

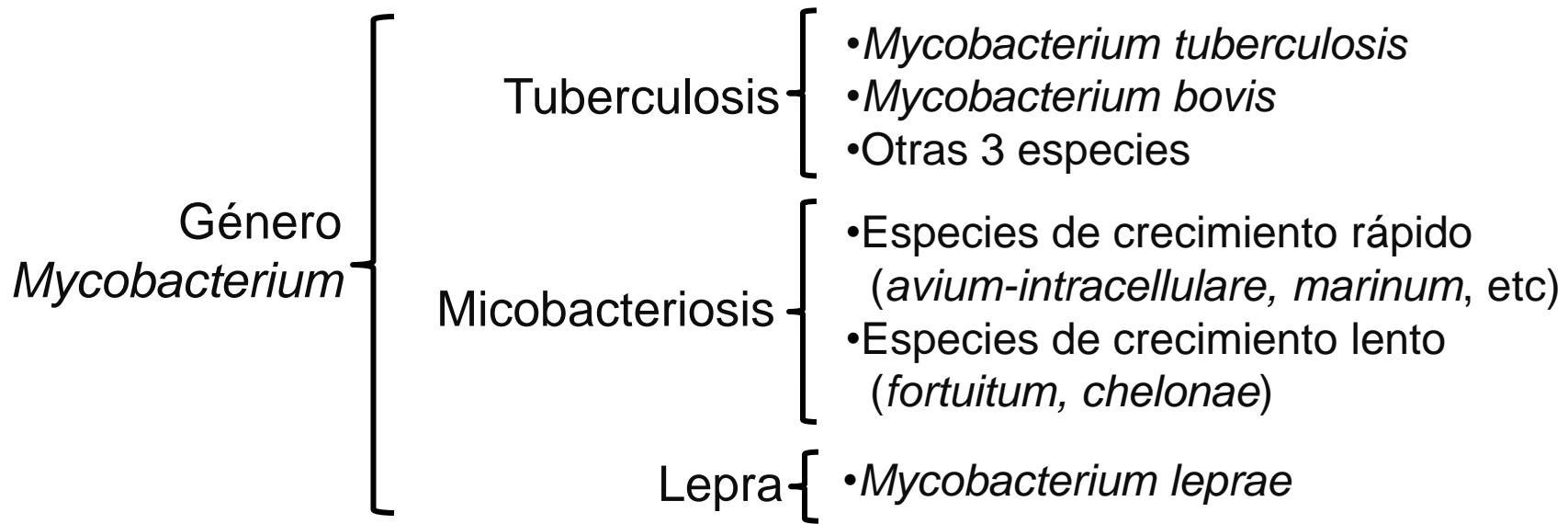
PRIMERA CATEDRA



• Fimed

Mycobacterium. Parte I: Tuberculosis

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología



Objetivo de la clase

- Describir las principales enfermedades infecciosas causadas por bacterias del género *Mycobacterium*: la tuberculosis y la lepra
- Describir las principales características epidemiológicas de la tuberculosis y de la lepra.
- Describir las estrategias diagnósticas frente a patologías en las que se sospeche una etiología asociada con bacterias del género *Mycobacterium*.



Registros prehistóricos de la enfermedad infecciosa: la tuberculosis habría atacado al hombre desde sus propios orígenes

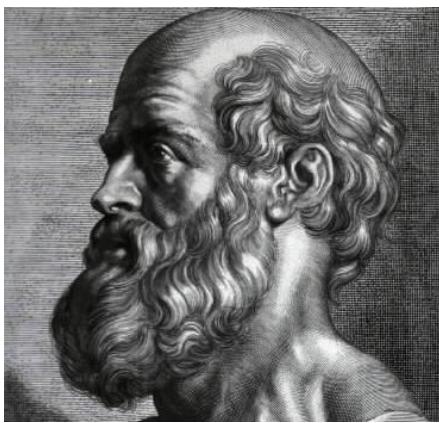
- Enfermedad de Pott en el hombre de Cro-Magnon (inicio del paleolítico superior: Holoceno -40.000/-10.000).
- Identificación de ADN de la bacteria en momias (entre 1385-1358 A.C.)



Amenhotep IV



Nefertiti



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

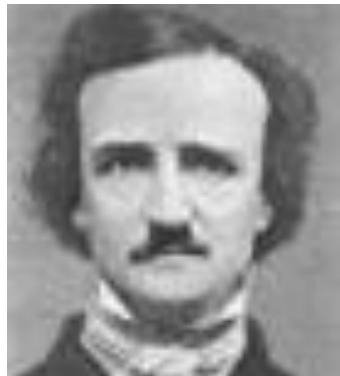


Jean-Antoine Villemin (1827-1892): en 1869 descubre la naturaleza infecciosa de la tuberculosis



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

Famosos y la tuberculosis



E. Allan Poe



F. Dostoyevsky



J.W. Goethe



Jean-Baptiste
Poquelin
(Moliere)



A. Chekhov



Franz Kafka



F. Chopin



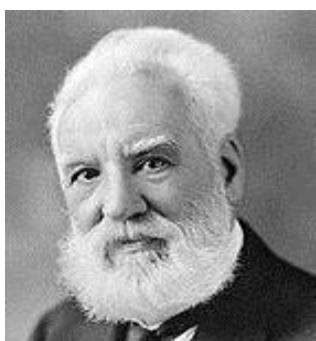
N. Paganini



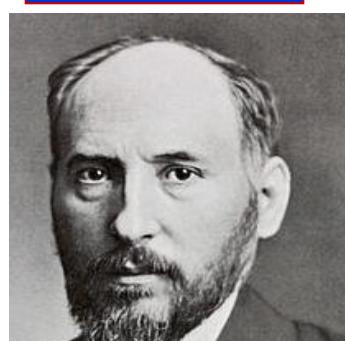
W.A. Mozart



P. Gauguin



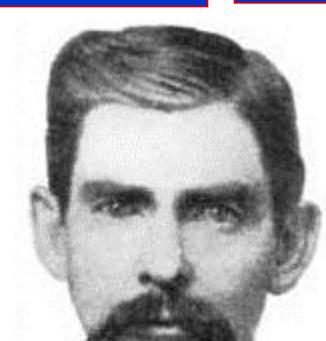
A. Graham
Bell



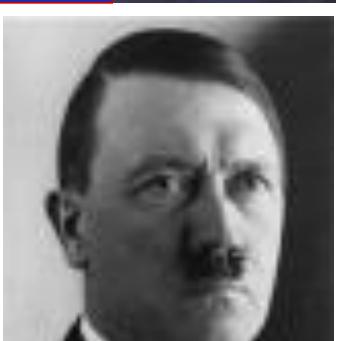
S. Ramón y
Cajal



Jean-F.
Champolion



Doc Holliday



A. Hitler

TBC: datos epidemiológicos

- Enfermedad ampliamente diseminada
- Incidencia anual mundial: 9-10 millones
- Prevalencia mundial: aprox. 30 millones
- Muertes por TBC: aprox. 2 millones al año
- De 1.500 a 2.300 millones de infectados
- Argentina: aprox. 14.000 casos al año
- 98% de los casos en países en vías de desarrollo
- 98% de las muertes en países en vías de desarrollo
- Infección concomitante con VIH

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

Tuberculosis: modos de transmisión

Menos frecuente

Sexual: **muy rara**, pero posible

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

Cutánea: a través de abrasiones o
heridas, **infrecuente**

Aerógena: la forma más frecuente



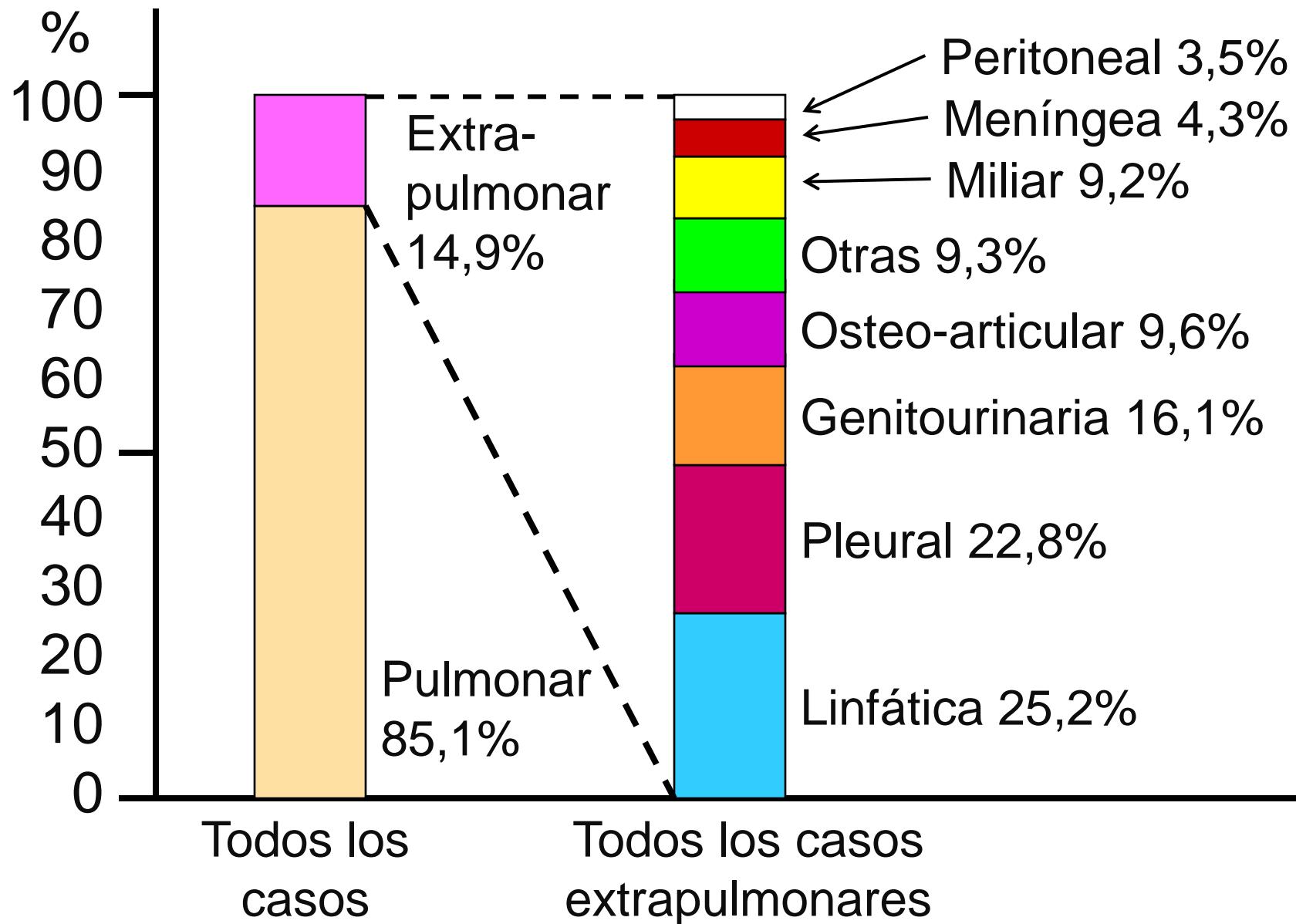
Más frecuente

Mycobacterium bovis: epidemiología

Puede ser inactivado por pasteurización
(30 minutos a 62°C o 16 segundos a 72°C)

- Tuberculosis adquirida por ingestión de leche contaminada que contiene *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* es un infrecuente agente causal de tuberculosis pulmonar (1% de todos los casos)

