



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PATOGENIA Y PATOLOGÍA ASOCIADAS A LA
TUBERCULOSIS PULMONAR**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

JACQUELINE ÁVILA DE JESÚS



CIUDAD DE MÉXICO

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:	Prof. María del Carmen Cortés Decuir
VOCAL:	Prof. Raúl Garza Velasco
SECRETARIO:	Prof. Abel Gutiérrez Ramos
1er. SUPLENTE:	Prof. Javier Fernández Torres
2° SUPLENTE:	Prof. Norma Angélica Castellanos Chávez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Biblioteca de la Facultad de Química, UNAM y otras diversas bibliotecas del Sector Salud

Asesor del tema

QFB. Raúl Garza Velasco

Sustentante

Jacqueline Ávila de Jesús

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	7
I. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE <i>M. tuberculosis</i>	8
II. TUBERCULOSIS PULMONAR	
i. Patología	13
ii. Transmisión de la enfermedad	20
iii. Aspectos epidemiológicos	23
iv. Factores de virulencia	38
iv. Variaciones de los macrófagos en las lesiones tuberculosas	40
III. INMUNOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS	
i. Inmunidad mediada por células (CMI)	45
ii. Hipersensibilidad de tipo tardío	46
iii. Sinergismo entre la CMI y la TDH	47
iv. Eventos principales en la respuesta inmunitaria	49
v. Papel de los anticuerpos en la tuberculosis	54
v. Citocinas	55
III. PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS	
i. La vacuna BCG	58
ii. Respuestas a la tuberculina	61
iii. Terapia antituberculosa	61
iv. Inmunoterapia	65
IV. CONCLUSIONES	70
V. BIBLIOGRAFÍA	73

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, *M. tuberculosis* ocasiona la más importante enfermedad crónica de índole infecciosa que afecta al humano, la cual provoca cada año alrededor de nueve millones de casos de tuberculosis y casi dos millones de decesos.

Por otra parte, existen aproximadamente dos mil millones de individuos infectados, aunque cerca del 90% lo están en forma latente, es decir, sin manifestar problema clínico alguno, lo que a juicio de los autores representa uno de los mejores testimonios sobre la eficacia del sistema inmune humano; éste logra contener al peligroso patógeno dentro de estructuras denominadas granulomas, intentando destruirlo o limitar al mínimo su crecimiento.

M. tuberculosis es un microorganismo intracelular facultativo que desarrolla con eficacia dentro de macrófagos no activados; su forma de transmisión natural más frecuente, a través de aerosoles, le permite llegar a los pulmones e ingresar a los macrófagos alveolares. Ello, desde luego, le proporciona un ambiente propicio para crecer durante 2 a 3 semanas, antes de ser captado por células dendríticas (DCs) que después migran a los nódulos linfáticos para activar a los linfocitos T CD4+.

Los linfocitos T sensibilizados se desplazan hacia la ubicación de las micobacterias en el pulmón, en donde activan a los macrófagos

infectados y a los monocitos recién llegados, lo que constituye una condición *sine qua non* para tratar de detener o dar muerte al invasor¹.

Cabe señalar que las citocinas esenciales para controlar al bacilo incluyen al interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 12 (IL-12), linfoxina alfa (LT α) e IL-1 β , si bien la primera pareciera la de mayor relevancia; de hecho, su papel crítico se ha demostrado en niños con defectos de señalización asociados a esta linfoxina, quienes resultan susceptibles hasta a la propia vacuna BCG y a las micobacterias no tuberculosas (NTM) poco virulentas.

Es preciso mencionar que el eficiente efecto del IFN- γ sobre los macrófagos humanos infectados es potenciado por el TNF- α , la vitamina D3 y el factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF).

En este sentido, el TNF- α también resulta indispensable para controlar o eliminar a *M. tuberculosis* de los tejidos humanos; a este respecto, uno de los orígenes de la denominada reactivación del proceso patológico a partir de una infección latente, tiene lugar precisamente cuando el sujeto recibe terapia anti-TNF, utilizada en el tratamiento de artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, espondilitis anquilosante u otras enfermedades autoinmunes.

¹ Los macrófagos activados están destinados a combatir a los invasores intracelulares, tienen una mayor capacidad de endocitosis, cuenta con un gran número de lisosomas y produce altas concentraciones del súper oxidante radical óxido nítrico (NO \bullet) a partir de L-arginina, entre algunas otras características. La activación de macrófagos ocurre en grados diversos (no resulta igual en todos los macrófagos reclutados previamente en la región afectada).

