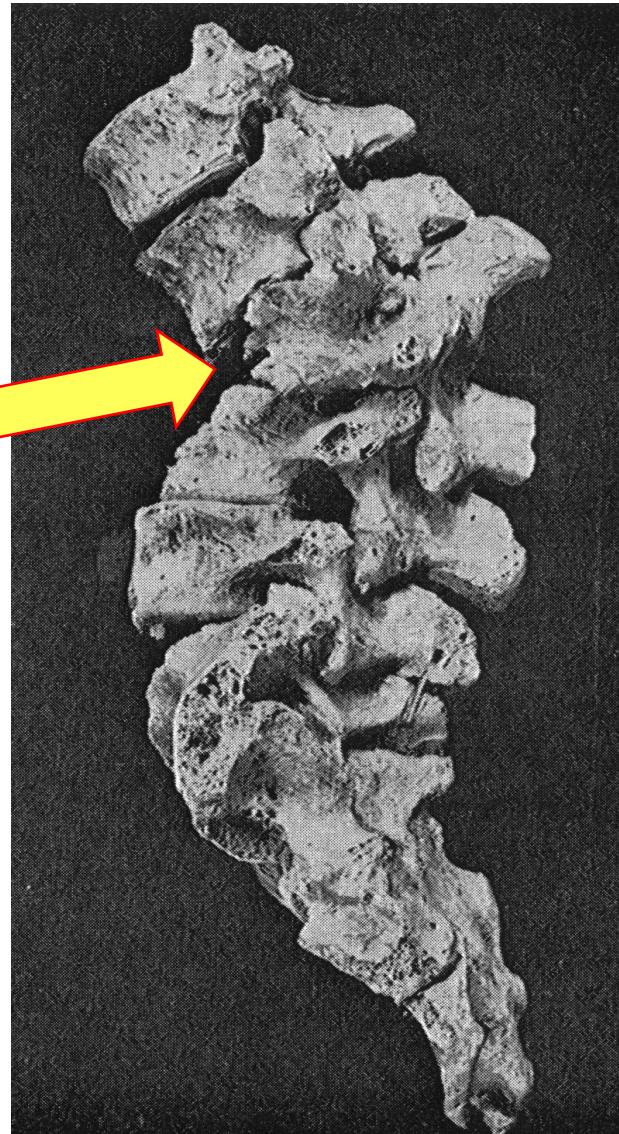
Dr. Daniel O. Sordelli
Profesor Titular

Contenidos parte 1

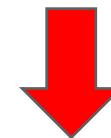
- Presentación
- Breve reseña histórica
- Epidemiología
- Modo de transmisión
- Formas de presentación

TB: agentes etiológicos

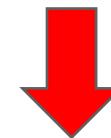




**Registros prehistóricos
de la tuberculosis**



**Estudios
paleontológicos**

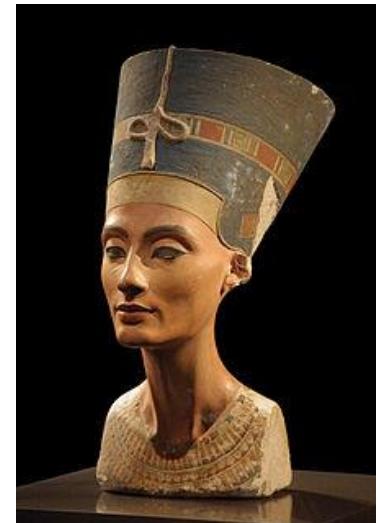


**La tuberculosis
habría atacado al
hombre desde sus
propios orígenes.**



Enfermedad de Pott en el hombre
de Cro-Magnon (fósiles de 15 a 20
mil años de antigüedad).

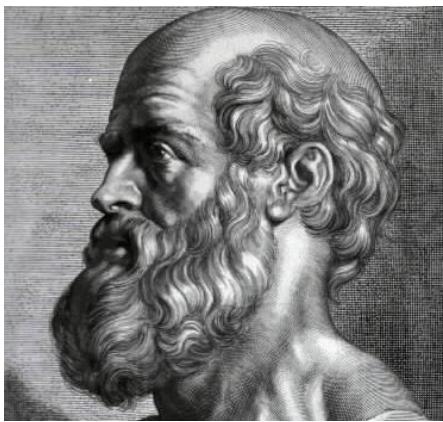
Identificación de ADN de *M. tuberculosis* (momias egipcias de entre 1385-1358 A.C.)



Nefertiti



Amenhotep IV



Hipócrates (ca. 460 A.C. - ca. 377 A.C.).
Descripción de la enfermedad: tisis
(consunción), facies héctica (fiebre
héctica).



Jean-Antoine Villemin (1827-1892): en
1869 descubre la naturaleza infecciosa
de la TB



Robert Koch (1843-1910): en 1882
descubre la bacteria causante de la TB

TB: datos epidemiológicos

- Incidencia anual mundial: 10,4 millones (año 2016)
- Prevalencia mundial: aprox. 30 millones
- Muertes por TB: 1,7 millones (año 2016) (principal causa de muerte por infección a agente único).
- 98% de los casos y de las muertes en países en vías de desarrollo.
- Infección concomitante con VIH (10% de las muertes por TB ocurre en pacientes infectados con VIH)
- Argentina: aprox. 14.000 casos al año
- De 1.500 a 2.300 millones de infectados

Mycobacterium bovis: epidemiología

- TB adquirida por ingestión de leche contaminada con *Mycobacterium bovis*
- Tasa de infección de bovinos en Argentina: 4%
- Tasa de infección de porcinos en Argentina: 5%
- Prevalencia: Santa Fe>Córdoba>Buenos Aires
- Mycobacterium bovis*: infrecuente agente causal de TB (1% de todos los casos de TB pulmonar)

M. bovis puede ser inactivado por pasteurización
(30 minutos a 62°C o 16 segundos a 72°C)

ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-DISEMINACION > DAÑO > DESENLACE

Reservorios de micobacterias

- *M. tuberculosis*: el humano enfermo (no existen portadores sanos)
- *M. bovis*: bovinos enfermos, leche
- Otras micobacterias: enfermos, medio ambiente

Huésped: humano sano

Grupos de riesgo

{ Desnutrición severa
Stress severo
Infección por VIH

TB: modos de transmisión

Más frecuente

Aerógena: la forma más **frecuente**

Cutánea: a través de abrasiones o heridas,
infrecuente

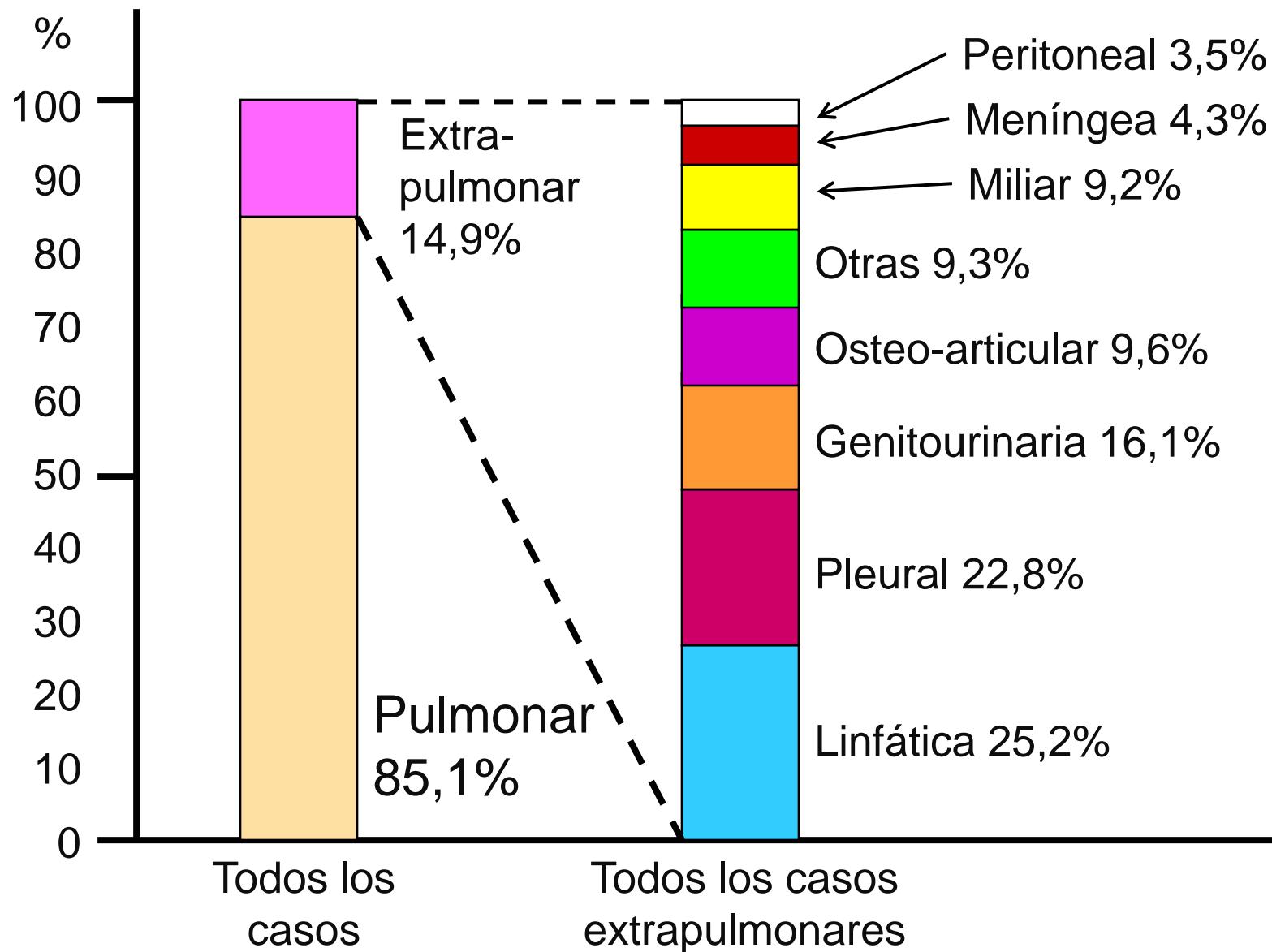
Por ingestión de leche contaminada:
frecuente en el pasado, **hoy es rara**

Sexual: **muy rara**, pero posible.



Menos frecuente

TB: formas clínicas



TB pulmonar: encuentro e ingreso

- *M. tuberculosis* proviene necesariamente de otro huésped humano (paciente bacilífero)
- Transmisión por vía aerógena a por aerosoles (gotitas de Pflügge).
- Dosis infectante es muy baja (aprox. 10 bacterias en un individuo susceptible).
- Las bacterias se depositan en las vías respiratorias





Universidad de Buenos Aires

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología Primera Cátedra



Facultad de Medicina

**Asignatura:
Microbiología y Parasitología II**

Tuberculosis (parte 2 de 4)