Tuberculosis: formas clínicas

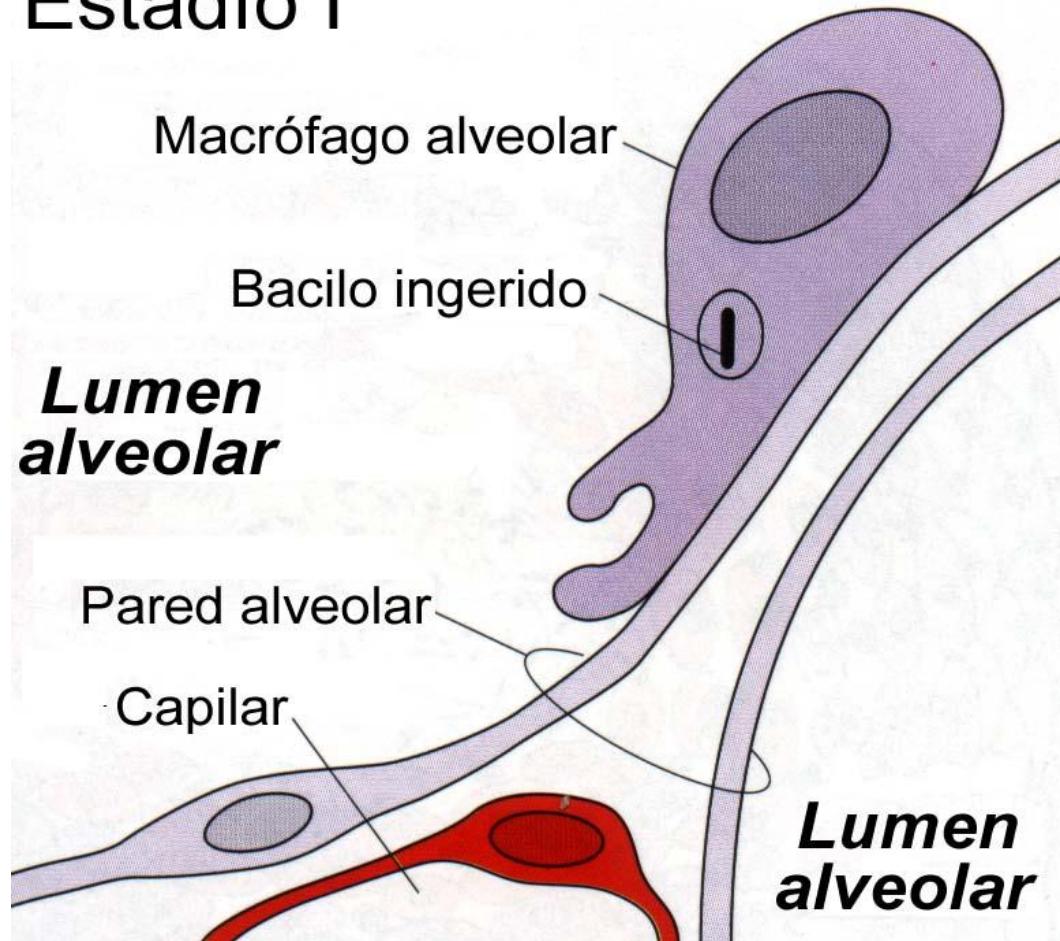


TBC pulmonar: encuentro e ingreso

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

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

Estadio I



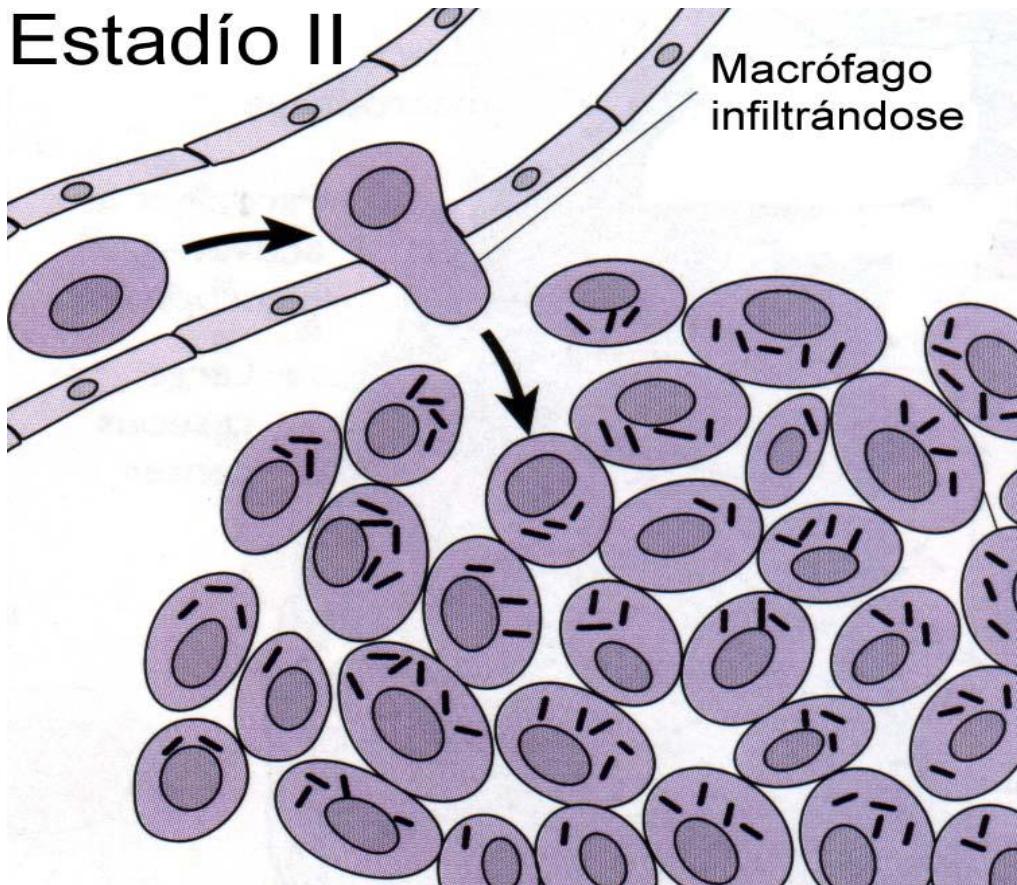
TBC:
patogénesis

0 - 3
días

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

La interacción entre ligandos (LAM, lipoproteínas) y receptores (CR1, CR3, CR4, TLR2, TLR4, receptor de manosa) permite la internalización de las micobacterias dentro de los macrófagos alveolares

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



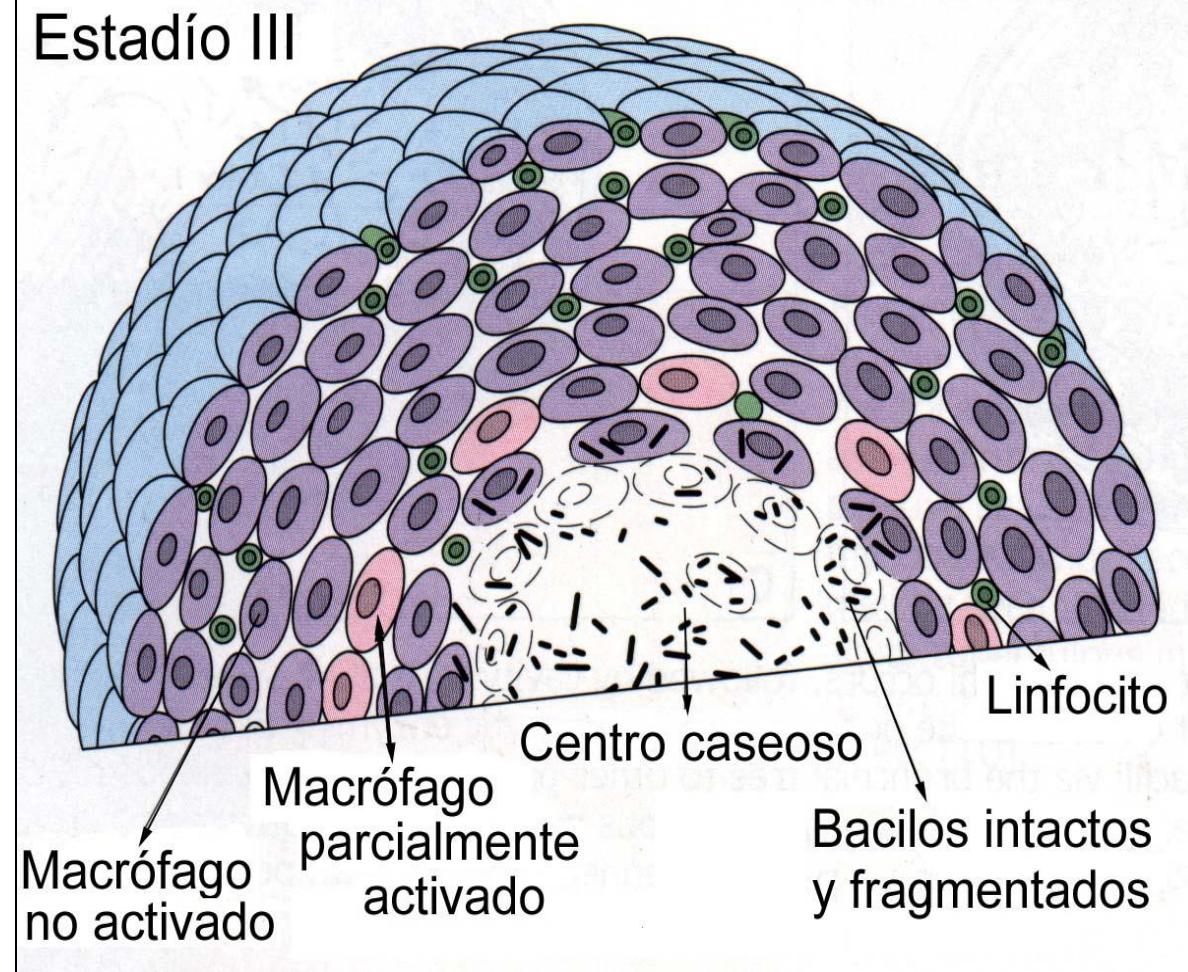
TBC:
patogénesis

3 - 5
días

La interacción del LAM con el receptor TLR2 promueve la liberación de quimiotactinas (IL-8, RANTES, MCP-1, otras) y el consecuente reclutamiento de monocitos y linfocitos y células NK. Las micobacterias se replican en el medio intracelular.