Entre los medicamentos inhibidores del TNF destacan el infliximab y el adalimumab, constituidos ambos por anticuerpos monoclonales anti-TNF, los cuales se administran por las vías endovenosa y subcutánea, respectivamente.

En la tuberculosis, la persistencia del bacilo propicia una continua estimulación antigénica y, por lo tanto, una consistente infiltración de linfocitos CD4+ y CD8+ hacia el sitio de infección, así como la estimulación de los macrófagos invadidos y los que aún están por serlo, lo que da lugar a la formación de los granulomas.

En consecuencia, el agente causal disminuye notablemente su población hasta cifras bajas constantes, aunque la eliminación plena es poco probable, en virtud de que no todos los macrófagos activados erradican a la totalidad de los que invaden su interior; de hecho, esa cantidad menor de micobacterias suele permanecer, tal como si éstas hubieran negociado un estado de tregua o equilibrio con el sistema inmune del individuo. Los granulomas progresan desarrollando una estructura más estable y organizada, conformada por células ubicadas en una posición especialmente cercana respecto de los macrófagos infectados, destacando las células epitelioides y gigantes (ambas corresponden a macrófagos fusionados entre sí), acompañadas por linfocitos T CD4+, aunque hacia la periferia del granuloma también se aprecian algunos linfocitos CD8+ y cierta cantidad de células B.

Todos estos elementos que conforman al granuloma contribuyen en alguna medida al control del desarrollo microbiano durante periodos mayores a 9 meses. Sin embargo, cuando el supuesto equilibrio se rompe a favor del microorganismo, éste recupera su velocidad de crecimiento (la cual hasta ese momento había sido muy similar a la de su letalidad), pudiendo provocar daños tisulares mayores y hasta el propio deceso del individuo implicado.

El granuloma limita el crecimiento micobacteriano a través de los linfocitos T, provocando la activación y la apoptosis de los macrófagos implicados. Adicionalmente, las capas celulares que lo conforman generan un mayor consumo de oxígeno y de los nutrientes tisulares, contribuyendo a una hipoxia e isquemia que también afectan la reproducción del invasor.

La patogénesis de la tuberculosis pulmonar humana corresponde a toda una serie de batallas que se libran entre el hospedero y el agente causal, los cuales cuentan con sus respectivos arsenales y vulnerabilidades.

Los recursos del hospedero incluyen principalmente: **a)** a los macrófagos activados, los únicos tipos de fagocitos habilitados para matar a los bacilos de la tuberculosis que ingresan en ellos; y **b)** a su capacidad para detener el crecimiento micobacteriano aun en el interior de los macrófagos no activados, provocándoles a estos la muerte, vía la

apoptosis, para impedir que continúen funcionando como incubadores del invasor.

Por el contrario, entre las vulnerabilidades del humano destacan: **a)** los propios macrófagos no activados, ya que su ambiente intracelular es muy propicio para el rápido desarrollo de la micobacteria; y **b)** el tejido afectado por la necrosis caseosa, habida cuenta que una vez que se va tornando fluido, favorece la eficaz multiplicación extracelular del microorganismo.

Por parte del bacilo de la tuberculosis, destaca su capacidad para crecer eficazmente dentro de los macrófagos no activados y de los monocitos que alcanzan los tejidos pulmonares afectados, provenientes del torrente circulatorio; empero, también figura su gran potencial para reproducirse extracelularmente, tanto en el tejido necrosado que va tornándose fluido (se habla de licuefacción), como en la superficie de las cavidades pulmonares a las da origen.

Como se puede inferir de los párrafos anteriores, la tuberculosis es una enfermedad muy especial, que exige la mayor eficiencia de las defensas del humano; de ello depende que el padecimiento sea latente, acotado, activo o curado. Así mismo, su prevención y tratamiento incluyen estrategias diferentes a las empleadas en otros padecimientos.

El presente trabajo aborda las principales temáticas asociadas a la tuberculosis, tratando de incluir los avances logrados recientemente, los cuales contribuyen al mejor entendimiento de los procesos patológicos involucrados.

OBJETIVOS

- Describir los aspectos más importantes asociados a la tuberculosis pulmonar, subrayando la vía de transmisión, la sintomatología y las características de corte epidemiológico.
- Señalar las propiedades microbiológicas del bacilo tuberculoso, las consecuencias de su especial composición química y sus principales factores de virulencia.
- Describir las respuestas con que el sistema inmune humano trata de contener el crecimiento del bacilo tuberculoso en los tejidos del hospedero, subrayando las ventajas y perjuicios del desarrollo de la inmunidad mediada por células (CMI) y de la hipersensibilidad de tipo tardío (DTH), en relación con la evolución de la enfermedad.
- Mencionar los avances logrados y pretendidos por la comunidad científica, en relación con la prevención y el tratamiento de la tuberculosis pulmonar.

I. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE *M. tuberculosis*

Las micobacterias son bacilos delgados que por su sola morfología no se pueden distinguir entre sí. Los bacilos tuberculosos provenientes de frotis de tejidos o esputo toman con frecuencia un aspecto aperlado con coloración irregular, ya que las regiones no teñidas corresponden a cuerpos de inclusión tales como glucógeno y polimetrafosatos. Al microscopio electrónico, las micobacterias muestran una gruesa pared celular, la presencia de mesosomas e inclusiones de lípidos. (65)

Las micobacterias son inmóviles, no capsuladas, no forman esporas y tienen un contenido muy alto en lípidos: mayor del 25% de su peso seco, en contraste con el 0,5% de las bacterias Gram positivas y el 3% de las Gram negativas. Este alto contenido de lípidos es responsable de su característica resistencia a la deshidratación y a la acción del alcohol, ácidos, álcalis y ciertos germicidas. Así mismo, origina que la coloración de Gram no sea de utilidad y que actúen como acidófilas, propiedad que comparten con el género *Nocardia*. (65)

Una vez teñidos con colorantes básicos de fucsina, los bacilos resisten a la decoloración con alcohol etílico más 3% de un ácido mineral (frecuentemente HCl). La acidofilia es una característica importante, útil para el diagnóstico de laboratorio de todas las enfermedades ocasionadas

por estos microorganismos. Según Barksdale y Kim, la acidofilia de las micobacterias depende del atrapamiento de la fucsina intracelular y de la integración de una barrera con los complejos micolato-fucsina formados en la pared celular. (65)

La mayoría de las micobacterias patógenas crece con gran lentitud; de hecho, el tiempo de generación de *M. tuberculosis* es de 12 a 18 h, muy prolongado al compararse con los 15 minutos que se calculan para las enterobacterias. Aunque los bacilos tuberculosos pueden crecer en medios sintéticos simples, su aislamiento de muestras clínicas requiere de medios complejos; el microorganismo es aerobio estricto, atributo que parece tener un papel importante en la patogenia de la tuberculosis. (11)

Las cepas virulentas de *M. tuberculosis* que crecen en la superficie de los medios líquidos o sólidos, forman hebras o cadenas características, lo que se refleja en el aspecto de las colonias obtenidas en medios sólidos.

Las micobacterias contienen numerosos lípidos complejos de muy alto peso molecular, destacando entre ellos el ácido micólico, diversos micósidos, las ceras D, el 6,6'-dimicolil trehalosa (conocido como factor cordón) y los sulfolípidos. Numerosos lípidos complejos de las micobacterias contienen ácido micólico y micósidos; estos últimos corresponden a una serie de glucolípidos o glucolípido-péptidos que, por cierto, contienen ácido micólico. (11)

Las ceras D son una familia de sustancias estrechamente relacionadas, compuestas por ácido micólico, péptidos y polisacáridos. Cuando estos compuestos se extraen de la célula de *M. tuberculosis*, manifiestan propiedades coadyuvantes únicas, porque no sólo aumentan la producción de anticuerpos contra algún antígeno proteico incorporado a una emulsión oleosa de cera D, sino que también inducen una respuesta inmune mediada por células (CMI) contra esa misma proteína; debido a ello, las ceras D pueden contribuir a la patogenia de la tuberculosis, aumentando la hipersensibilidad de tipo tardío (DTH) contra ciertas proteínas micobacterianas. (11)

El factor cordón, también llamado serpiente, recibe estas denominaciones porque se le considera responsable de la tendencia a formar cadenas o hebras de los bacilos tuberculosos virulentos cultivados en medios líquidos o sólidos; se le puede extraer de las células micobacterianas con hexano y, una vez purificado, resulta mortal para ratones y muestra toxicidad para los leucocitos polimorfonucleares (PMN). (42)

Los bacilos de la tuberculosis son inhibidos *in vitro* e *in vivo* por la hidrazida del ácido isonicotínico (INH), estreptomina (ST), ácido para-aminosalicílico (PAS), tiacetazona (TH), etambutol (EMB) y rifampicina (RIF), así como por otras drogas más tóxicas, tales como etionamida, kanamicina y cicloserina, las cuales sólo se usan en pacientes cuyos agentes invasores son resistentes a las drogas de primera línea (INH, ST,

PAS, TH, EMB, RIF). La RIF inhibe a la RNA polimerasa dependiente del DNA en células procarióticas y la ST inhibe la función de la subunidad ribosomal 30S. El mecanismo de acción de la INH no se ha logrado aclarar, pero este compuesto podría impedir la síntesis de ácido micólico. (26).