Dr. Daniel O. Sordelli
Profesor Titular

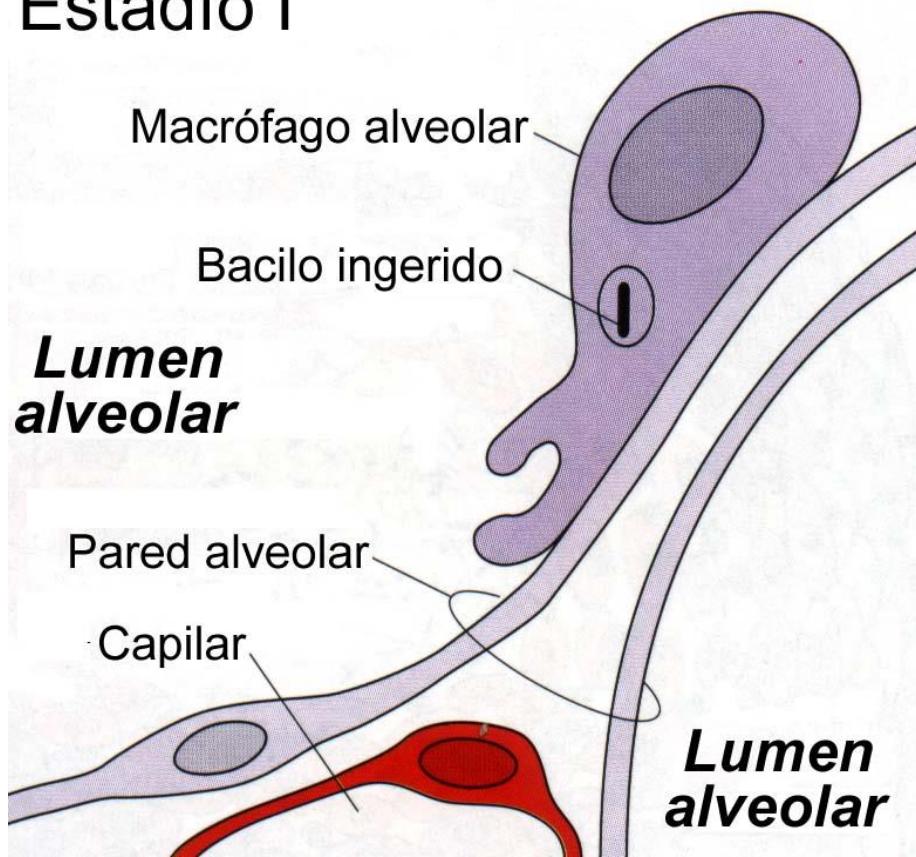
Contenidos parte 2

- Interacciones tempranas micobacteria-células
- Generación de las lesiones
- Diseminación de la bacteria
- La inmunidad contra *M. tuberculosis*
- Primo-infección vs. enfermedad

TB: patogénesis (0 – 3 días)

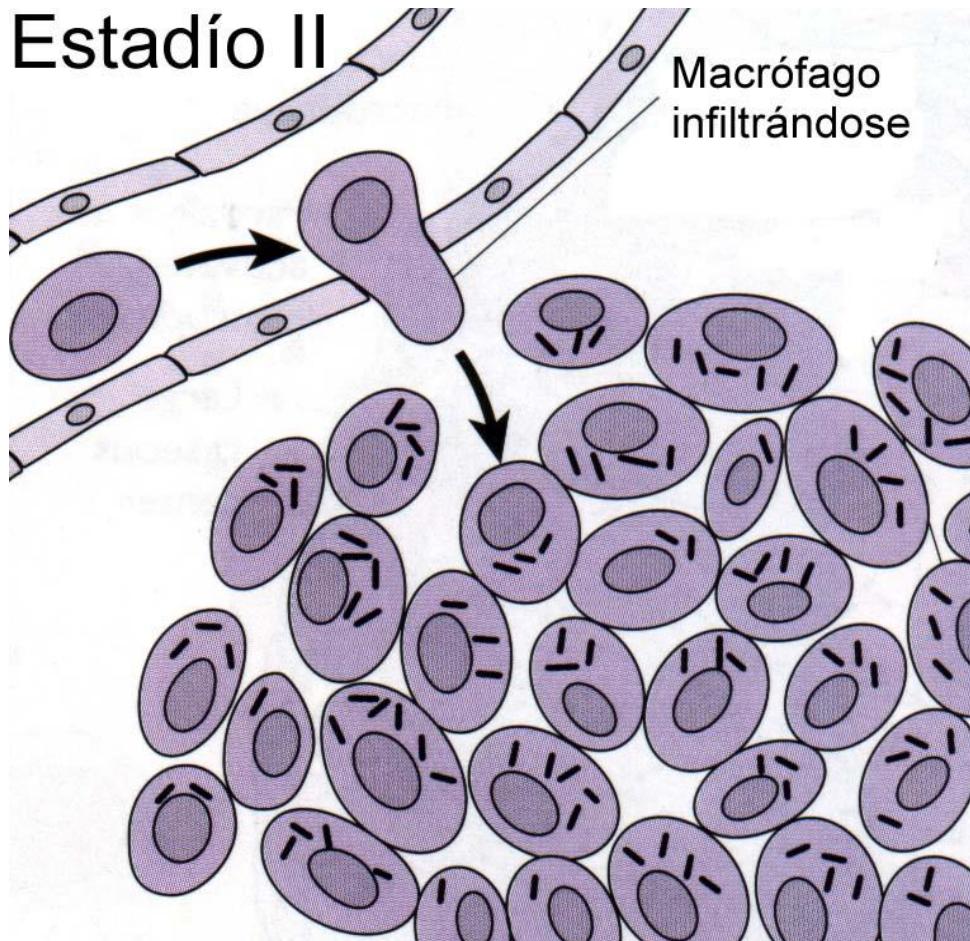
(Huésped que nunca había estado expuesto antes a *M. tuberculosis*)

Estadío I



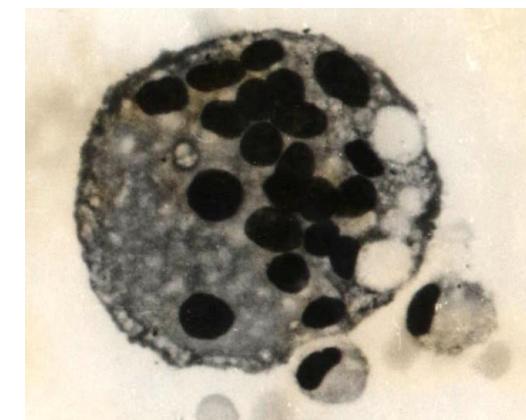
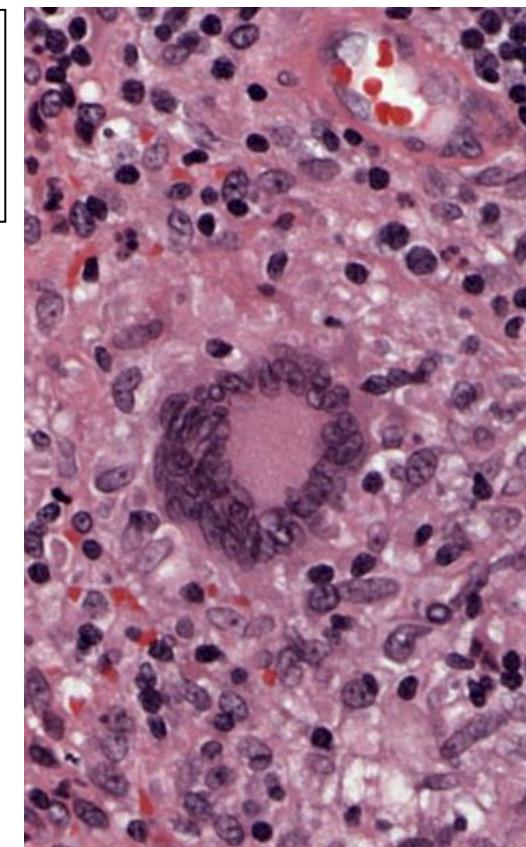
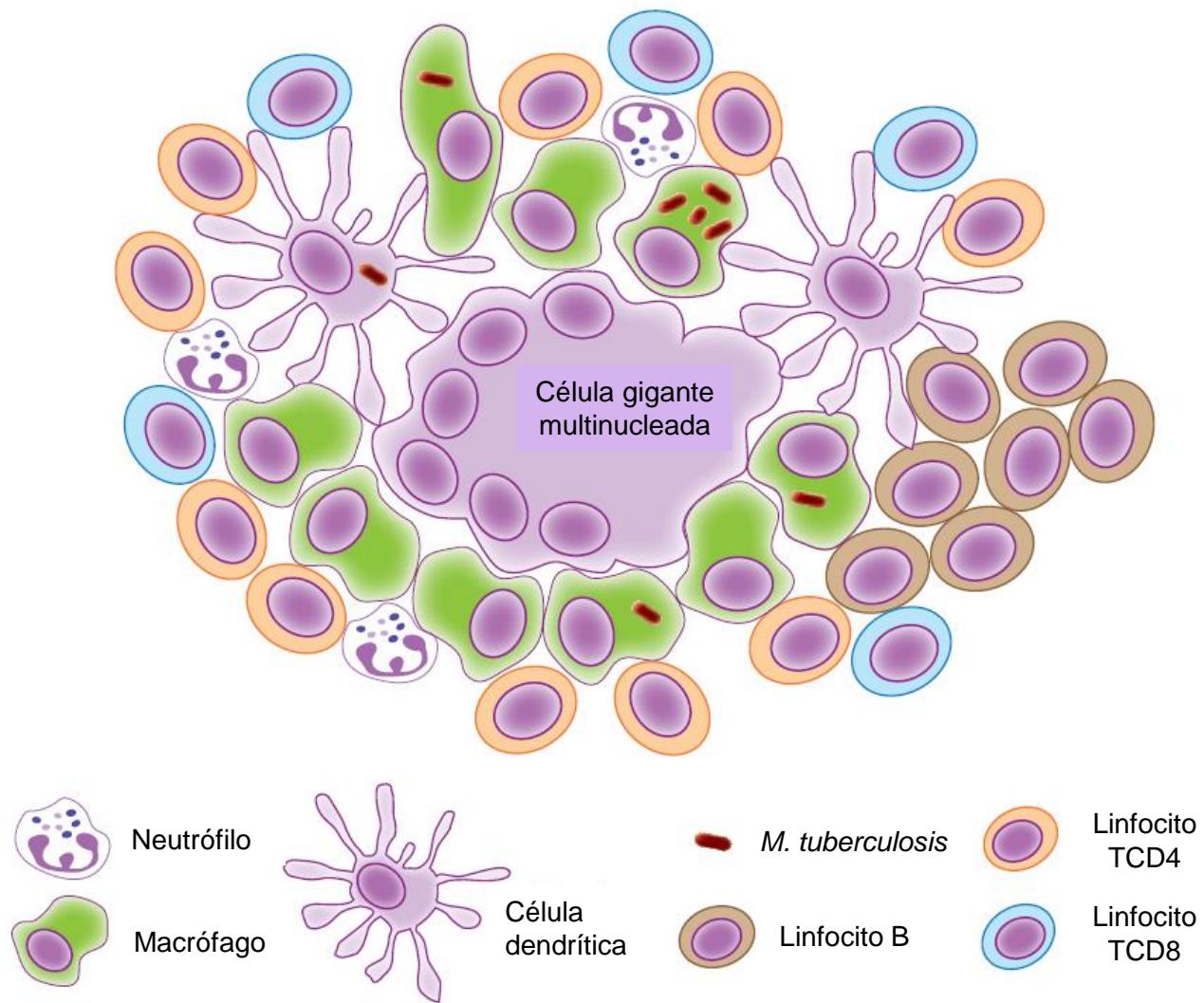
La interacción entre ligandos (man-LAM, PIM, etc.) y receptores (CR1, CR3, CR4, TLR2, receptor de manosa, etc.) permite la internalización de las micobacterias dentro de macrófagos alveolares. El receptor DC-SIGN media el ingreso a células dendríticas.