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

Estadío III

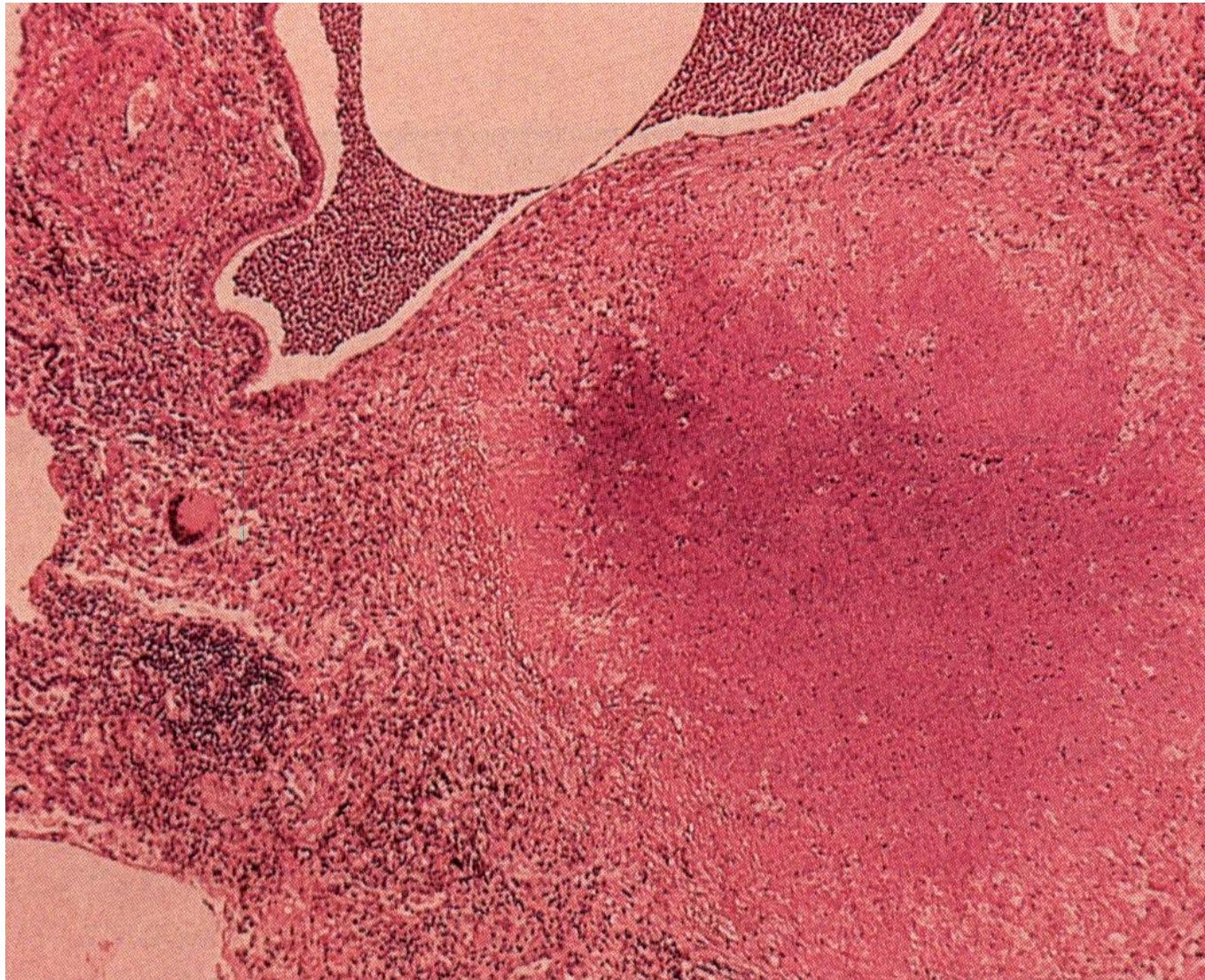


TBC:
patogénesis

5 -15
días

Destrucción de macrófagos infectados por apoptosis o citotoxicidad mediada por células NK. Las micobacterias liberadas son recaptadas. No hay activación de los macrófagos ni degradación de las micobacterias.

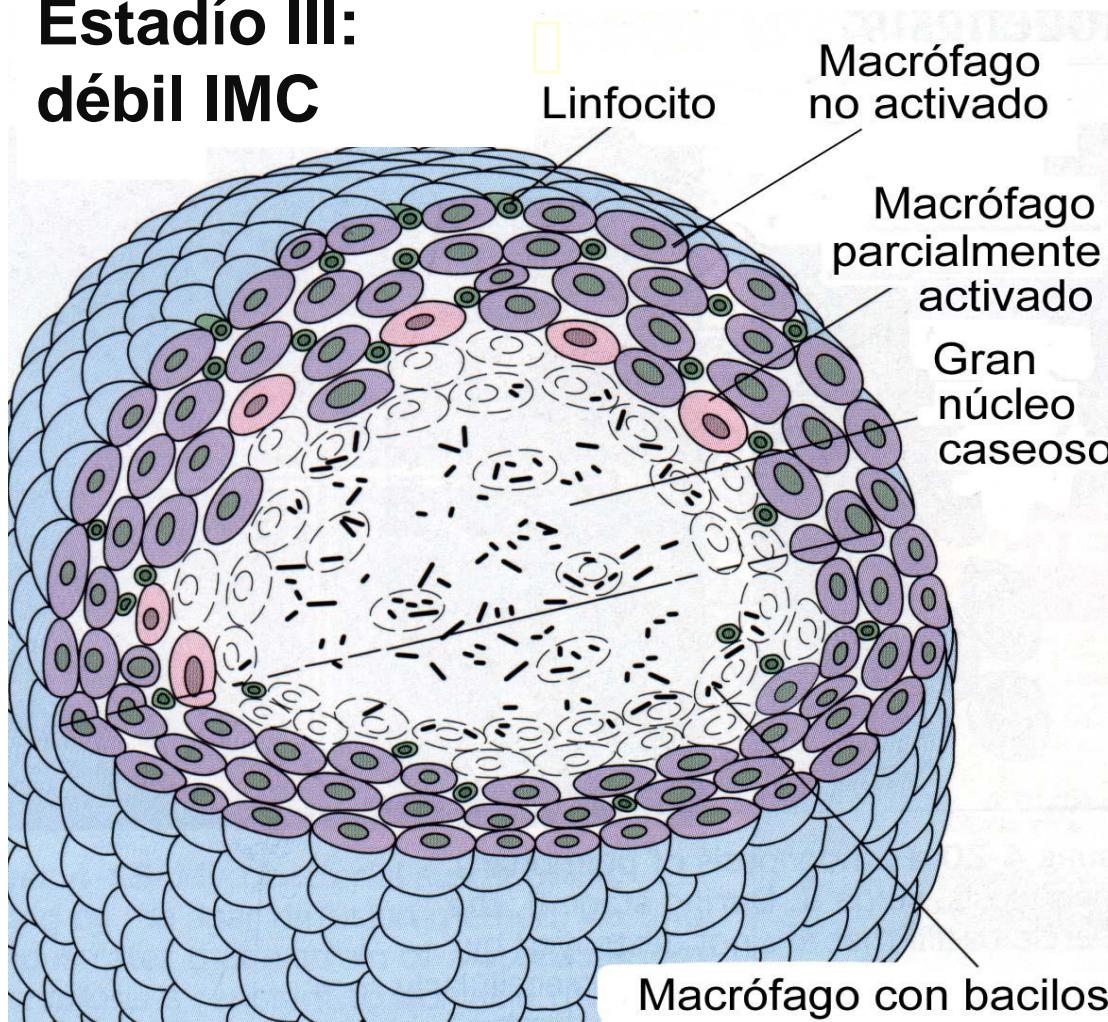
ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-MULTIPLICACION-DISEMINACION) > **DAÑO** > **DESENLACE**



Formación de un granuloma

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

Estadio III: débil IMC



TBC:
patogénesis

4 - 6
semanas

Activación de macrófagos, presentación antigenica, fusión de macrófagos mediada por ICAM-1 y otras moléculas de adhesión. Comienza el escape de micobacterias desde el granuloma.