Aunque las drogas antituberculosas administradas individualmente producen bacteriostasis en los animales infectados experimentalmente, la combinación de RIF e INH tiene actividad bactericida *in vivo*. Los bacilos tuberculosos aislados a partir del esputo de pacientes tratados indebidamente pueden ser resistentes a una o más de las drogas señaladas; cabe mencionar que dicha resistencia no se asocia a plásmidos, sino se debe a la selección y predominio de mutantes resistentes de aparición natural, presentes en pequeño número entre las poblaciones de bacilos que desarrollan en la tuberculosis cavitaria. (26)

Similar a lo que sucede en todos los microorganismos, las micobacterias contienen numerosos antígenos y determinantes antigénicas. La inmunidad medida por anticuerpos (AMI) y la mediada por células (CMI) se expresan contra muchos de esos determinantes durante la infección, pero no se ha logrado establecer asociación alguna entre la virulencia y una determinada estructura antigénica y la virulencia. Diversas especies de micobacterias comparten determinantes antigénicas, lo que genera las reacciones cruzadas observadas en las respuestas a la prueba de la tuberculina. (23)

El esputo obtenido a partir del paciente debe examinarse preparando y observando extensiones teñidas por la técnica de Ziehl Neelsen; cuando el laboratorio cuenta con recursos para cultivar la muestra, las tinciones deben prepararse después de haber sometido la muestra a digestión, fluidificación y concentración. Los objetivos primordiales de este procesamiento son: homogeneizar los desechos tisulares, eliminar a los microorganismos de la flora orofaríngea y concentrar a los bacilos tuberculosos en el sedimento. La digestión se realiza agitando vigorosamente una mezcla a partes iguales de muestra e hidróxido de sodio al 4% durante 30 minutos; el proceso se acelera incorporando 0.5% de N-acetil L-cisteína y, una vez finalizada la digestión, la muestra se centrifuga, el líquido sobrenadante se decanta y el sedimento se usa para elaborar frotis y tinciones, efectuar cultivos y para identificación del agente causal por métodos radiométricos y/o moleculares. (23)

El medio enriquecido adecuado para el cultivo de micobacterias es el Löwenstein-Jensen (L-J), que contiene huevo, extracto de papa, glicerina y un colorante inhibidor de bacterias Gram positivas, a menudo verde de malaquita. Los tubos en plano inclinado de medio L-J se inoculan con el sedimento concentrado y se incuban a 37°C hasta por 25-30 días, después de las cuales se obtienen pequeñas colonias rugosas color crema. (23)

II. TUBERCULOSIS PULMONAR

i. Patología

Por definición, la tuberculosis (TB) es la enfermedad ocasionada por alguna de las especies pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, entre las cuales destacan las siguientes:

- ✓ *M. tuberculosis* (el bacilo de Koch)
- ✓ *M. bovis*
- ✓ *M. microti*,
- ✓ *M. africanum*
- ✓ *M. caprae*
- ✓ *M. pinnipedii*
- ✓ *M. canettii*.

Por su parte, los pulmones representan los órganos afectados más comúnmente por la tuberculosis, se trata de individuos inmunocompetentes o inmunocomprometidos, alcanzando tasas de 80 a 87% del total de casos de la enfermedad, las cuales ascienden hasta 92% entre los enfermos de SIDA. Consecuentemente, en la gran mayoría de los casos, los pulmones se consideran el portal de entrada del

microorganismo, si bien el contacto inicial se traduce en muy pocos o ningún signo o síntoma, después de la inhalación correspondiente. (36)

Por lo regular, el bacilo establece una infección en el parénquima pulmonar, precisamente en el sitio en donde se ha depositado después de la inhalación. Las defensas del hospedero parecen tener muy pequeños efectos sobre el microorganismo, hasta que se desarrolla la hipersensibilidad tardía hacia ciertas proteínas contenidas en el derivado proteico con el que se realiza la tuberculina, lo cual requiere de 4 hasta 6 semanas, en cuyo caso se presentan fiebre, malestar y otras manifestaciones. (15)