TB: patogénesis (3 – 5 días)

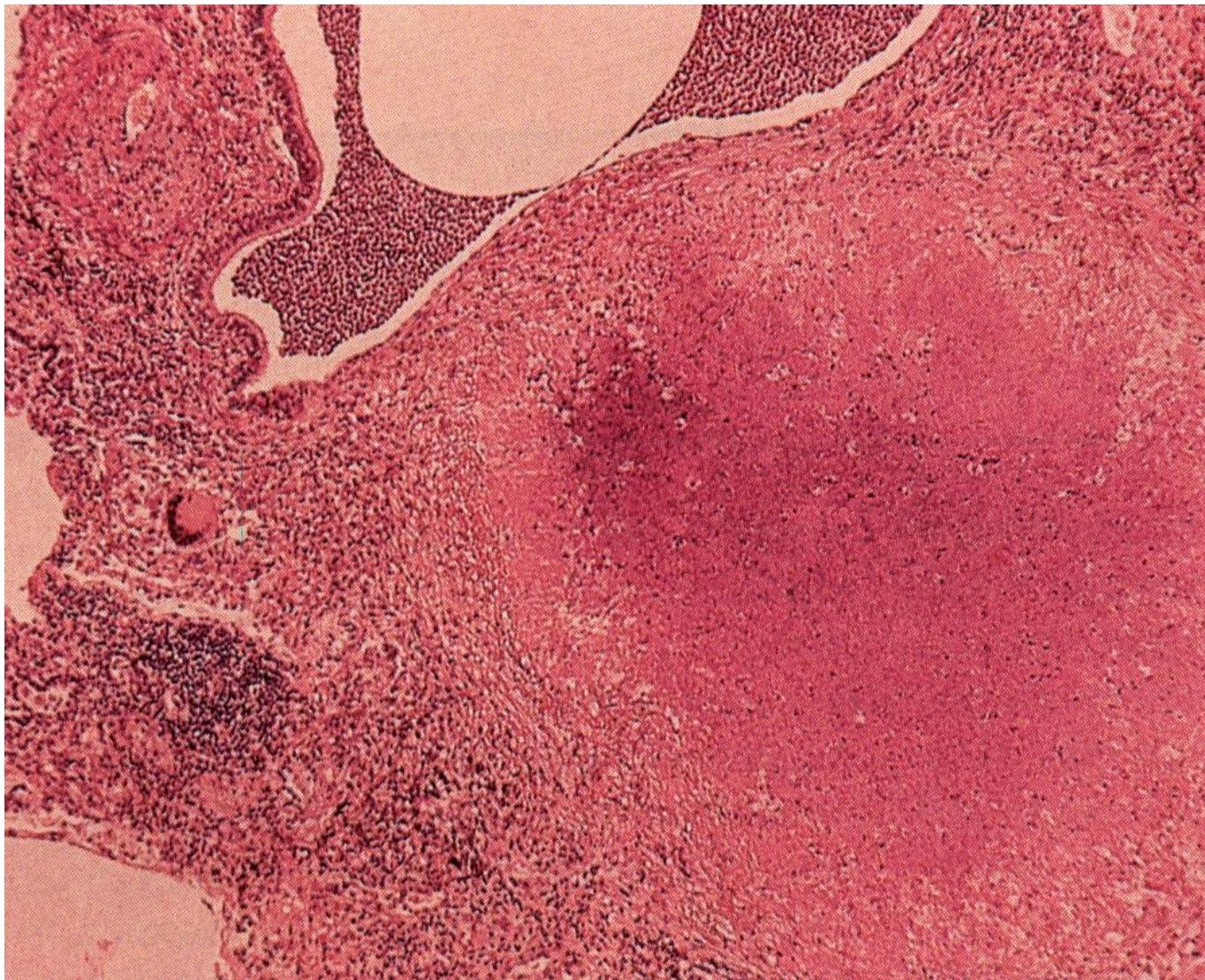


La interacción del LAM con el receptor TLR4 promueve la liberación de quimiotactinas (IL-8, RANTES, MCP-1, otras) y el posterior reclutamiento inicial de células mieloides y posteriormente de monocitos, linfocitos, células NK y células dendríticas. Las micobacterias se replican dentro de los macrófagos sin ser atacadas por los mediadores de la inmunidad innata.

TB: formación del granuloma: fusión de macrófagos mediada por ICAM-1 y otras moléculas de adhesión. Se generan células (multinucleadas) de Langhans).



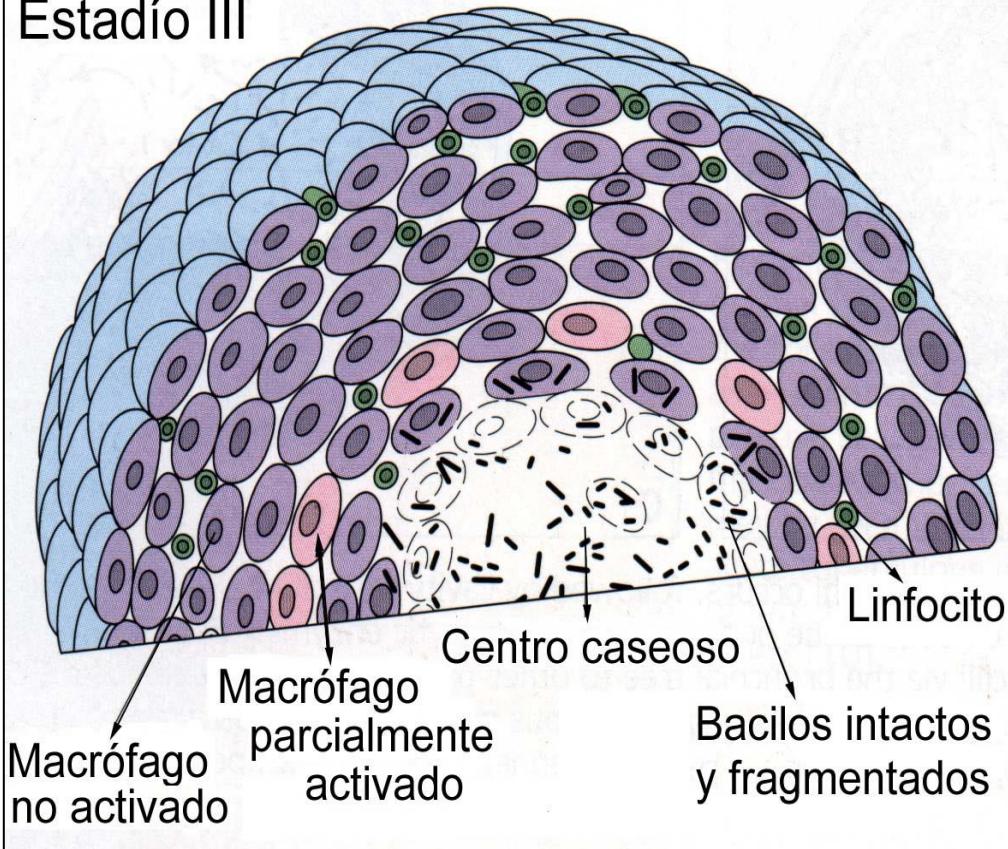
ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-DISEMINACION) > DAÑO > DESENLACE



Formación de un granuloma

TB: patogénesis (5 – 15 días)

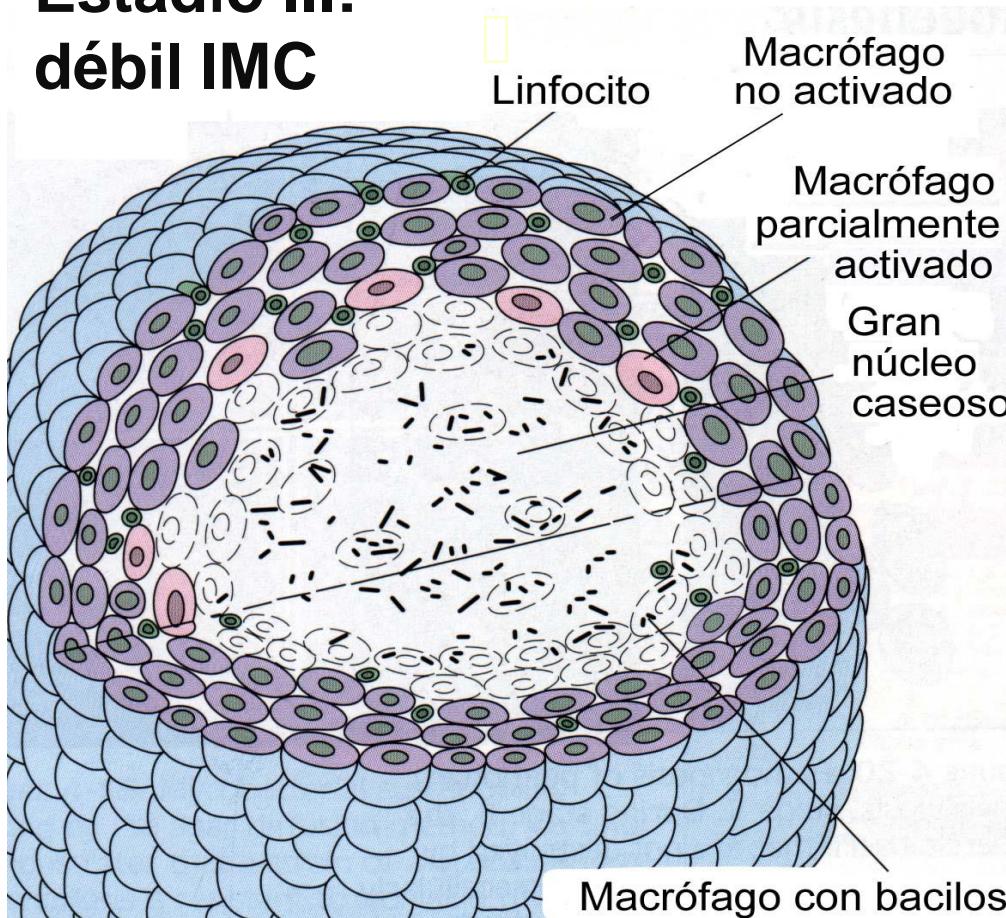
Estadio III



Destrucción de macrófagos infectados por apoptosis o citotoxicidad mediada por células NK. Las micobacterias siguen siendo recaptadas. No se observa aún significativa activación de macrófagos ni degradación de las micobacterias.

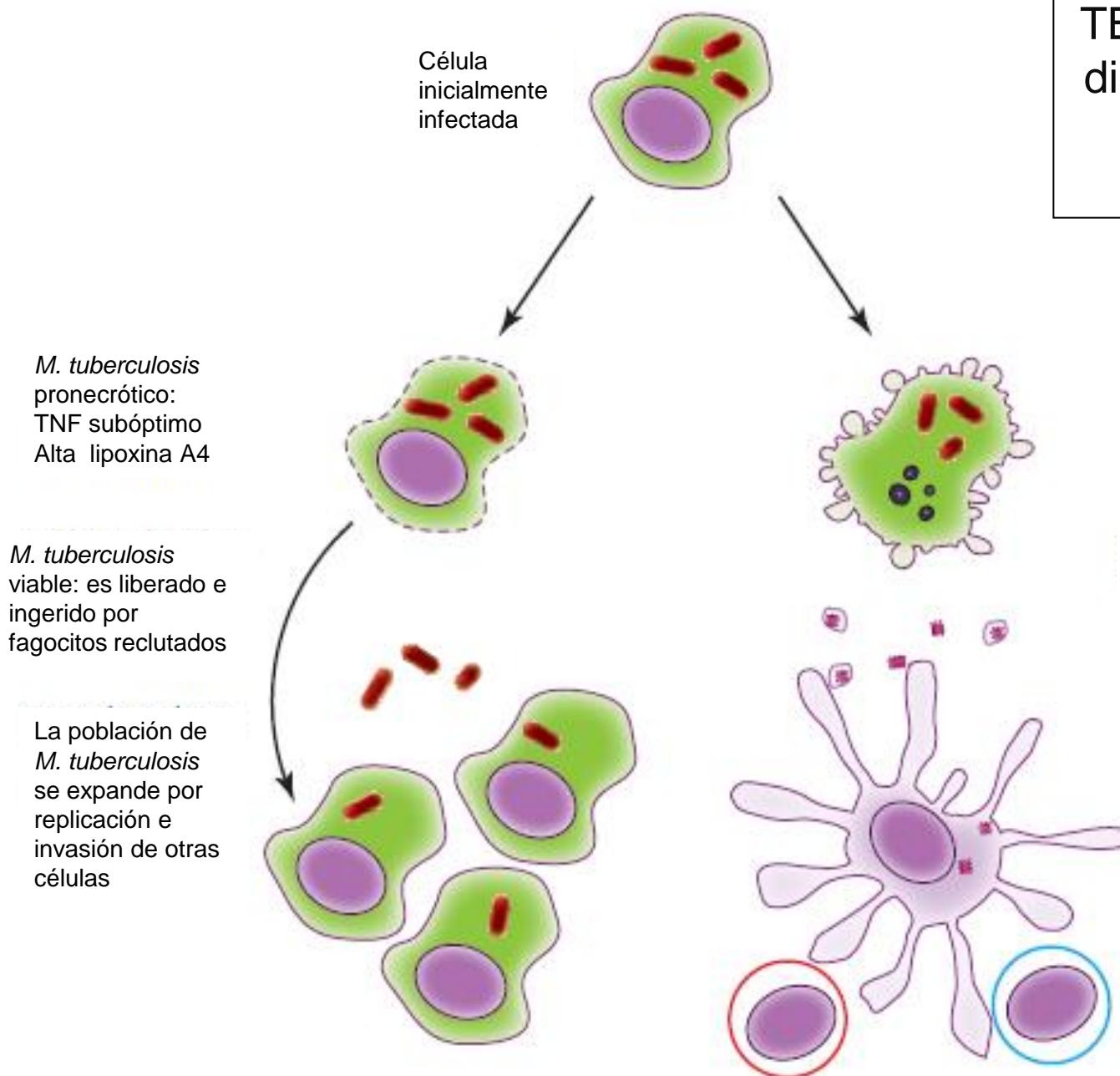
TB: patogénesis (4 – 6 semanas)