TBC: patogénesis



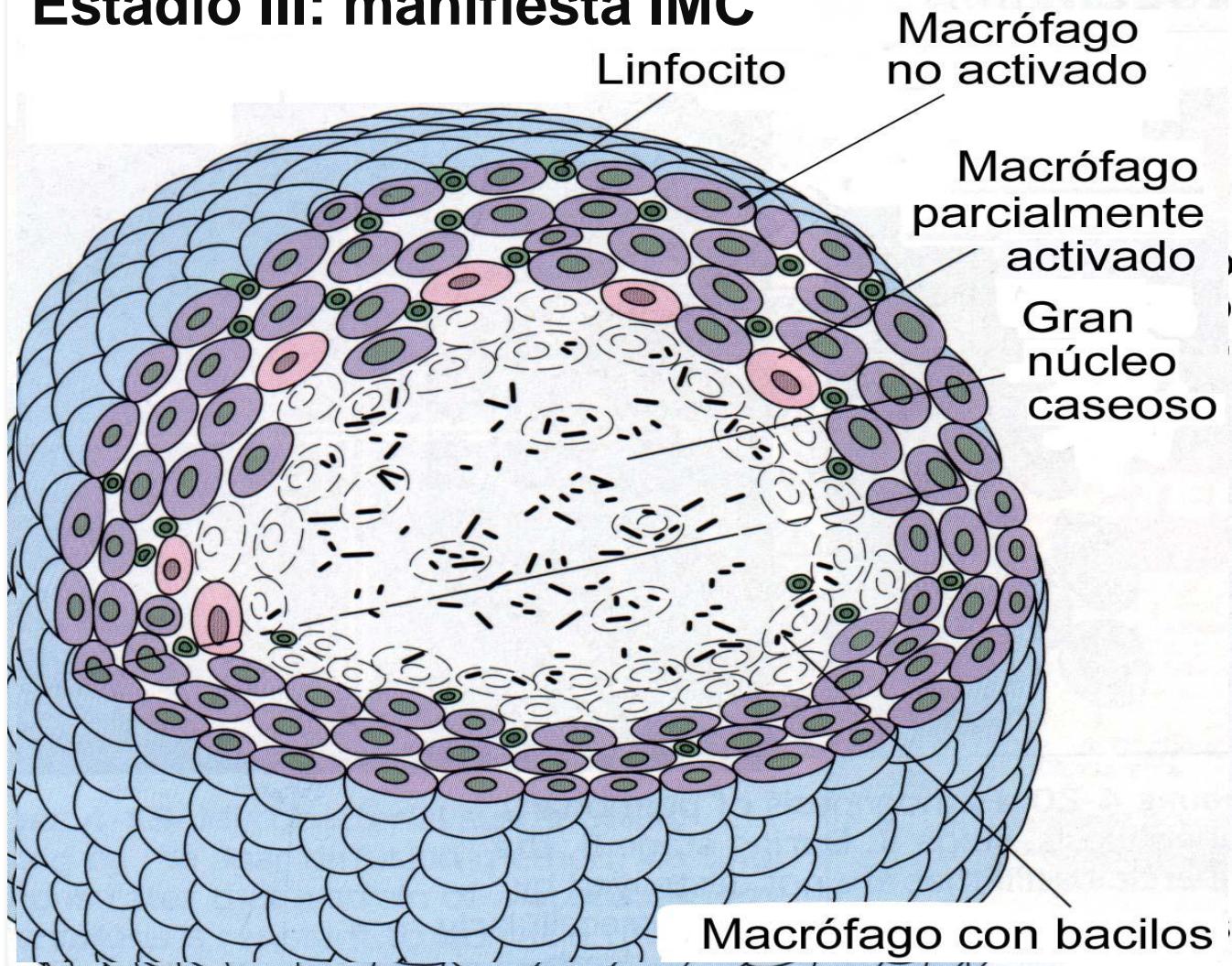
Células multinucleadas en cultivo

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

TBC:
patogénesis

6 a 9
semanas

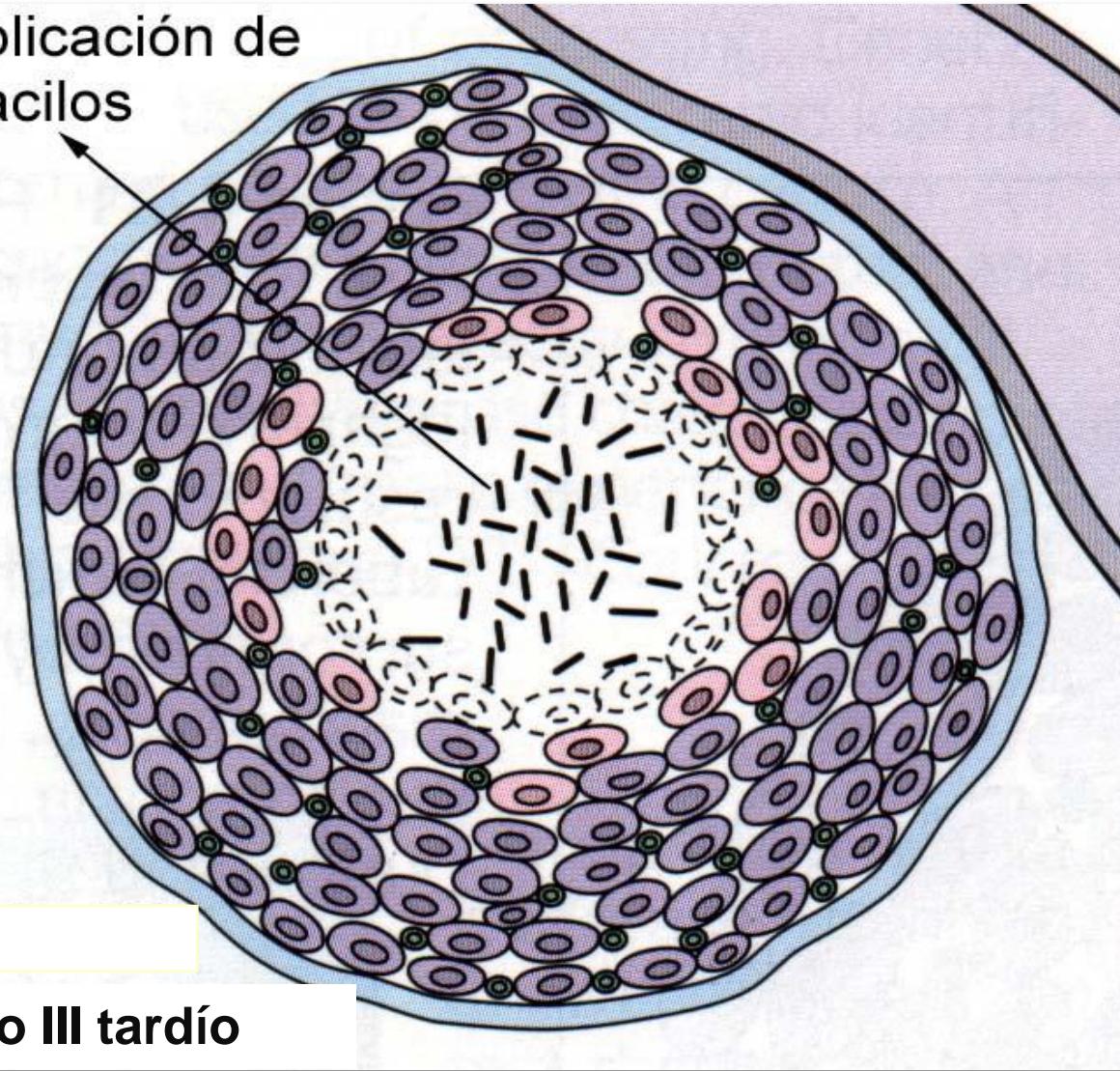
Estadio III: manifiesta IMC



Reacción inmune adquirida intensa. Necrosis del centro de la lesión. Escape de micobacterias hacia sitios distantes.

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

Multiplicación de los bacilos



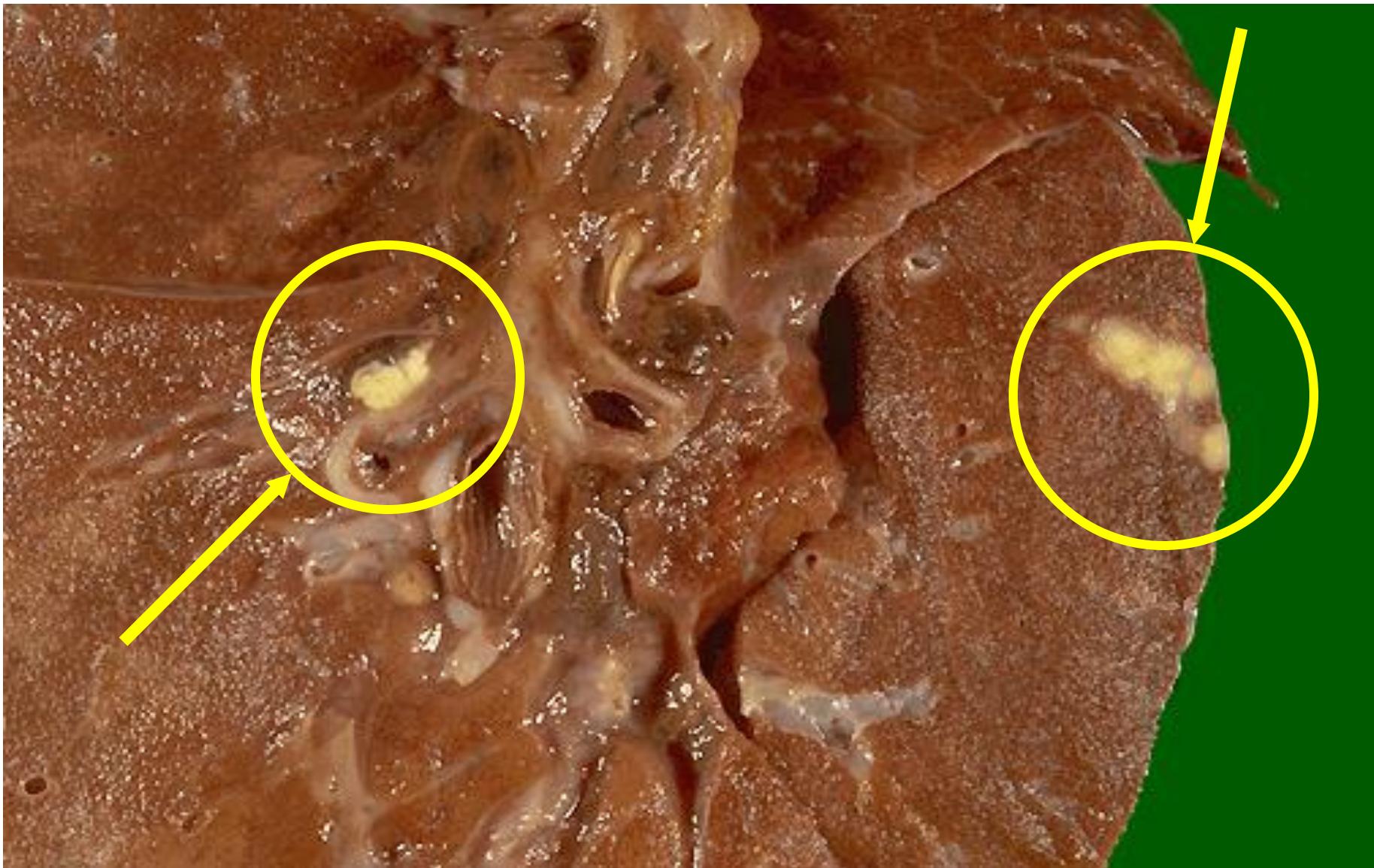
Estadío III tardío

TBC:
patogénesis
10 - 12
semanas

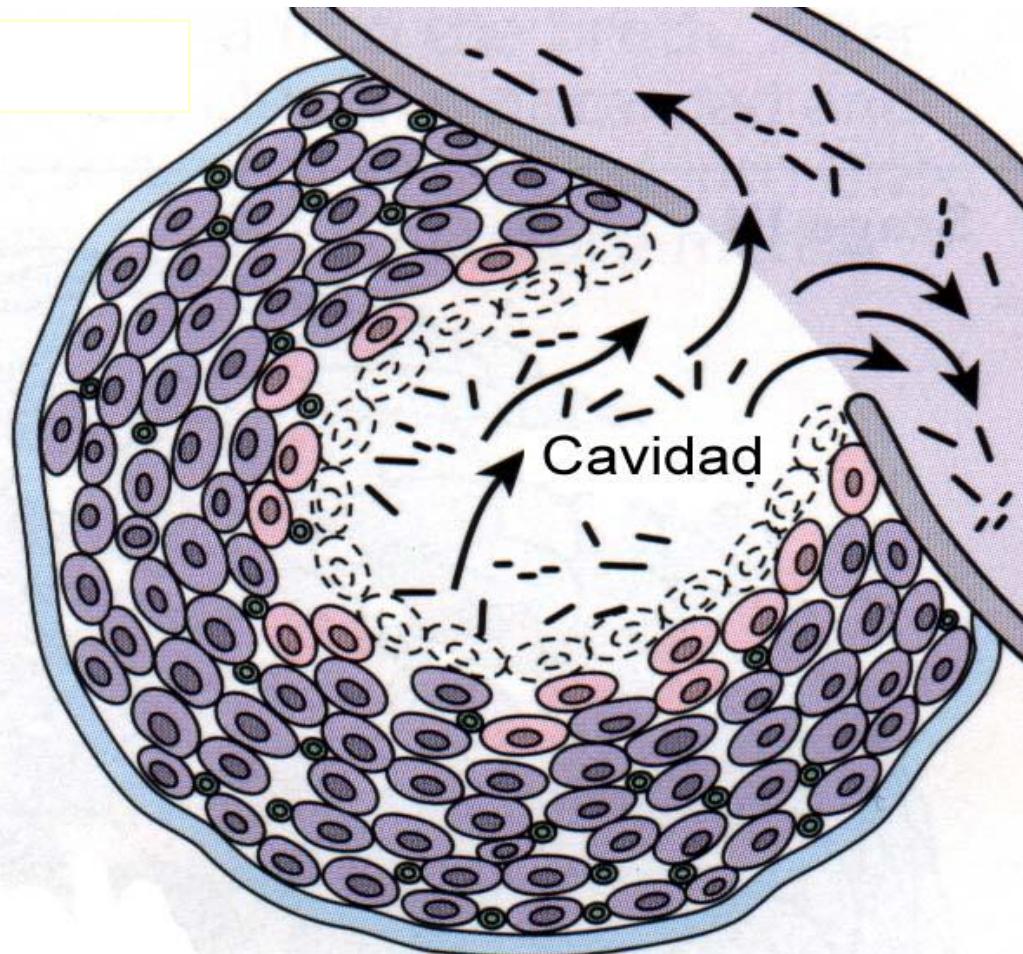
Formación del tubérculo. Necrosis caseosa. Producción de caseum.