En la mayoría de los individuos no desnutridos resulta complicado reunir evidencias de tuberculosis, ya que el agente causal suele ser contenido por las defensas locales y sistémicas, e inclusive, el foco primario es predominantemente subpleural; la diseminación local ocurre hacia los nódulos linfáticos, regiones desde las cuales la micobacteria puede alcanzar otras zonas del organismo, presentándose cuadros pulmonares y extrapulmonares que fungen conjuntamente como responsables de la sintomatología. (6)

En tal sentido, la primoinfección frecuentemente es insignificante, pasa por desapercibida, e inclusive, en la mayor parte de los pacientes pareciera estabilizarse sin daños tisulares importantes, indefinidamente o durante muchos años, hasta que ocurre alguna inmunodeficiencia capaz

de dar lugar a un amplio espectro de manifestaciones; éstas pueden ir desde una prueba cutánea asociada a placas radiográficas negativas, hasta muy evidentes signos y síntomas de gravedad extrema. (6)

De hecho, es hasta que la enfermedad avanza cuando los rayos X resultan reveladores y, aun así, las alteraciones pueden o no ser detectables, en cuyo caso la patología que afecta al individuo llega a atribuirse erróneamente a otras causas, tales como tabaquismo, sobre-esfuerzo, embarazo u otras condiciones. (6)

En general, los síntomas de la TB pueden dividirse en constitutivos y pulmonares, y su frecuencia difiere dependiendo de si el paciente adquirió tuberculosis primaria o experimentó la reactivación de un proceso previo, después de algún tiempo de latencia. Es decir que, cuando se trata de una tuberculosis primaria, la sintomatología suele ser leve o imperceptible, lo cual es contrario a lo que ocurre en los casos de reactivación. (18)

Entre los síntomas constitutivos destaca la fiebre, que suele ser más alta conforme el día avanza y se acompaña por sudor nocturno; otras manifestaciones incluyen malestar general, irritabilidad, debilidad, fatiga, cefalea y pérdida de peso. (18)

Al presentarse la necrosis caseosa y la secuencial licuefacción del tejido implicado, sobrevienen la tos, la producción de expectoración y la

hemóptisis, con dolor en el pecho. La disminución de la capacidad inspiratoria aparece en las fases tardías y suele indicar un cuadro extenso que compromete al pulmón y al parénquima, o sugiere alguna forma de obstrucción traqueobronquial. (18)

El examen físico del pecho es frecuentemente inútil durante el inicio del padecimiento, por lo que en esta etapa puede ayudar la detección de ruidos o silbidos; en tal sentido, se pide al enfermo que inspire y expire profundamente, y que finalice la acción tosiendo. (53)

Conforme avanza la tuberculosis es posible observar algunas manifestaciones alérgicas; a saber, conjuntivitis y eritema nudoso; cuando este último es indurado y se ubica en la parte final de la pierna o en el pie (sin enrojecimiento pero con hinchamiento y necrosis), sugiere una combinación de infección bacteriana subcutánea con alergia, que no debe ser confundido con eritema nudoso; éste es provocado por complejos inmunes circulantes y abarca a un daño vascular localizado. (53)

El diagnóstico de la TB sigue siendo difícil, especialmente en entornos con recursos limitados. El desarrollo de pruebas basadas en ácidos nucleicos para la detección del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* ha aumentado significativamente la sensibilidad en comparación con la microscopía de frotis convencional y proporciona resultados en cuestión de horas en comparación con semanas para el actual estándar de oro, cultivo líquido. (9)

Por lo general, se identifican 5 estadíos de la TB pulmonar, de acuerdo con la actividad del microorganismo y la participación de las células humanas que participan en la defensa. (25)

- ✓ En el primer estadío, el bacilo no crece y es destruido o inhibido por los macrófagos activados maduros que residen en el sitio del pretendido establecimiento bacteriano. Sin embargo, si el microorganismo no se ve afectado por dichos macrófagos activados residentes, se multiplicará y éstos morirán eventualmente.

- ✓ En el estadío 2, también denominado estadío simbiótico, el bacilo crece logarítmicamente dentro de macrófagos no activados presentes en el sitio en donde se desarrolla la lesión. Los mencionados macrófagos han llegado a esa zona a partir del torrente circulatorio (en forma de monocitos). La denominación de “estadío simbiótico” obedece al hecho de que en esta lesión temprana los bacilos se reproducen sin ocasionar daños aparentes al hospedero y, por otra parte, la cantidad de macrófagos no activados continúa incrementándose en la zona.