Estadio III: débil IMC



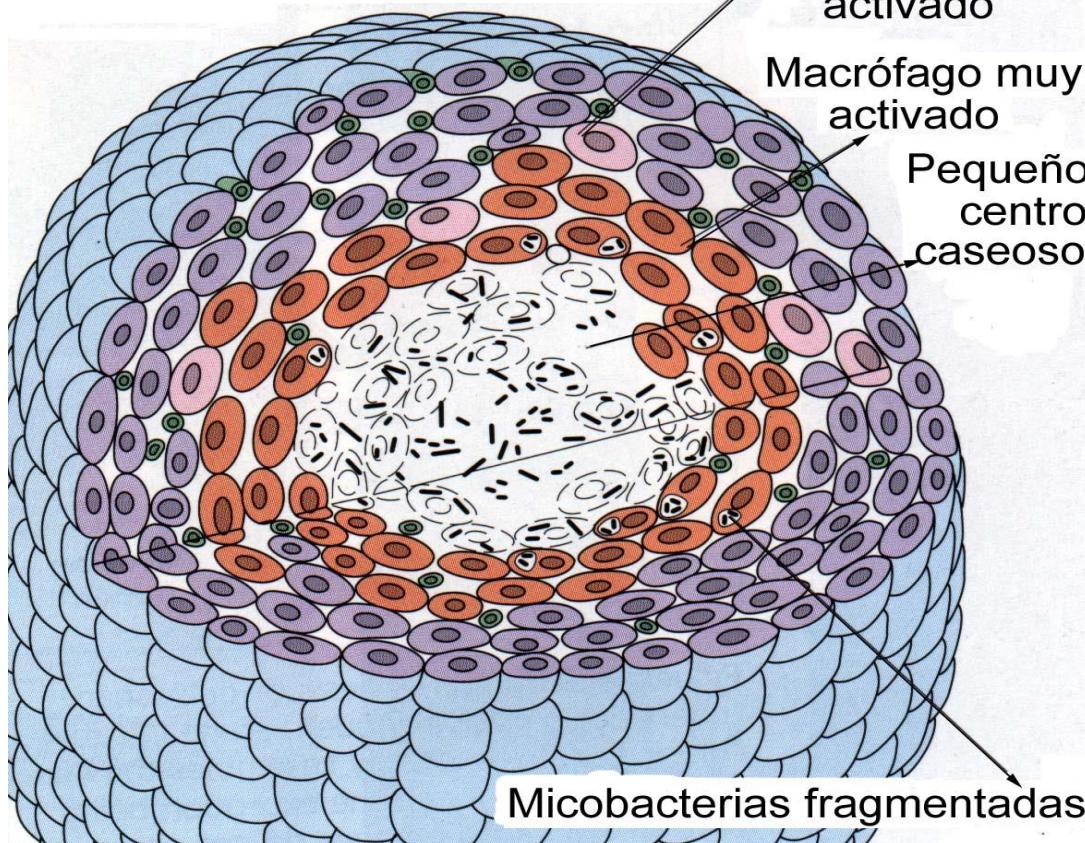
Activación de pocos macrófagos.
Presentación antigénica.
Escape de micobacterias desde el tuberculoma y migración por vía linfática.

TB: limitación de la diseminación de la micobacteria tuberculosa



TB: patogénesis (6 – 9 semanas)

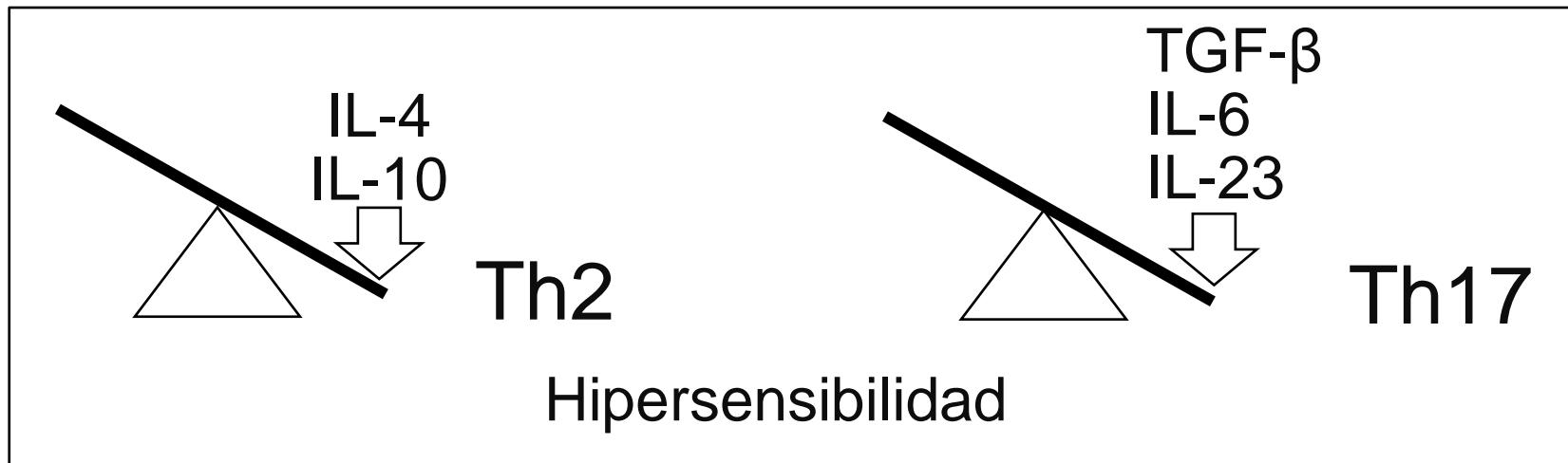
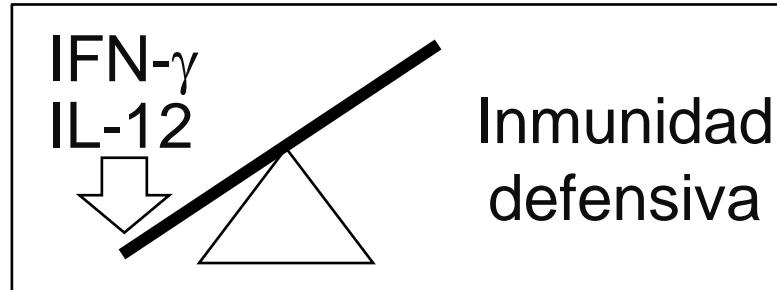
Estadío III: manifiesta IMC

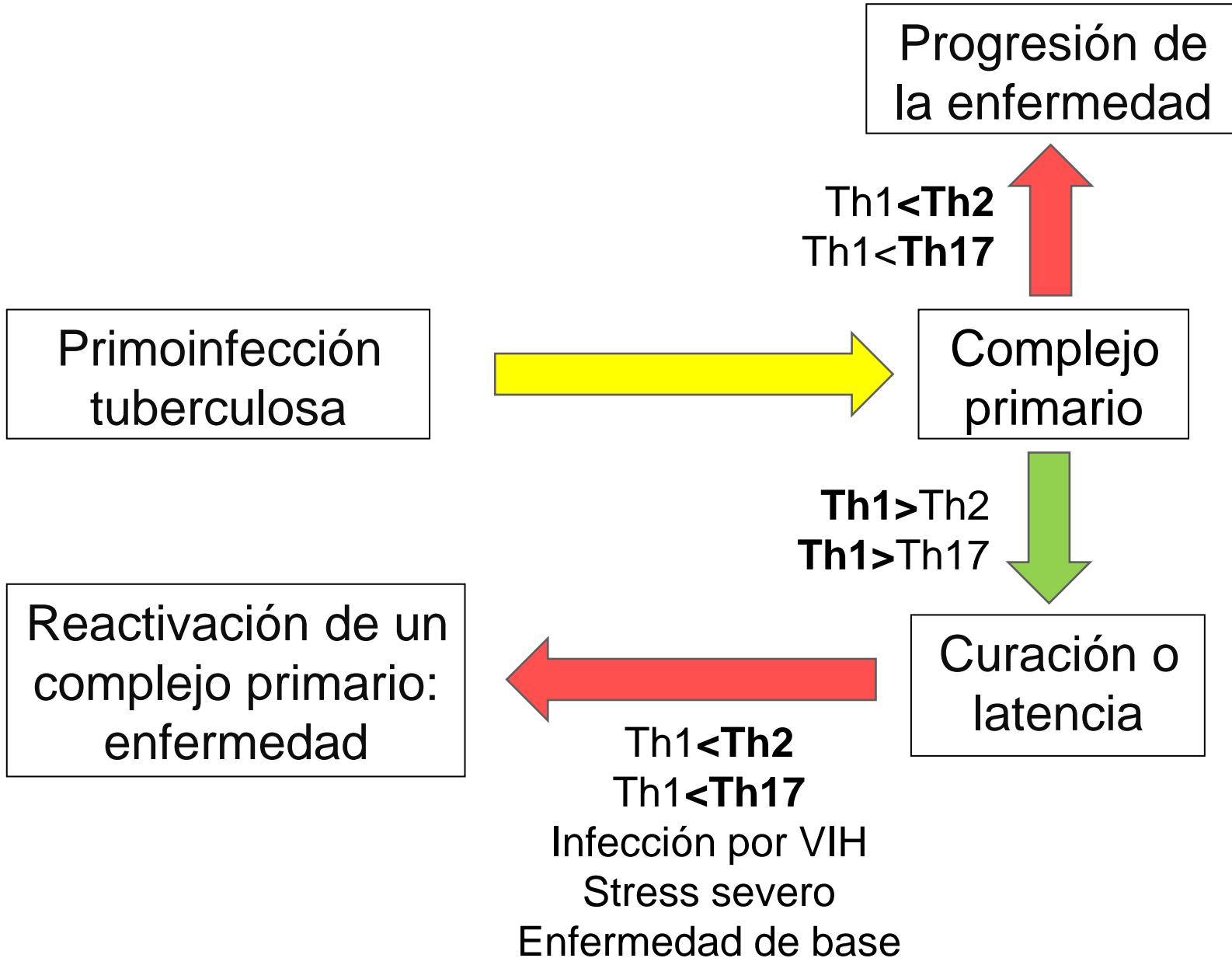


Reacción inmune adquirida intensa.
Marcada necrosis del centro de la lesión.
Degradación de micobacterias por macrófagos activados
Escape de micobacterias hacia sitios distantes.