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

TBC: nódulos caseosos



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

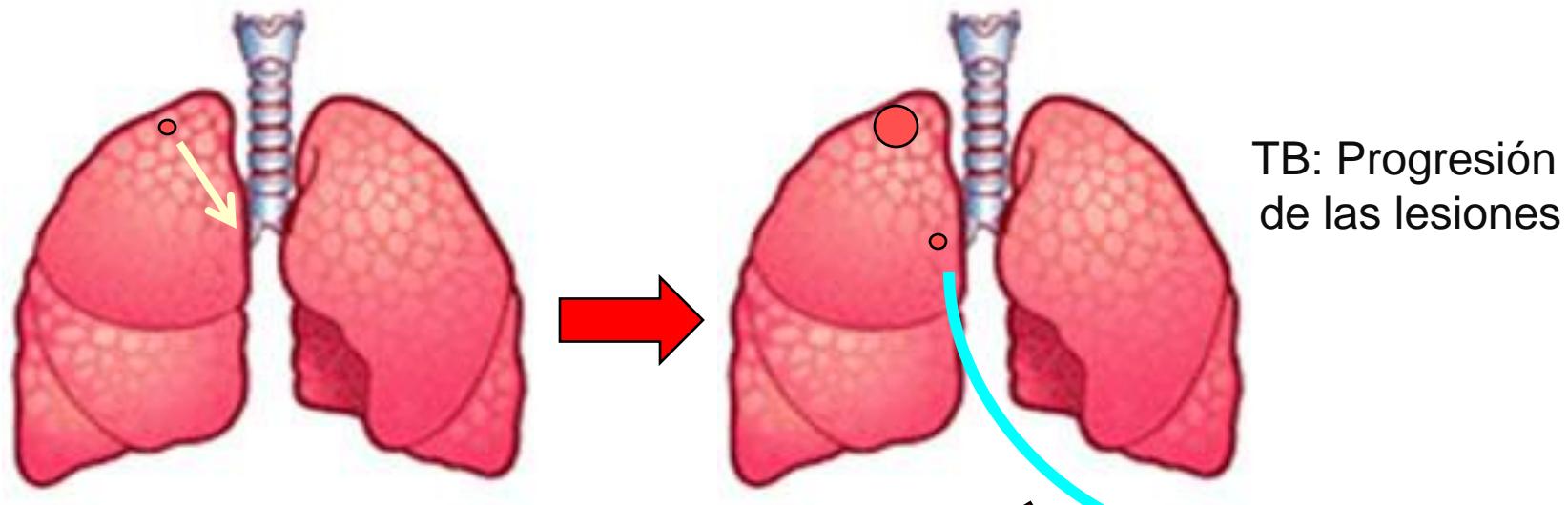


Estadío III tardío

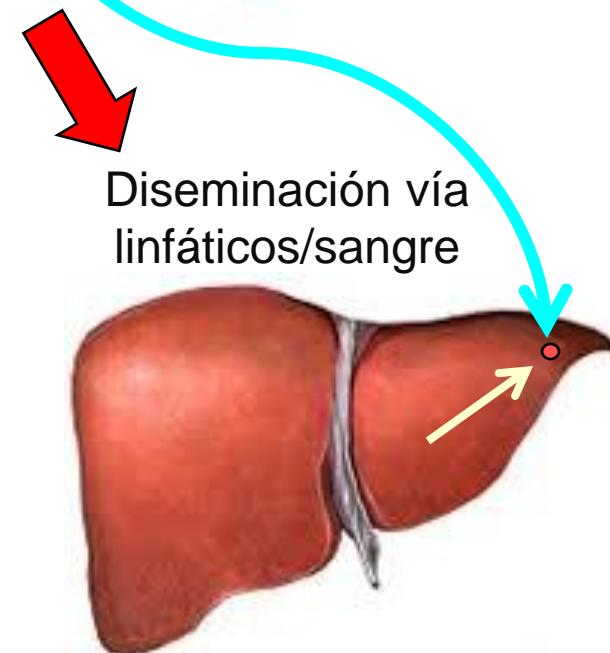
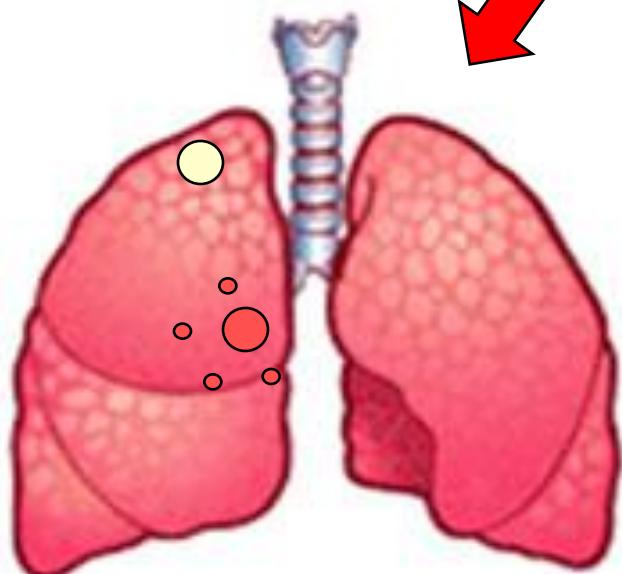
Ruptura del tubérculo.
El paciente se vuelve bacilífero.
Puede aparecer hemóptisis

TBC:
patogénesis

12-18
semanas



Fases iniciales de la
infección tuberculosa



Diseminación vía
linfáticos/sangre

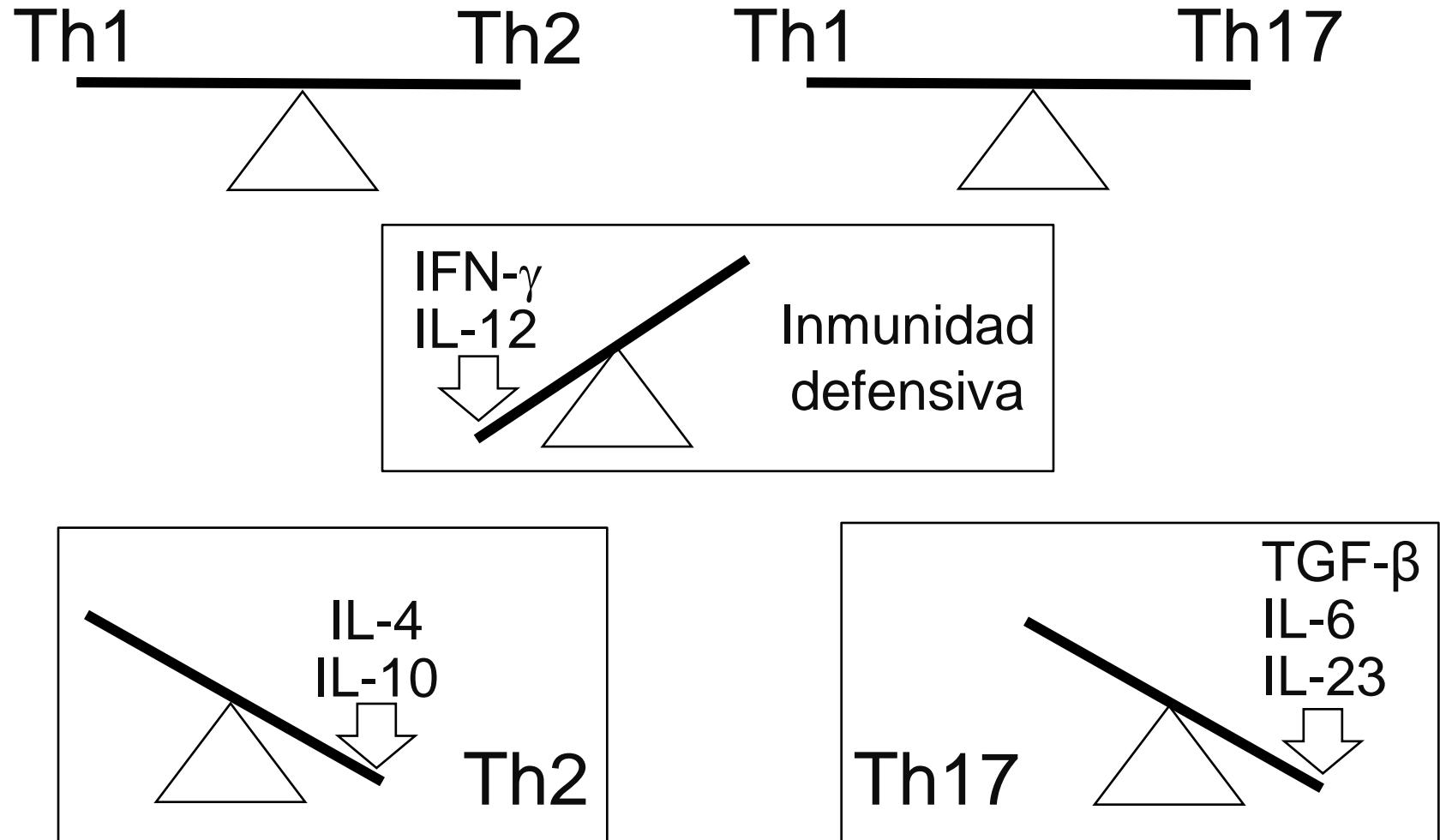
**ENCUENTRO > ENTRADA > (ESTABLECIMIENTO-
MULTIPLICACION-DISEMINACION) > DAÑO > DESENLACE**



ENCUENTRO
ENTRADA
ESTABLECIMIENTO
MULTIPLICACION
DISEMINACION
DAÑO
DESENLACE

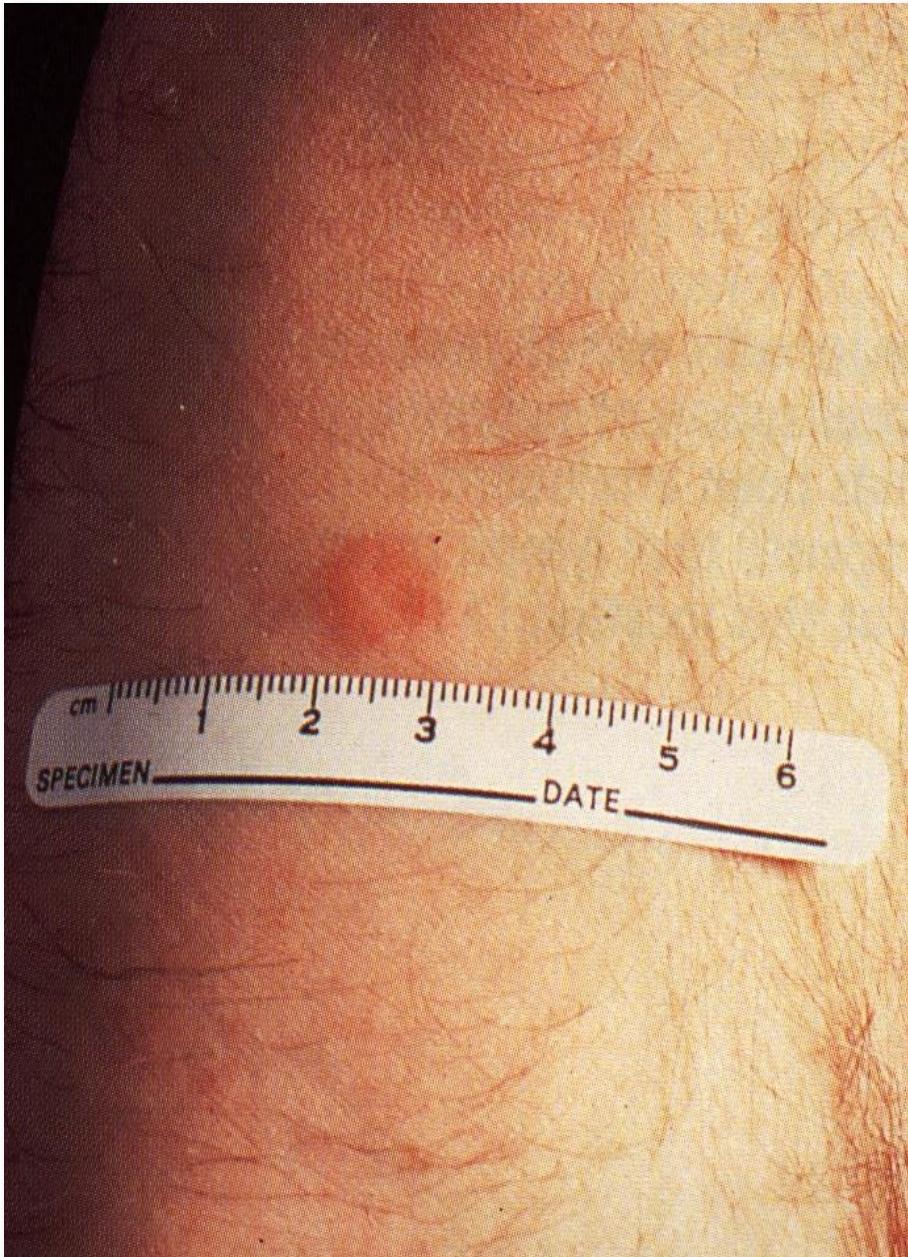
TBC:
necropsia

Equilibrios inmunes en la tuberculosis



Estimulación continua de la reacción inmune: hipersensibilidad

Evaluación de la inmunidad contra el *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