- ✓ En el tercer estadío, ocurre la primera necrosis caseosa del tejido implicado, pero la cantidad de bacilos es ahora estacionaria, al inhibirse notablemente su crecimiento por efecto de la respuesta

inmune contra las proteínas asociadas al PPD, liberadas tras la destrucción de una parte del conjunto de los microorganismos acumulados en la región. En este estadio la respuesta inmune que predomina es la de hipersensibilidad de tipo tardío (DTH, por *delayed-type hypersensitivity*); ésta daña los tejidos y destruye a los macrófagos propios del estadio simbiótico que contienen fragmentos bacilares.

En tal sentido, el tejido afectado presenta un centro caseoso sólido, dentro del cual los bacilos extracelulares no se multiplican; no obstante, se encuentran, tanto macrófagos no activados que permiten el crecimiento intracelular micobacteriano, como macrófagos parcialmente activados (células epitelioides aun inmaduras) originados por la inmunidad mediada por células (CMI, por *cell-mediated immunity*).

- ✓ En el estadio 4, el cual determina si la enfermedad será aparente clínicamente, la CMI desempeña un papel principal: cuando ésta es débil, los bacilos escapan del borde del centro caseoso y se multiplican dentro de los macrófagos no activados y parcialmente activados que se ubican en la periferia; éstos posteriormente son destruidos por efecto de la DTH, que es a todas luces citotóxica, lo que extiende las dimensiones del centro caseoso e impulsa el progreso de la enfermedad.

Sin embargo, cuando tiene lugar una fuerte CMI, se forma un manto alrededor del centro caseoso en el que predominan macrófagos altamente activados, los cuales ingieren a los bacilos que pretenden escapar, destruyéndolos o inhibiéndolos y, por lo tanto, limitando la lesión caseosa a una forma subclínica.

- ✓ En el estadio 5, denominado también estadio de licuefacción, los bacilos evaden las defensas del hospedero, provocando la fluidificación del centro caseoso; el invasor logra multiplicarse extracelularmente por vez primera, alcanzando sus cantidades máximas en la zona afectada.

Por esta razón, la concentración de las tuberculino-proteínas libres es muy alta en la región y provoca una robusta respuesta citotóxica de DTH que erosiona la pared bronquial produciendo una cavidad. Es así como los bacilos ingresan al árbol bronquial y se diseminan a otras partes del pulmón, pero también al ambiente exterior, especialmente durante los episodios de tos del enfermo. (47)

Es importante realizar un diagnóstico diferencial en la especie de las cepas que forman el complejo MT pues implica que se dé el correcto tratamiento. (24)

Las personas que se recuperan de la TB están en mayor riesgo de mortalidad a largo plazo que la población general y sus causas de muerte

son diferentes. Seguimiento periódico podría ser beneficioso para las personas que faciliten el diagnóstico precoz. (56)

ii. Transmisión de la enfermedad

La TB es una enfermedad infecciosa, contagiosa, tratable y potencialmente prevenible de frecuente asociación al VIH que eleva la mortalidad por el retraso en el diagnóstico y el tratamiento, las dificultades con la adherencia terapéutica y la respuesta inadecuada frente al tratamiento. La fuente más importante y habitual de contagio son las personas con lesiones activas o en comunicación con las vías aéreas, un enfermo puede infectar un promedio de 10-15 personas sanas. (55)

La enfermedad se transmite predominantemente a través de las emisiones orales y nasales del enfermo que provienen de los pulmones afectados. En tal sentido, es importante señalar que sólo las gotas expelidas más pequeñas, las cuales sólo contienen entre uno y tres bacilos tuberculosos, pueden ser inhaladas por otras personas, ya que son las únicas que, dado su bajo peso, permanecen suspendidas en el aire. Las gotas más pesadas (con más bacilos y fragmentos de material caseoso) caen al suelo fácilmente, o bien, ingresan hasta la nasofaringe y el árbol bronquial de las personas, pero son deglutidas o eliminadas por los cilios del tracto respiratorio y, por lo tanto, en ambos casos, las mucosas suelen no ser colonizadas por las micobacterias, a menos que éstas sean especialmente numerosas. (3)

Lógicamente, cada cepa del bacilo difiere genéticamente en cuanto a virulencia, e inclusive, su eventual establecimiento y reproducción en los tejidos del hospedero también dependen de las condiciones del sistema inmunológico de este último, de la dosis infectiva y del órgano contactado por el invasor. (3)