Equilibrios inmunes en la TB

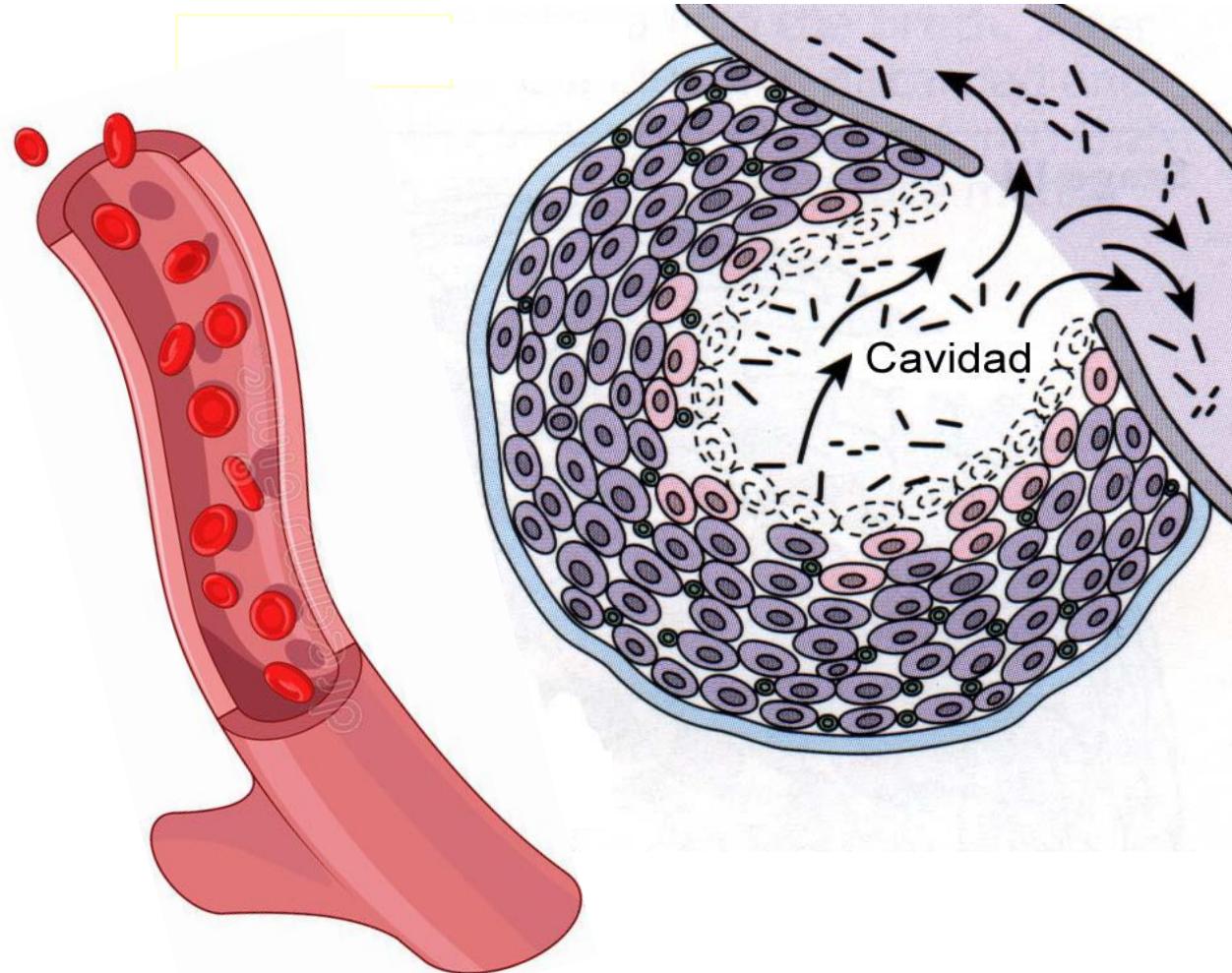
Th1 Th2 Th1 Th17





ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-DISEMINACION) > DAÑO > DESENLACE

TB: patogénesis (12 – 18 semanas)



Ruptura del tubérculo:

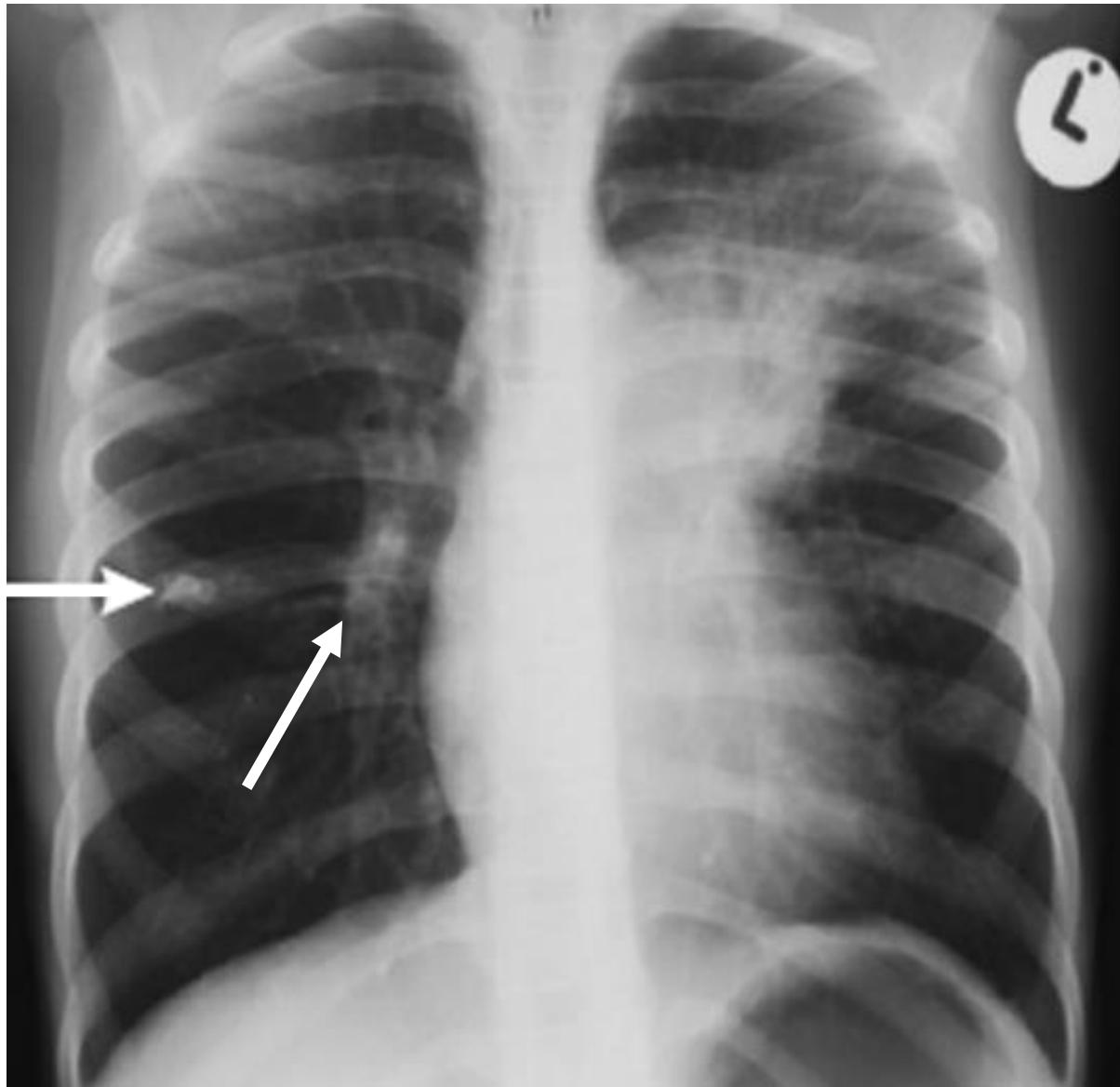
- Hacia la vía aérea: el paciente se vuelve bacilífero.
- Hacia un vaso: Puede aparecer hemóptisis.

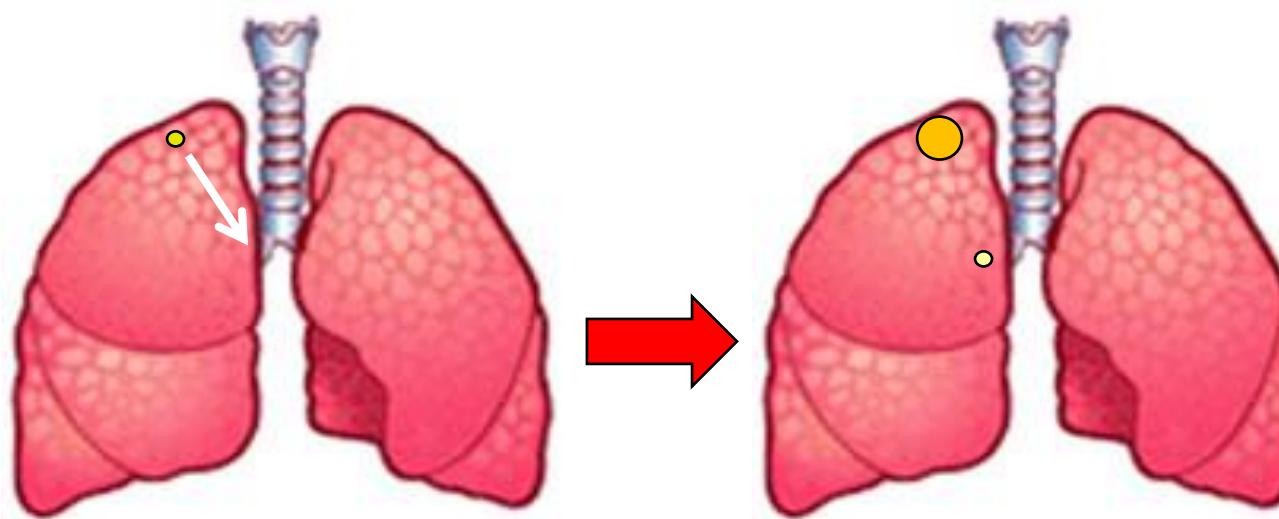
ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-DISEMINACION) > DAÑO > DESENLACE

TB: nódulos caseosos



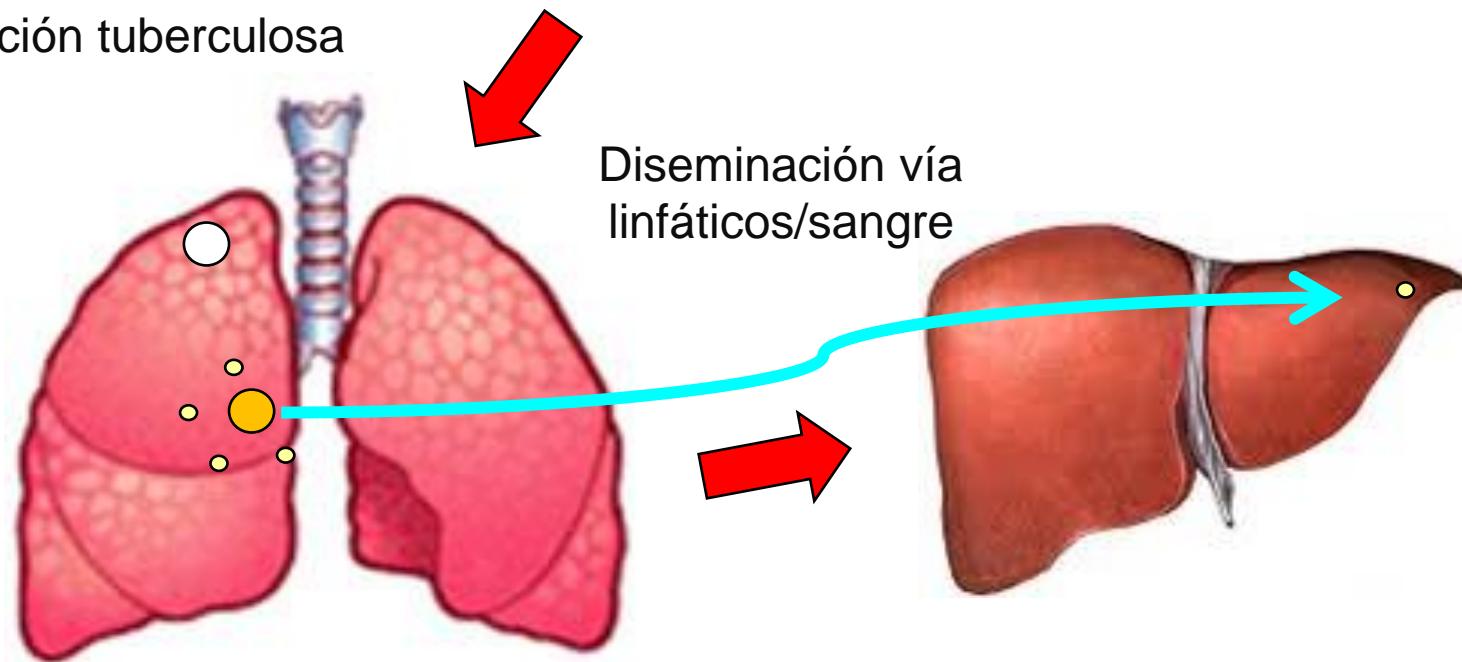
Calcificaciones pulmonares: complejo de Ghon