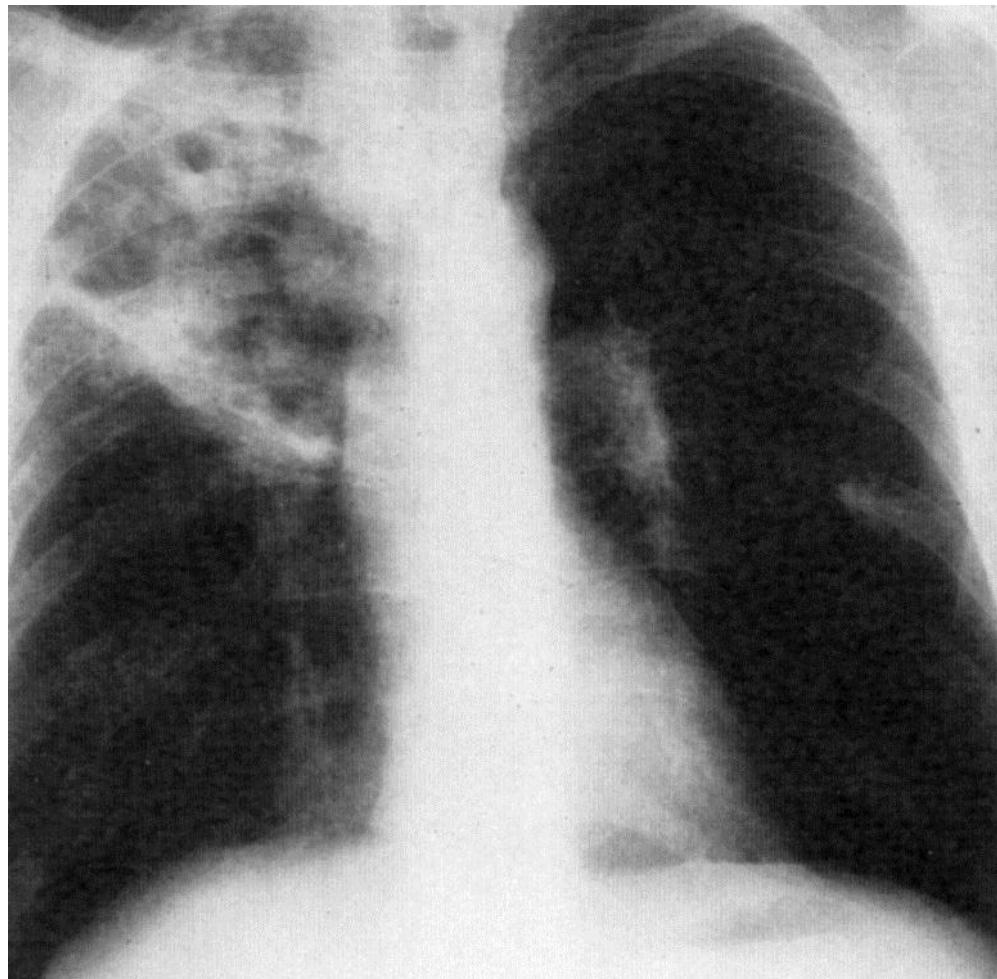
- QantiFERON –TB Gold y T-SPOT-TB
- No distinguen TB activa
- Necesitan ser validados

Reacción (-) a la prueba de Mantoux

- Individuo infectado que no ha desarrollado hipersensibilidad aún.
- No hay ni hubo infección con *M. tuberculosis*
- 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 TBC muy avanzada.

Presentación de los signos de la tuberculosis pulmonar. Bases para el diagnóstico.

- Bases epidemiológicas:
grupos de riesgo
- Tos con o sin expectoración
(hemóptisis en los casos avanzados)
- Significativa pérdida de peso
- Radiografía de tórax



Diagnóstico presuntivo de la tuberculosis 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

SI

Mejoría clínica
y radiológica

NO

TRATAMIENTO POR 3 MESES

Reevaluación en un centro de mayor complejidad

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

INTERMEDIO O BAJO PC

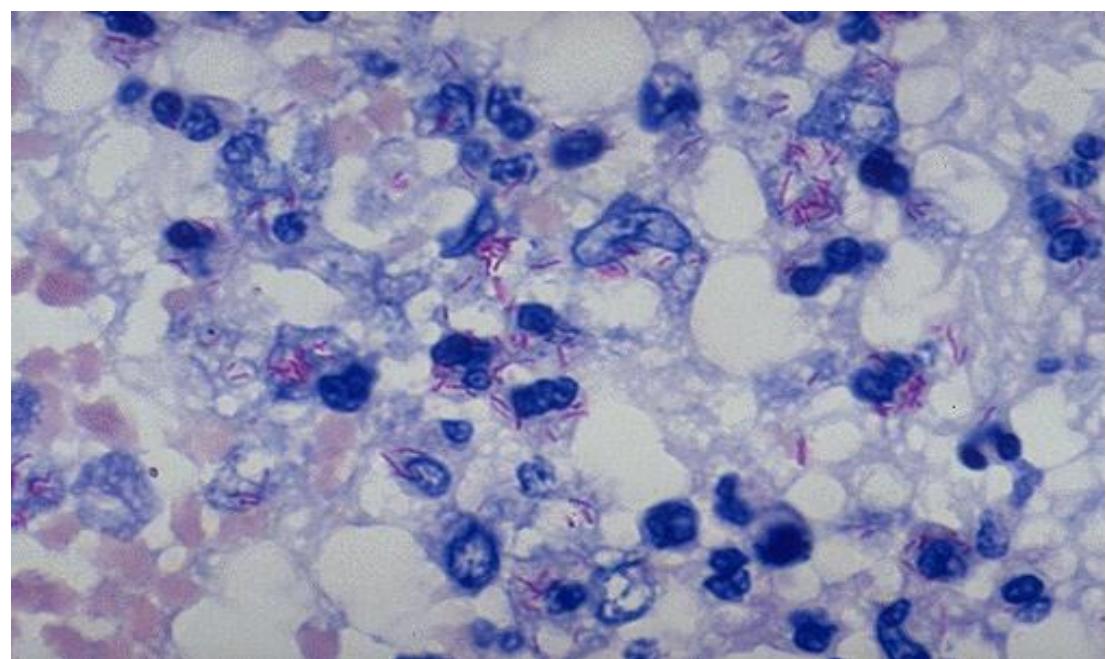
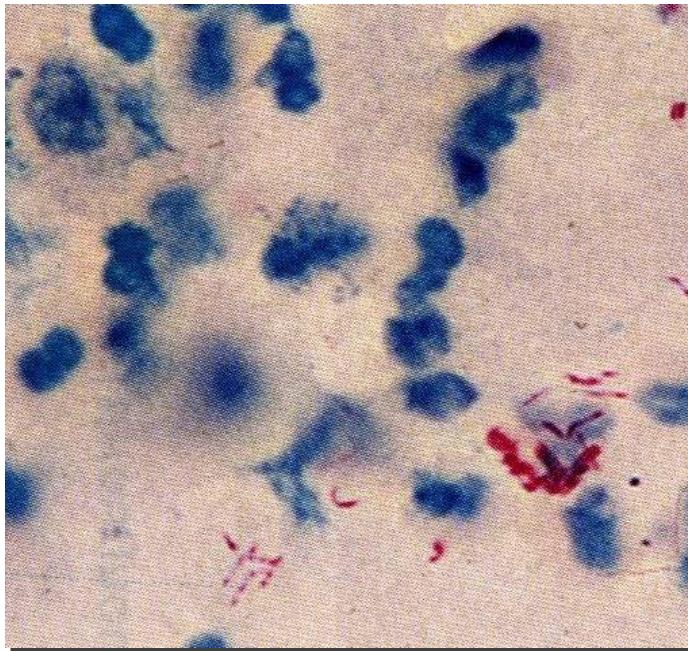
- Amplificación por PCR (esputo)
- Broncofibroscopía (BF)
- Biopsia pulmonar (si BF fue negativo)
- Otros (adenosina-deaminasa, anticuerpos séricos, prueba de PPD)

Diagnóstico de la tuberculosis pulmonar en pacientes pediátricos

Exámen 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, hemoptisis, perdida de peso, fiebre prolongada y/o anemia.
- ✓ Reacción cutánea a la tuberculina
- ✓ Imágenes radiológicas compatibles con el diagnóstico: opacidades hiliomediastinales, patrón miliar o cavitario.
- ✓ Respuesta favorable al tratamiento antituberculoso empírico (disminución de los síntomas, aumento de peso de mas del 10% en 2 meses)