Cabe subrayar que el genoma de *M. tuberculosis* ya ha sido secuenciado, observándose que no ha experimentado mayores cambios o mutaciones, numéricamente hablando, aunque algunas deleciones e inserciones han impactado sobre la virulencia de las clonas de todas las especies que integran el complejo; por ejemplo, *M. microti* prácticamente ha perdido patogenicidad hacia el humano, debido a varias deleciones génicas; de hecho, cepas recién aisladas en India, Hong Kong y Asia del Sur han mostrado poca virulencia para cobayos. (51)

Análogamente, las cepas HN878, responsables de epidemias en Houston, Texas, resultan especialmente virulentas para conejos y ratones, en los últimos de los cuales provocan retrasos de la respuesta de linfocitos Th1, sin duda un rasgo que podría explicar su alta peligrosidad. (51)

Cuando son inhaladas cuantiosas unidades de 1 a 3 bacilos, es posible que el crecimiento bacilar dé lugar a alguna clona más virulenta, lo que haría factible que los macrófagos alveolares disminuyeran comparativamente su potencial defensivo, el cual depende de sus

respectivas capacidades para sintetizar hidrolasas y otras microbicinas. Lo anterior significa que en el mismo ser humano pueden coexistir dos o más clonas del bacilo tuberculoso, con diferentes patogenicidades, distintos efectos, e inclusive, con susceptibilidades no compartidas hacia las drogas antituberculosas. (3)

Una vez inhalado en los pulmones del nuevo huésped, el primer encuentro de *M. tuberculosis* es con macrófagos alveolares residentes. Como una de las células efectoras inmunes importantes, los macrófagos pueden fagocitar y eliminar microorganismos intracelulares por múltiples mecanismos bactericidas, incluyendo la acidificación de los fagosomas, y la entrega de los fagosomas a los lisosomas para la degradación, la generación de radicales libres bactericidas, tales como el oxígeno reactivo y especies de nitrógeno, la activación de la muerte celular programada. (22)

Así las cosas, es obvio que la enfermedad puede iniciar cuando un macrófago alveolar “débil” es invadido por un bacilo muy virulento, aspecto que es favorecido por una mayor cantidad de unidades inhaladas. Este último dato no se ha establecido para el humano, aunque se estima que el número requerido debe fluctuar entre 5 y 200 microorganismos muy virulentos. Las cifras determinadas en animales son 600 a 1,200 para conejos blancos Nueva Zelanda y de sólo 3 a 15 para ratones, cobayos y monos. (22)

iii. Aspectos epidemiológicos

Si bien la tuberculosis representa una enfermedad casi tan antigua como la misma humanidad, no deja sorprender el hecho de que aún se trata de la infección con los mayores índices de morbilidad y mortalidad en el mundo; ello se debe a su gran prevalencia en los países en vías de desarrollo, los cuales se caracterizan por manifestar la más elevada densidad de población. (48)

A principios de la década de los 90, la Organización Mundial de la Salud (OMS) lanzó la estrategia de TAES/DOTS (Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado/*Directly Observed Treatment, Short course*) con la cual, además de lograr la curación de los pacientes con tuberculosis y la disminución de la enfermedad a nivel mundial, se pudo reducir la aparición de fármaco-resistencia; pero ahora, el tratamiento inadecuado y la falta de adherencia terapéutica por parte del paciente han sido los principales causales de que la tuberculosis fármaco-resistente se haya convertido en un problema global de Salud Pública. (70)

De acuerdo con datos estimados por la OMS, en 2008 habían 9.3 millones de casos activos, 3 a 4 millones de ellos aún infecciosos y con expectoración positiva. Así mismo, se considera que anualmente ocurren al menos 1.8 millones de muertes anuales en todo el globo, lo que coloca a la tuberculosis como una de las principales afecciones, al margen de que también su eliminación es particularmente difícil, dada la pobreza y

sobrepoblación, la distribución del padecimiento, e inclusive, la notable aparición de cepas multi-resistentes. (35)

El bacilo de la tuberculosis fue descubierto en 1882, época desde la cual ha sido sujeto de estudio; no obstante, aún hay mucho que aprender acerca de su naturaleza, virulencia, características genéticas y la respuesta que origina en su hospedero. (35)

Se afirma que la afección parece ser tan antigua como la propia humanidad, ya que en Alemania se han encontrado esqueletos de seres humanos prehistóricos que habitaron el mundo aproximadamente en el año 8000 A.C., los cuales presentan claras evidencias de la enfermedad. (35)