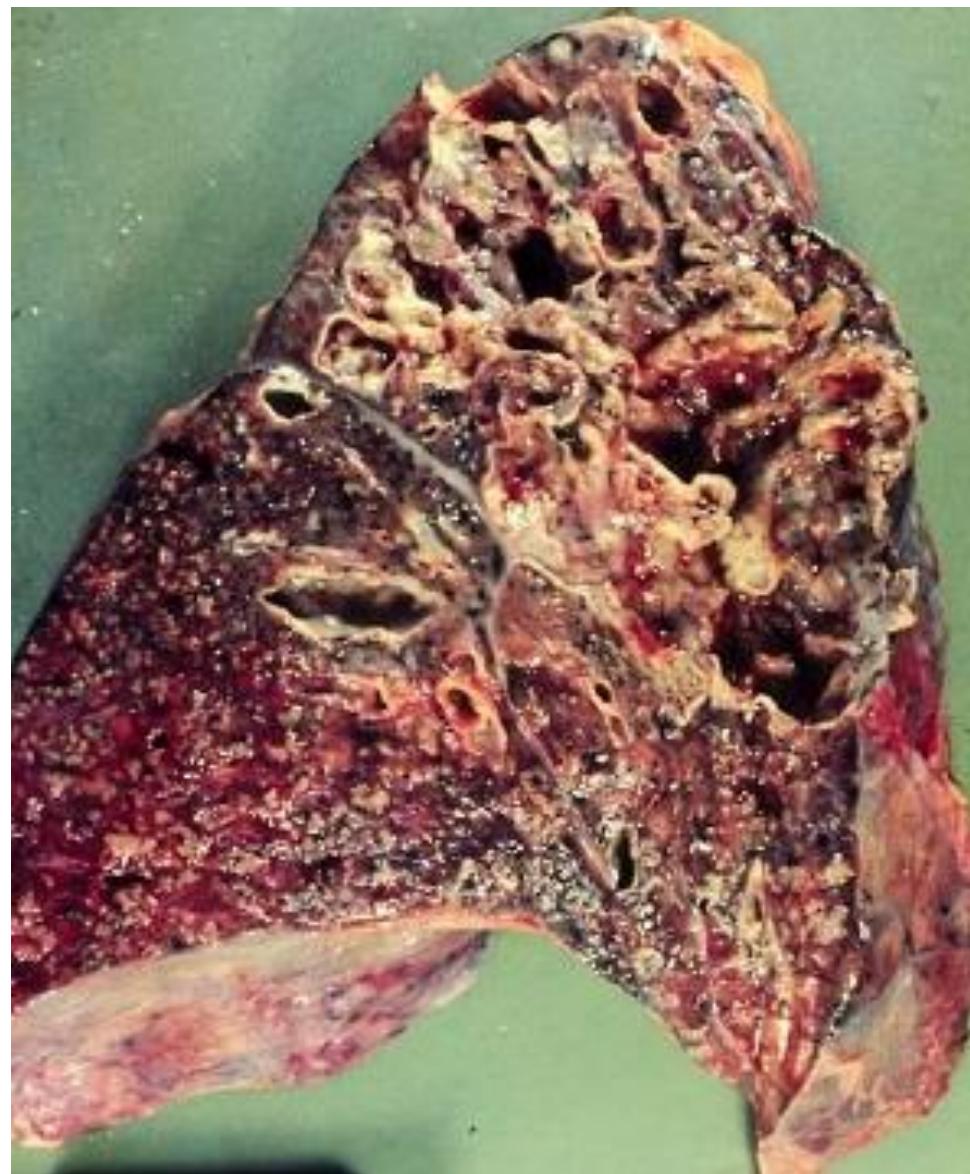
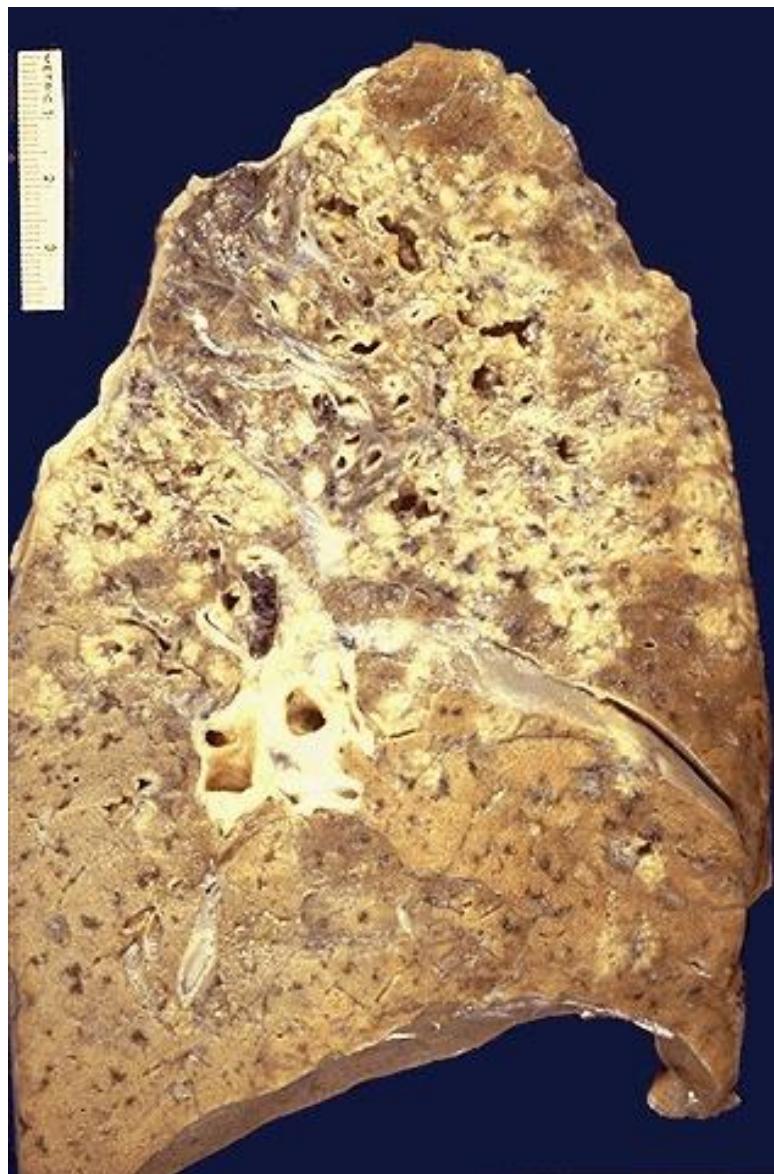
TB: Progresión de las lesiones

Fases iniciales de la infección tuberculosa



ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-DISEMINACION) > DAÑO > DESENLACE

ENCUENTRO > ENTRADA > ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-
DISEMINACION > DAÑO > **DESENLACE**



TB: necropsia



Universidad de Buenos Aires

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología Primera Cátedra



Facultad de Medicina

**Asignatura:
Microbiología y Parasitología II**

Tuberculosis (parte 3 de 4)



Dr. Daniel O. Sordelli
Profesor Titular

Contenidos parte 3

- Signos y síntomas
- Diagnóstico presuntivo
- Diagnóstico de certeza

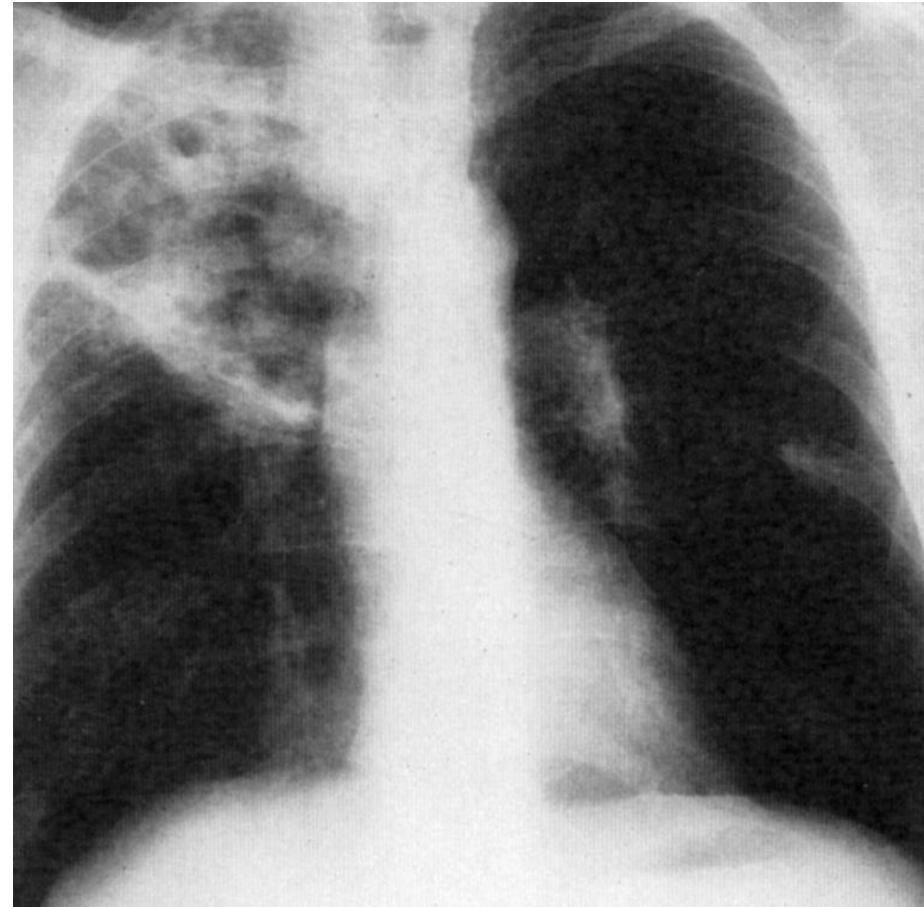
Signos y síntomas en un adulto que hacen sospechar una tuberculosis pulmonar. Bases para el diagnóstico.

➤ Anamnesis

- Bases epidemiológicas: grupos de riesgo.
- Fatiga.
- Dolor torácico.
- Sudoración nocturna (febrículas).
- Pérdida de peso.
- Tos (con o sin expectoración) (hemóptisis en los casos avanzados).