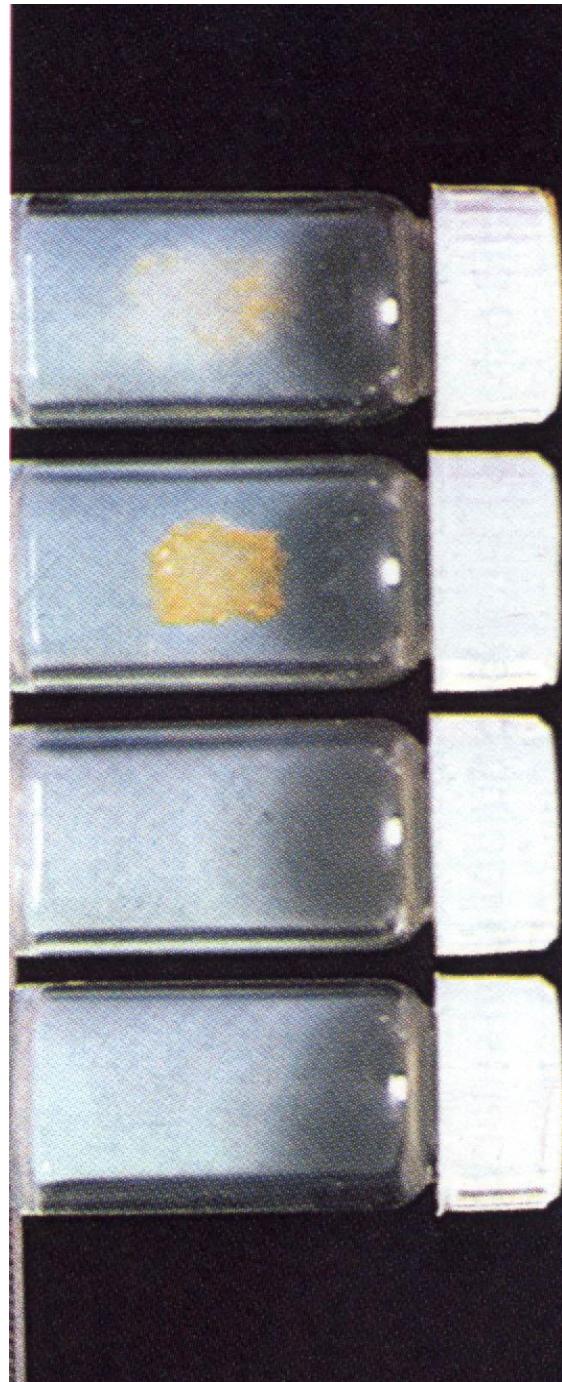
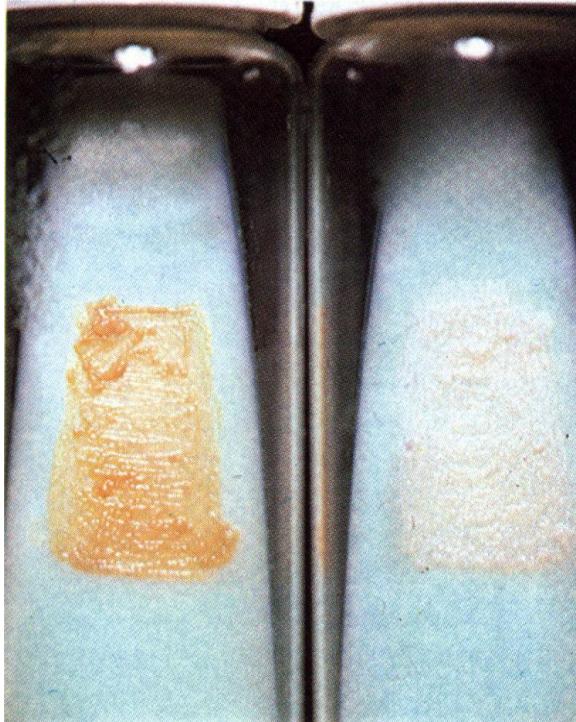
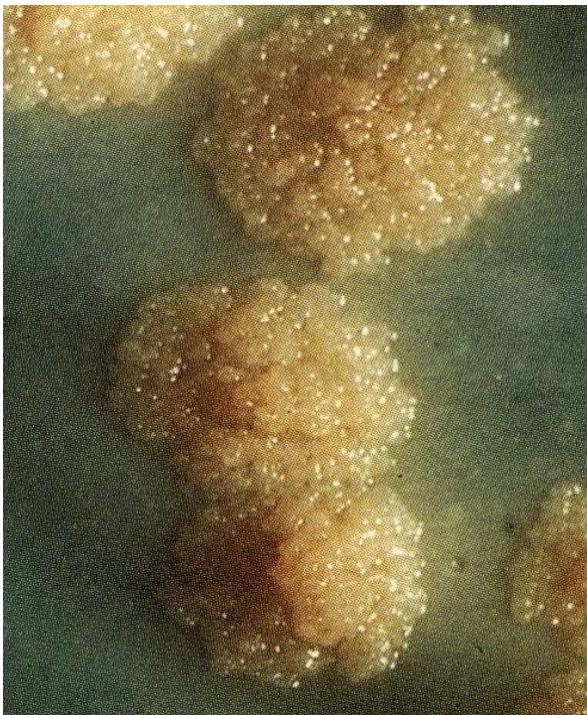
TB: diagnóstico (Laboratorio)



- Toma de muestra: esputos seriados
- Visualización de BAAR mediante la técnica de Ziehl-Neelsen
- 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 radiométrico: BACTEC 460

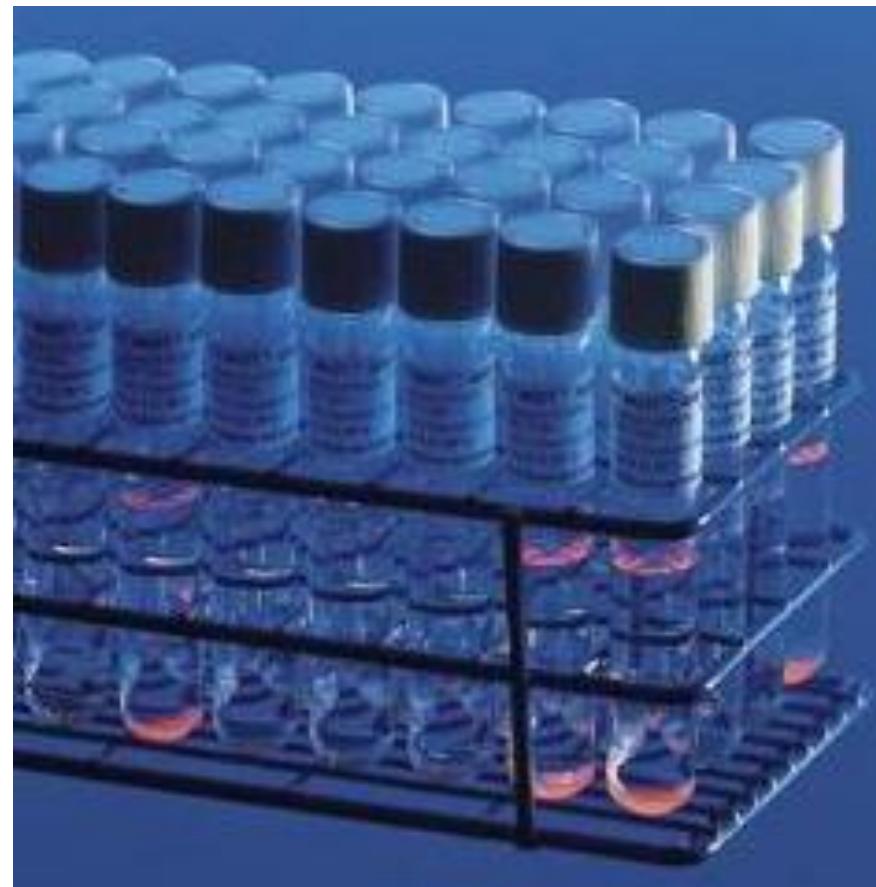
Principio: detección de $^{14}\text{CO}_2$ radioactivo que generan las micobacterias cuando consumen ácido palmítico marcado con ^{14}C .



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).
- BACTEC 460 (radiométrico).
- BACTERC-MGIT 960 (fluorométrico).
- Amplificación de secuencias específicas (Xpert MTB/RIF).
- Otros (método de la nitrasa, método de los bacteriófagos, útiles para determinar resistencia a isoniacida y a rifampicina)

TB: métodos de diagnóstico

Método de diagnóstico	Ventajas	Desventajas	Indicaciones
Baciloscopía	<ul style="list-style-type: none"> •Simple. •Rápido. •Accesible. •Económico 	<ul style="list-style-type: none"> •Poco sensible. •No diferencia <i>M. tuberculosis</i> de otras micobacterias 	<ul style="list-style-type: none"> •Primera herramienta para investigar sintomáticos. •Monitoreo de tratamiento de los casos pulmonares.
Cultivo	<ul style="list-style-type: none"> •Más sensible que la baciloscopía •Diferencia <i>M. tuberculosis</i> de otras micobacterias. •Permite realizar prueba de sensibilidad a ATBs 	<ul style="list-style-type: none"> •Requiere mayor equipamiento y bioseguridad 	<ul style="list-style-type: none"> •Retratamientos. •Niños •Pacientes HIV (+) •Patología extrapulmonar. •Monitoreo de tratamiento cuando negativiza la baciloscopía. •Expuestos a <i>M. tuberculosis</i> multirresistente.
Cultivo en medios sólidos	<ul style="list-style-type: none"> •Económico 	<ul style="list-style-type: none"> •Resultados en 20-60 días 	<ul style="list-style-type: none"> •Todos los casos en lo que está indicado el cultivo
En medios líquidos con lectura automatizada	<ul style="list-style-type: none"> •Resultados en 7-30 días 	<ul style="list-style-type: none"> •Elevado costo •Mayor contaminación 	<ul style="list-style-type: none"> •Pacientes HIV (+) •Patología extrapulmonar grave o diseminada.
Radiométrico BACTEC 460	<ul style="list-style-type: none"> •Muy preciso. •Validado. 	<ul style="list-style-type: none"> •Usa radiactivos •Alta demanda de personal 	
Fluorométrico BACTEC 960 9000	<ul style="list-style-type: none"> •No utiliza radiactivos •Lectura automática 		
Colorimétrico MBACT		<ul style="list-style-type: none"> •Prueba de sensibilidad no validada. 	

TB: métodos de diagnóstico (continuación)

Método de diagnóstico	Ventajas	Desventajas	Indicaciones
Amplificación de ácidos nucleicos (RT-PCR)	<ul style="list-style-type: none"> • Rápido. • Más sensible que la baciloscopía. • Diferencia <i>M. tuberculosis</i> de otras micobacterias.. 	<ul style="list-style-type: none"> • Costo elevado. • Requiere equipamiento y tres laboratorios separados. • Alto riesgo de falsos (+) • No validado para TB extrapulmonar • No sirve para monitorear tratamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> • Muestras de pacientes HIV (+) con baciloscopía (+).
Cromatografía gaseosa Espectrometría de masa	<ul style="list-style-type: none"> • Rápido • Más sensible que la baciloscopía • Diferencia <i>M. tuberculosis</i> de otras micobacterias. 	<ul style="list-style-type: none"> • Costo elevado. • Disponibilidad limitada por el equipamiento requerido. 	<ul style="list-style-type: none"> • Patología extrapulmonar.
Dosaje de Adenosina Deaminasa (ADA)	<ul style="list-style-type: none"> • Simple • Económico • Accesible • Rápido 	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere diagnóstico diferencial con otras patologías (falsos +): artritis reumatoide, lupus, empiemas, tumores con proliferación de células T. 	<ul style="list-style-type: none"> • Patología pleural sin empiema.
Serología	<ul style="list-style-type: none"> • Simple • Económico • Rápido • Alta especificidad 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja sensibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> • En casos seleccionados, niños, formas extrapulmonares

TBC: tratamiento

- 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
- Combinación de agentes por períodos prolongados
- Habitual: isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol o estreptomicina (2 meses; luego isoniacida y rifampicina (4 meses más)
- Resistencia simultánea a isoniacida y rifampicina definen la **multirresistencia**
- (XDR-TB) Extensively drug-resistant TB (isoniacida, refampicina, fluorquinolonas y un aminoglucósido)
- Tratamiento adjunto: corticoides

TBC: 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

TBC: prevención

Contactos del paciente con TBC:

- Quimioprofilaxis con isoniacida

Población general:

- Bacilo de Calmette-Guerin (vacuna BCG)
- Una única aplicación dentro de los 30 días de vida
- Aplicación subcutánea = primoinfección
- BCG despierta reacción a la PPD por 3 o 4 años
- Eficacia dispar (0% al 80%)
- 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
 - formaldehído
 - glutaraldehído
 - etanol al 70%
 - resistencia parcial a los hipocloritos
- Resisten la desecación
- Sensibles a la luz solar

Otras micobacterias (vulgarmente llamadas atípicas): causan micobacteriosis

- Reservorio: el medio ambiente
- Bacterias oportunistas
- Crecimiento rápido o lento
- Multirresistentes
- Alta prevalencia en pacientes con infección por HIV
- Infección de mal pronóstico en pacientes con SIDA