➤ Indicaciones

- Radiografía de tórax
- Toma de muestra de esputo para búsqueda de BAAR y cultivo



Diagnóstico presuntivo de la TB pulmonar: pretest clínico (PC) en un centro de mediana o alta complejidad

ALTO PC

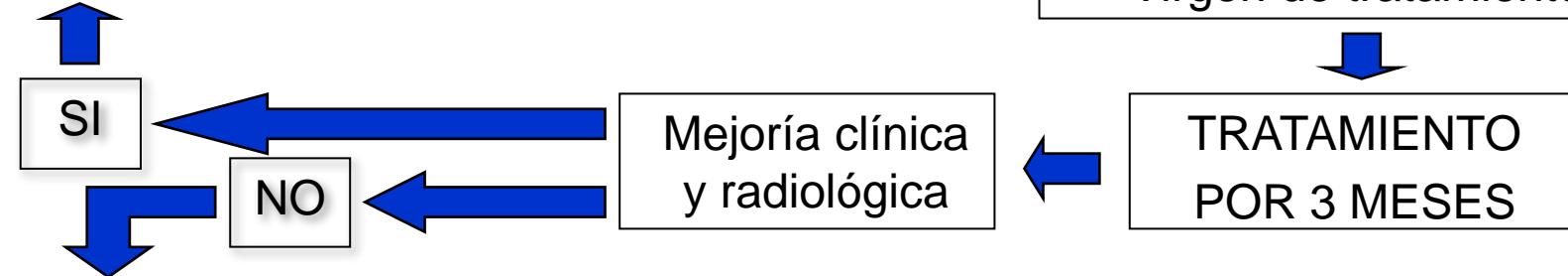
- Rx tórax típica
- ≥ 2 baciloscopías (+) (paciente bacilífero)
[Cultivo (+) para *M. tuberculosis*]

ALTO PC (TPEN)

(Tuberculosis pulmonar esputo negativo)

- Rx tórax típica
- ≥ 2 baciloscopías (-)
[Cultivo (+)]
- Edad ≤ 60 años
- Pérdida de peso ($\geq 10\%$)
- Virgen de tratamiento

TRATAMIENTO CONVENCIONAL



Reevaluación en un centro de mayor complejidad

- Rx tórax atípica
- ≥ 2 baciloscopías (-)
- VIH (+) o inmunodeficiencia

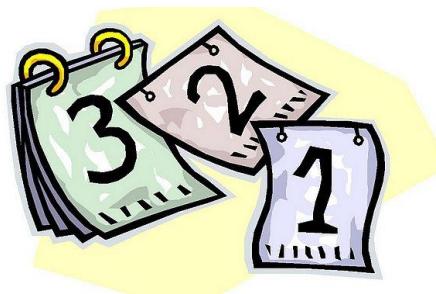
INTERMEDIO O BAJO PC

- Amplificación por PCR (esputo)
- Broncofibroscopía (BF)
- Biopsia pulmonar (si BF fue negativo)
- Otros (adenosina-deaminasa, anticuerpos séricos, prueba de PPD)

Diagnóstico de TB pulmonar en pacientes pediátricos

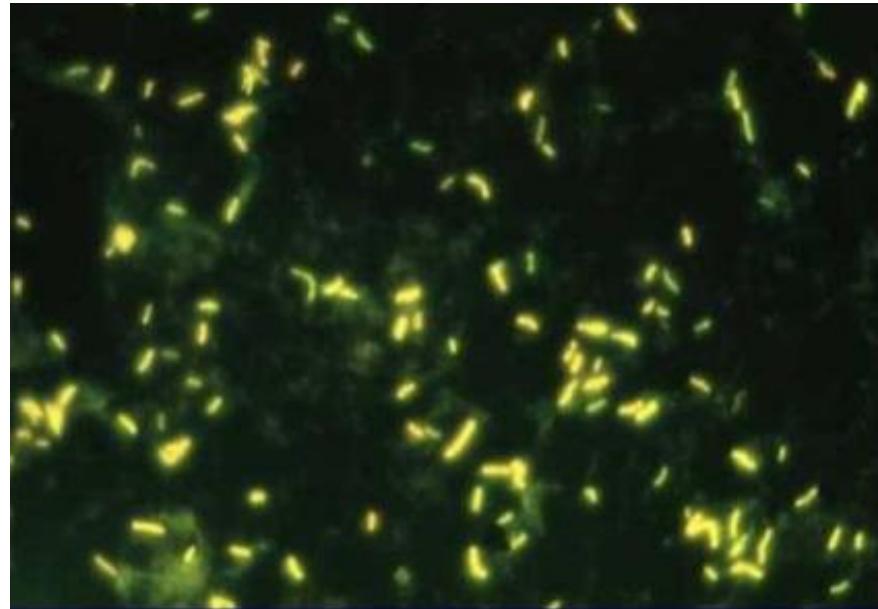
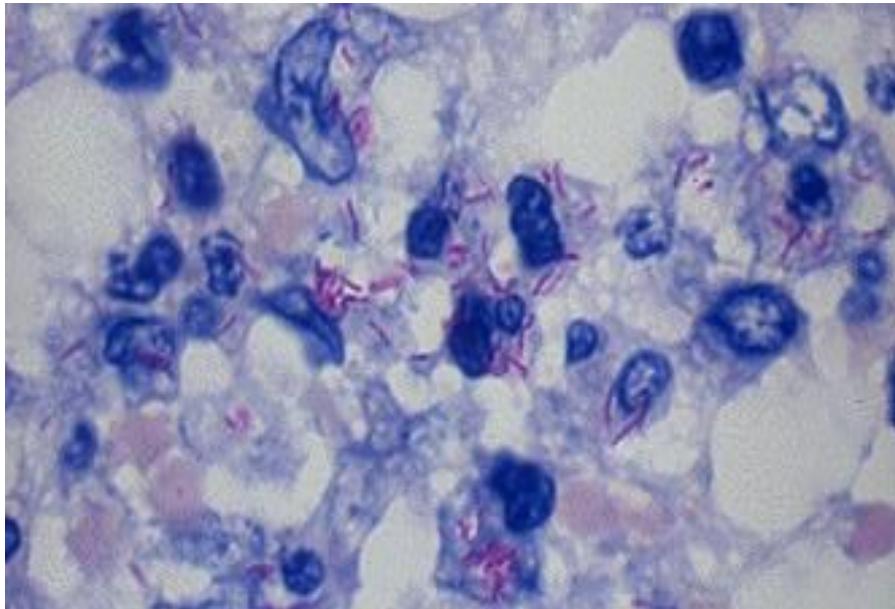
Examen directo (+) (BAAR) de los esputos o del líquido de aspiración gástrica y/o dos de los elementos siguientes:

- ✓ Antecedentes de contacto con un foco tuberculoso
- ✓ Síntomas compatibles: tos persistente mas de 2 semanas, hemóptisis, pérdida de peso, fiebre prolongada y/o anemia.
- ✓ Reacción cutánea positiva a la tuberculina
- ✓ Imágenes radiológicas compatibles con TB



- ✓ Respuesta favorable al tratamiento antituberculoso empírico (disminución de los síntomas, aumento de peso de más del 10% en 2 meses).

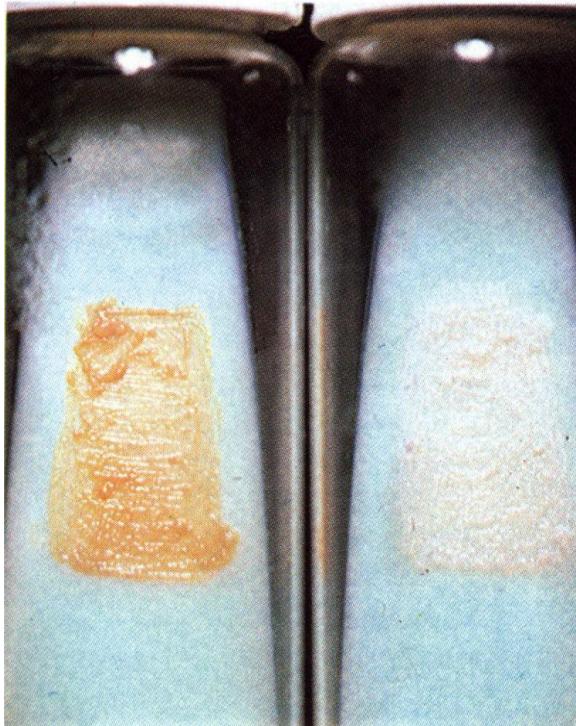
TB: diagnóstico (Laboratorio)



- Toma de muestras seriadas. En el sintomático respiratorio: 2 muestras de esputo en días sucesivos.
- Visualización:
 - BAAR mediante técnica de Ziehl-Neelsen (A)
 - Micobacterias fluorescentes por tinción con Auramina-Rodamina (B)
- Homogeneización de la muestra y cultivo

M. tuberculosis: cultivo

- ✓ Aerobios estrictos de crecimiento lento
- ✓ Micobacterias patógenas crecen mejor a 37°C.
- ✓ Medios: Lowenstein-Jensen (glicerol, almidón de papa, huevo coagulado, asparagina, verde de malaquita, sales), Stonebrink (huevo, piruvato, sales).
- ✓ Identificación de especie por pruebas bioquímicas (niacina, ureasa, reducción de nitratos, etc.)



TB: diagnóstico microbiológico

Método fluorométrico: BACTEC MGIT 960

Principio: detección de fluorescencia que emite un fluorocromo sensible al O₂. Inicialmente el O₂ disuelto en el medio de cultivo extingue la emisión de fluorescencia. A medida que la micobacteria consume O₂, se suprime la extinción (quenching) de la fluorescencia, que así puede ser detectada.



TB: diagnóstico microbiológico

Método de amplificación (Xpert MTB/RIF)

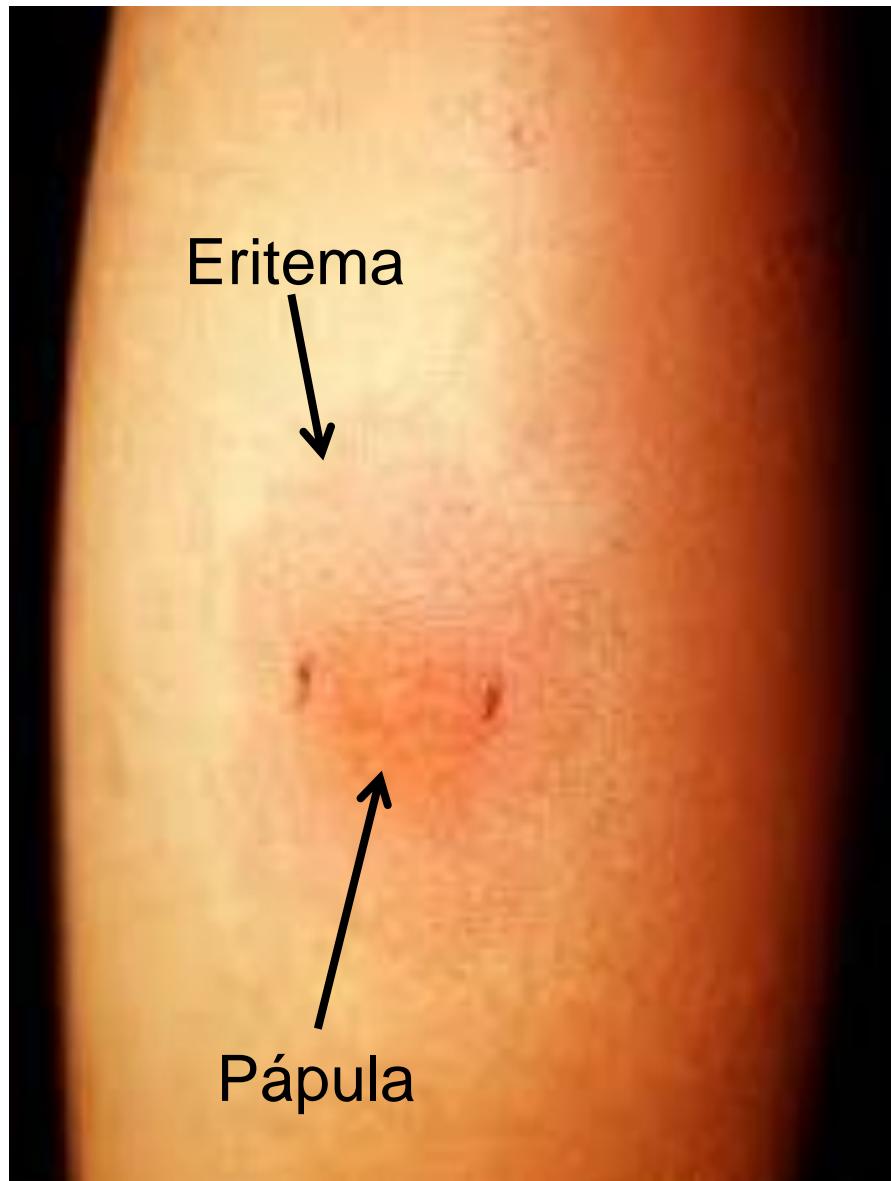
Principio: amplificación por “Real-Time” PCR de secuencias específicas de ADN de *M. tuberculosis* y del gen que codifica la resistencia a la rifampicina. Permite la obtención de resultados en 120 minutos a partir de una muestra de esputo.



M. tuberculosis: susceptibilidad a los antibióticos

- Método de las proporciones en medio de Lowenstein-Jensen (Canetti, Rist y Grosset)(obsoleto).
- Otros métodos obsoletos: método de los bacteriófagos para determinar resistencia a isoniacida y a rifampicina
- BACTEC-MGIT 960 (fluorométrico).
- Amplificación de secuencias específicas (Xpert MTB/RIF).

Evaluación de la inmunidad contra *M. tuberculosis*



Intradermorreacción con tuberculina o prueba de Mantoux

- Hipersensibilidad retardada contra *M. tuberculosis*
- PPD: Purified Protein Derivative
- En Argentina, se usa PPD (0,1 ml) con baja potencia (2 UT)
- Lectura del resultado a 48-72 hs. Reacción (+): el individuo ha sido infectado con *M. tuberculosis*
- La prueba no da indicación temporal de la infección

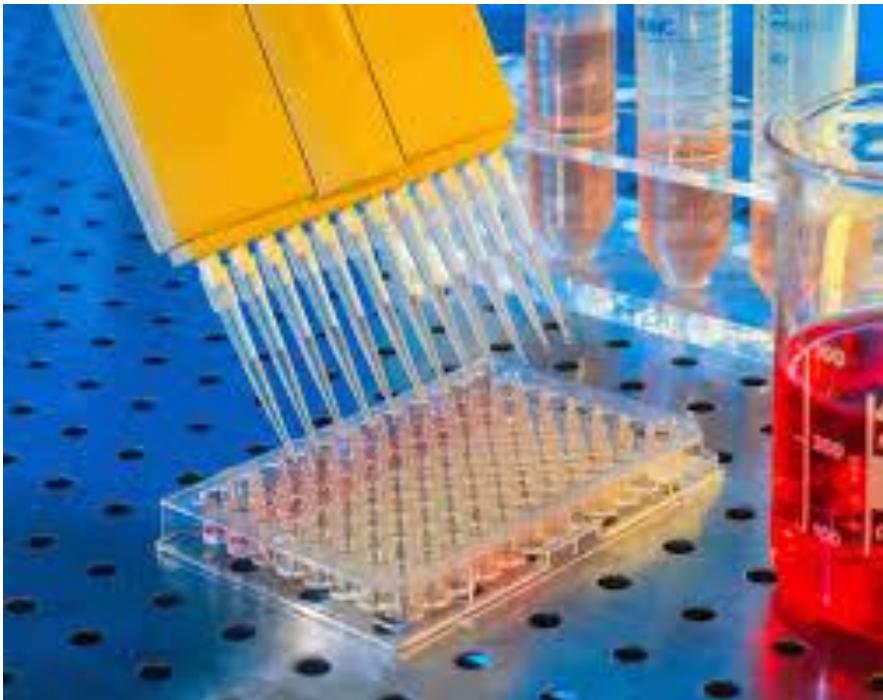
Dosaje de IFN- γ en sangre

- QantiFERON –TB Gold y T-SPOT-TB
- No distinguen TB activa
- Necesitan ser validados

Evaluación de la inmunidad contra *M. tuberculosis*

QuantiFERON-TB Gold (QIAGEN): test de dosaje de IFN- γ

Principio: se extrae sangre del paciente y se cultivan in vitro los linfocitos por 18 horas en presencia de péptidos micobacterianos (ESAT-6 y CFP-10). Luego se realiza el dosaje de IFN- γ por ELISA en los sobrenadantes de cultivo y lectura de la DO a 540 nm. AT-6 y CFP-10, 1



Evaluación de la inmunidad contra *M. tuberculosis*

T-SPOT-TB (Oxford Diagnostics): test de liberación de IFN- γ

Principio: Se cultivan los linfocitos en presencia de los péptidos micobacterianos (ESAT-6 y CFP-10). Luego se visualiza la liberación de IFN- γ alrededor de los linfocitos mediante detección visual con ELISA.

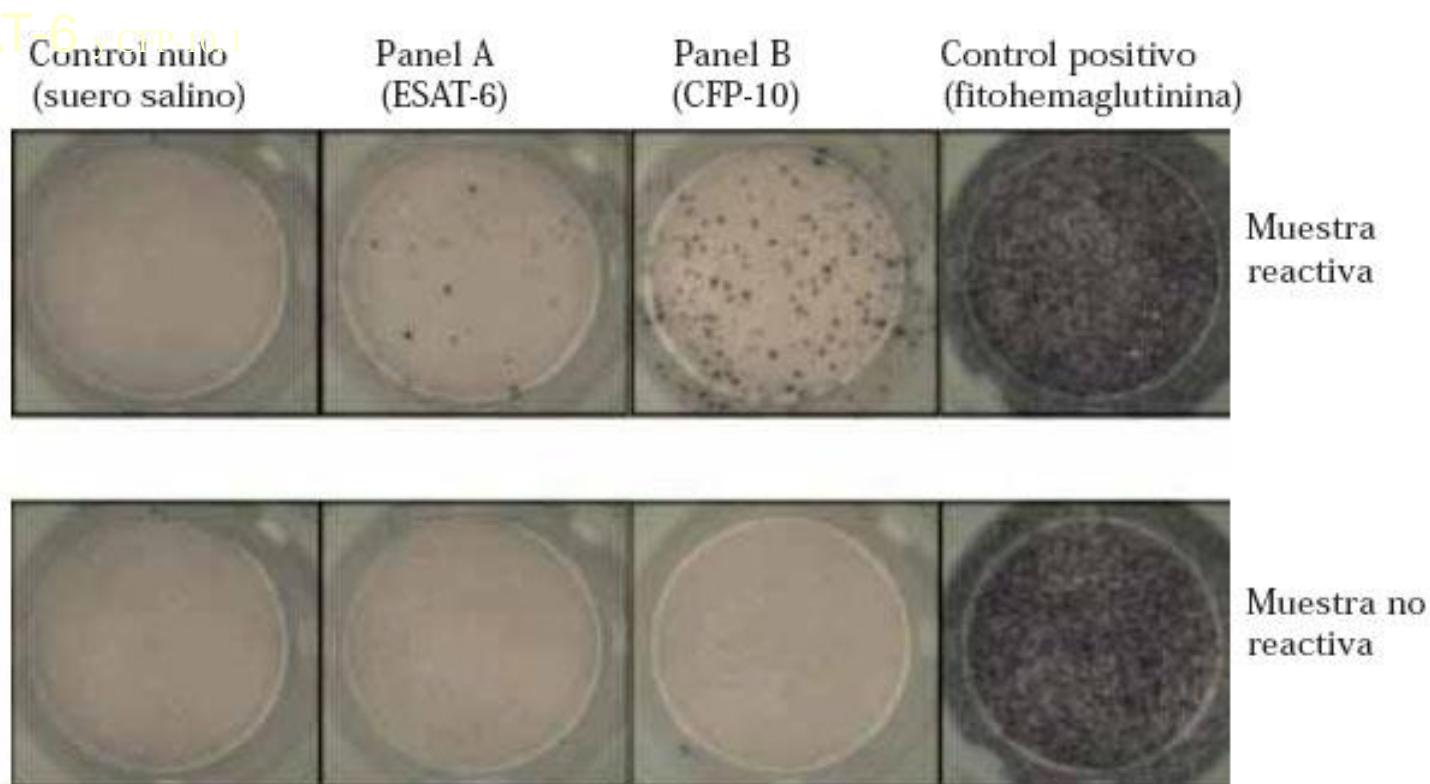


Figura 2. T-SPOT-TB. Incubación de las células mononucleares en los cuatro pocillos con los antígenos específicos.

Tomado de Cascante JA y col., Anales Sis San Navarra vol.30 supl.2 Pamplona 2007
(http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272007000400005)

Reacción (-) a la prueba de Mantoux

- No hay ni hubo infección con *M. tuberculosis*
- Individuo infectado que no ha desarrollado hipersensibilidad aún.
- Pérdida de la reacción (+) por esterilización de un antiguo complejo primario
- Enérgico tratamiento con esteroides o con inmunosupresores
- Individuo con sarampión (anergia a la PPD), o infección por VIH, o recientemente vacunado con virus atenuados (polio, sarampión).
- Pacientes con TB muy avanzada.



Universidad de Buenos Aires

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología Primera Cátedra



Facultad de Medicina

**Asignatura:
Microbiología y Parasitología II**

Tuberculosis (parte 4 de 4)



Dr. Daniel O. Sordelli
Profesor Titular

Contenidos parte 4

- Estrategia de tratamiento
- Prevención
- Micobacterias no tuberculosas

Estrategia de tratamiento de la TB con drogas antituberculosas

- Objeto: reducción de la carga micobacteriana.
- Observación: alta tasa de mutación, generación de mutantes resistentes.
- Estrategia: combinación de multiples drogas antituberculosas por períodos prolongados.
- Drogas de 1^a línea: isoniacida, rifampicina, etambutol, pirazinamida y estreptomicina (bactericidas excepto etambutol).
- Drogas de 2^a línea: cicloserina, viomicina, etionamida, ácido p-aminosalicílico, capreomicina y ciprofloxacina.
- Otras: claritromicina, para micobacterias atípicas.
- Tratamiento habitual: isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol o estreptomicina (2 meses; luego isoniacida y rifampicina (4 meses más).
- Multirresistencia: resistencia simultánea a isoniacida y rifampicina.
- (XDR-TB) «Extensively drug-resistant» TB (isoniacida, rifampicina, fluorquinolonas y un aminoglucósido).
- Tratamiento adjunto: corticoides

TB: bioseguridad y manejo del paciente

Paciente:

- Uso de barbijo
- Aislamiento
- Externación bajo tratamiento (si es posible)
- Internación hasta que no sea mas bacilífero

Personal médico y paramédico

- Uso de barbijo
- Uso de guantes
- Uso de camisolines descartables
- Residuos: bolsa roja e incineración
- Desinfección de superficies con agentes fenolados

Contactos del paciente con TB:

- Quimioprofilaxis con isoniacida

Población general:

- Vacunación con BCG

TB: prevención



Jean Marie Camille Guérin
(1872-1961)

Albert León Charles Calmette
(1863-1933)

1921: C&G lograron aislar el bacilo BCG (*Mycobacterium bovis* atenuado)

2003: Hsu T y col: delección de la región RD1 causa la atenuación del BCG por pérdida del sistema de secreción Esx-1.

- Una única aplicación dentro de los 30 días de vida
- Aplicación subcutánea produce complejo primario (= primoinfección)
- BCG despierta reacción positiva a la PPD por 3 o 4 años
- No previene totalmente la infección por micobacterias tuberculosas
- Enfermedad más leve en el niño vacunado
- La vacunación previene la meningitis tuberculosa

Mycobacterium: resistencia a agentes físicos y químicos



- Resistencia a ácidos y álcalis
 - Resistencia a la mayoría de los desinfectantes
- EXCEPTO:
- fenol
 - glutaraldehído
 - etanol al 70%
 - resistencia parcial a los hipocloritos
-
- Resisten la desecación
 - Sensibles a la luz solar

Micobacterias tuberculosas

- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Mycobacterium bovis*
- Otros *Mycobacterium*

Micobacterias NO tuberculosas (atípicas)

Clasificación de Runyon

- Crecimiento lento

> No pigmentadas o acromógenas: complejo *avium-intracellularare, terrae*, etc.

> Pigmentadas: fotocromógenas: *marinum, simiae*, etc.
escotocromógenas: *scrofulaceum, xenopi*, etc.

- Crecimiento rápido (*fortuitum, cheloneae*, etc.)

Micobacterias NO tuberculosas

- Reservorio: el medio ambiente.
- Oportunistas que desarrollan mejor por debajo de la temperatura corporal humana.
- Su presencia se diagnostica con los mismos métodos que se utilizan para las micobacterias tuberculosas.
- Alta resistencia a antibióticos y quimioterápicos.
- Alta prevalencia en pacientes con infección por VIH.
- Infección pulmonar en forma de infiltrados (micobacteriosis).
- Mal pronóstico en pacientes con SIDA.

Bibliografía

Libros de texto:

- Murray PR y col. Microbiología Médica, Capítulo 25.
Mycobacterium. Ed. Elsevier-Mosby, 6^a ed., 2014.
- Sordelli DO y col. Bacteriología Médica, Capítulos 17 y 18.
Ed. La Librería de las Ciencias, 2006.

Bibliografía especializada:

- Brian MC y col. Consenso Argentino de TB. Asoc. Arg. Med. Respir., 2009.
- Philips JA y Ernst JD. Tuberculosis pathogenesis and immunity. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 7:353-384 (2012).