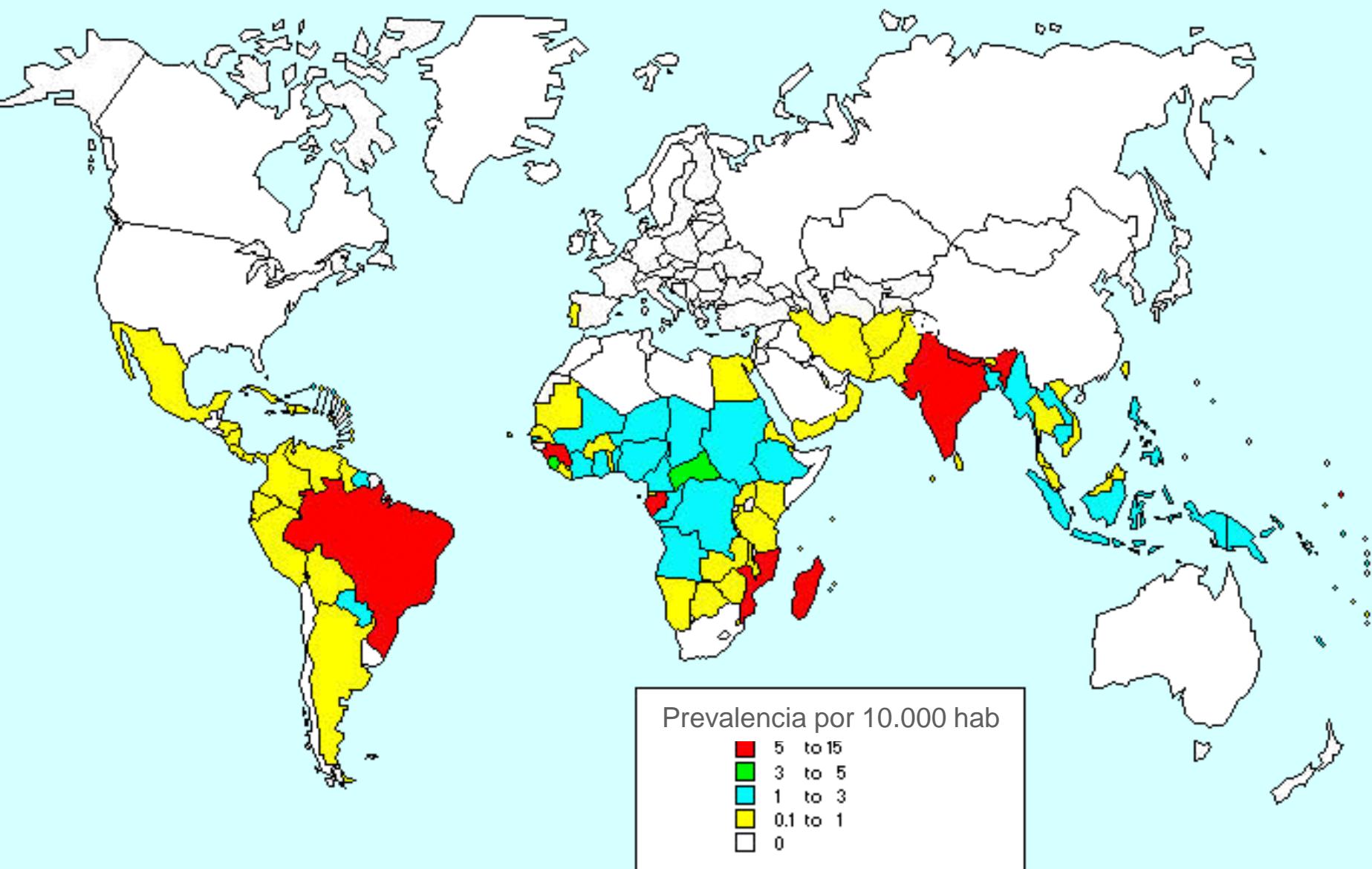
Mycobacterium

Parte II: Lepra

***Mycobacterium leprae* y lepra (Enf. de Hansen)**

- Gruesa pared celular rica en lípidos
- Estructura semejante a otras micobacterias
- No desarrolla en medios de cultivo
- Transmisión interhumana

La lepra en el mundo



***Mycobacterium leprae* y lepra (Enf. de Hansen)**

- Área endémica: Chaco, Santa Fe, Formosa, Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos, Misiones.
- Incidencia: de 400 a 500 nuevos casos por año
- Prevalencia: entre 1,5 a 2 por cada 1.000 habitantes en el área endémica
- Infección crónica de la piel, membranas mucosas, nervios periféricos, sistema respiratorio superior.
- Período de incubación prolongado (hasta 30 años, promedio 5-7 años)

Manifestaciones clínicas de la lepra

Varían ampliamente entre dos formas polares

Espectro clínico refleja
el grado de IMC a *M. leprae*

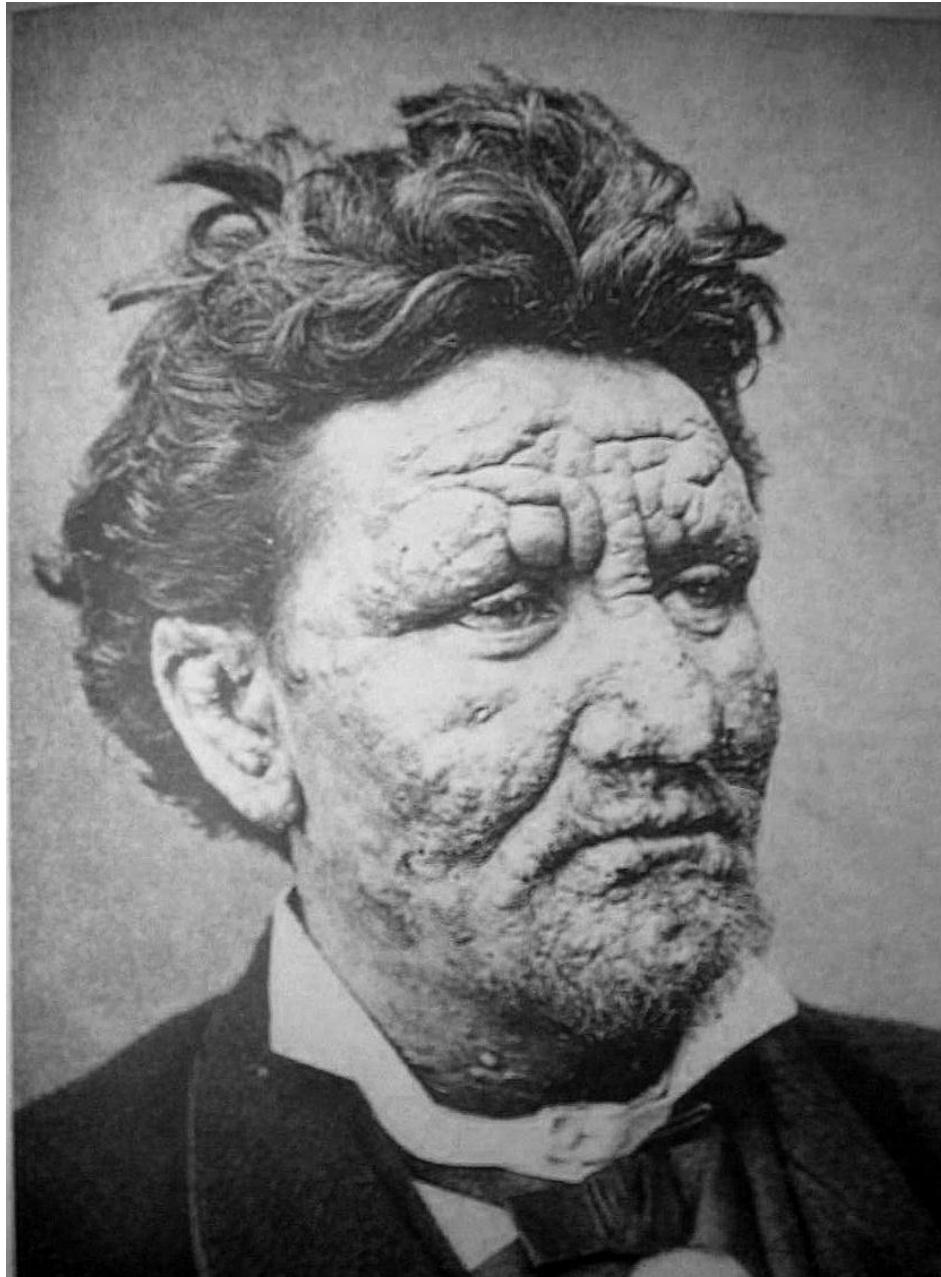
1966: Clasificación de Ridley y Jopling

- 2 tipos extremos o polares (estables):
 - Lepra Lepromatosa (LL)
 - Lepra Tuberculoide (TT)
- 3 tipos intermedios o dimorfos (inestables):
 - Borderline (BB)
 - Borderline Lepromatosa (BL)
 - Borderline Tuberculoide (BT)
- Indeterminada

Lepra: lesiones cutáneas



Lepra: lesiones



❖ WORLDWIDE, HALF A MILLION NEW CASES OF LEPROSY ARE DISCOVERED ANNUALLY, AND THE TOTAL NUMBER OF PEOPLE AFFLICTED IS AT LEAST 10 MILLION.

—PHOTOGRAPHED AT SUMMIT HOSPITAL, BATON ROUGE, LA.

Lepra lepromatosa

Prueba de la lepromina (-)

Granuloma desorganizado

Numerosas pápulas, máculas
e infiltraciones difusas

Lesiones con abundantes bacilos

Compromiso de la mucosa
nasal y nervios periféricos.
Perforación del tabique y
destrucción del cartílago nasal

Hipergammaglobulinemia
policlonal (complejos inmunes)

CONTAGIOSA

Lepra tuberculoide

Prueba de la lepromina (+)

Granuloma organizado

Lesiones únicas, bien
demarcadas, anestésicas

Lesiones paucibacilares

Granuloma de piel y
nervios periféricos

No hay daño por
complejos inmunes

NO CONTAGIOSA

Tipos extremos de lepra

TUBERCULOIDE

LEPROMATOSO

BACILOS EN
LAS LESIONES

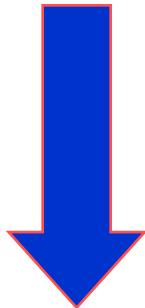
MAGNITUD DE LAS
LESIONES CUTANEAS

INMUNIDAD
CELULAR

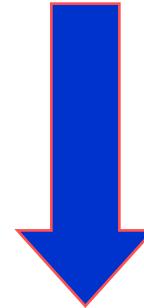
ANTICUERPOS

TRATAMIENTO

**PAUCIBACILAR
(TT Y BT)**



**MULTIBACILAR
(BL Y LL)**



**Dapsona 100 mg/dia
rifampicina 600 mg una
vez/mes
(6 meses)**

**Dapsona 100 mg/dia,
clofazimina 50 mg/dia
y 300 mg una vez/mes
rifampicina 600 mg una
vez/mes
(12 meses)**



Muchas gracias!

Bibliografía

- Murray PR y col. Microbiología Médica, Capítulo 28. Mycobacterium. Ed. Elsevier-Mosby, 6^a ed., 2009.
- Brian MC y col. Consenso Argentino de TB. Asoc. Arg. Med. Respir., 2009.
- Sordelli DO y col. Bacteriología Médica, Capítulos 17 y 18. Ed. La Librería de las Ciencias, 2006.