Así mismo, se cuenta con escritos antiguos de hindús y chinos que parecen señalar al padecimiento, si bien las descripciones podrían estar refiriéndose a otras afecciones que comparten signos y síntomas con la tuberculosis. Sin embargo, la mejor prueba de la existencia de la TB en el pasado consiste en una momia Inca de un niño de 8 años de edad, 700 años D.C., de cuyas lesiones se obtuvieron radiografías de enfermedad de Pott y preparaciones con bacilos ácido alcohol resistentes (teñidas por Ziehl Neelsen). (35)

El bacilo puede permanecer viable por tiempos prolongados en los tejidos de personas sanas; empero, cuando se presenta la enfermedad, ésta

curso en forma crónica, lo que supone un lapso muy amplio para su posible transmisión a los hospederos susceptibles. Por obvio, la tuberculosis fue mejor conocida y comprendida en los 150 años más recientes. (35)

Cuando aparece una nueva enfermedad infecciosa, la morbilidad y mortalidad muestran una forma de ola epidémica muy predecible, distinguiéndose un pico al que le sigue un descenso gradual. En numerosos padecimientos, la curva se mide en semanas o meses pero, tratándose de tuberculosis, las unidades utilizadas corresponden a décadas y siglos. (4)

Es decir, la forma de ola de la TB ocurre a partir de una selección natural de personas susceptibles y su duración se ha aproximado a los 300 años. Grigg describió de manera hipotética tres diferentes curvas de morbilidad y mortalidad, separadas por intervalos de 50 a 100 años y, en cada una, se detecta la declinación de decesos, a la cual sigue la de morbilidad y, finalmente, la de infecciones inaparentes. (4)

En Inglaterra, la presente epidemia inició en el siglo XVI y alcanzó su pico máximo cerca del año 1780, como resultado de la Revolución Industrial y del crecimiento de las ciudades; ello promovió la diseminación de la enfermedad de persona a persona y, posteriormente, su extensión hacia otras ciudades de Europa Occidental, con picos entre 1780 y 1888. (4)

Cerca del año 1900, se alcanzaron los picos máximos en América y, hasta ahora, aún no se llega a ellos en los países pobres de Asia y África; lo anterior significa que la epidemia actual ya se encuentra declinando en algunas zonas geográficas, pero desafortunadamente continúa su crecimiento en otras regiones (las más pobres y con mayor densidad de población). (4)

Es claro que la industrialización y sobrepoblación de las ciudades podría dar lugar a una nueva epidemia de tuberculosis, ya que ambas reúnen a mayores concentraciones de personas susceptibles y esta condición promueve la transmisión a nuevos hospederos; además, es un hecho que el estrés psicológico urbano también reduce la resistencia de los individuos hacia la infección. (4)

Aunque la tuberculosis puede afectar cualquier órgano humano, los pulmones son casi siempre el portal de entrada, habida cuenta que el bacilo es descargado más comúnmente hacia la atmósfera, vía la aerolización de las secreciones pulmonares, a través de la tos, el estornudo, el diálogo, el canto, etc. Las gotas en aerosol se secan rápidamente dando lugar a gotitas más finas de 3 a 10 μm , que se resuspenden y cuando contienen bacilos pueden ser inhaladas, alcanzando los alveolos de otras personas susceptibles. (67)

Estudios clásicos sobre la transmisión de la tuberculosis han demostrado que las secreciones liberadas al ambiente por pacientes con

expectoraciones positivas para ácido alcohol resistentes, pueden originar la infección en cobayos; este hecho también sustenta la teoría de que el número de bacilos en los aerosoles depende de la fuerza de la tos y del grado de la invasión de los pulmones del emisor. (59)

Otras vías de transmisión son menos importantes, destacando la de *M. bovis*, a través de la ingestión de leche proveniente de vacas infectadas. Esta forma de infección se ha reducido en los países desarrollados, gracias al sacrificio de las reses afectadas y a la pasteurización de la leche y de sus productos; sin embargo, aún prevalece como factor importante en los países en vías de desarrollo, debido al consumo de leche bronca y sus derivados, así como del trabajo con animales enfermos. (17)

Un estudio reciente menciona que las garrapatas son responsables de la transmisión de patógenos de importancia veterinaria, incluidos los que afectan a ovejas. Esta co-infección con patógenos y algunas especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* podrían contribuir a la condición de mala salud observado en estos animales, pero otros factores no controlados también pueden ser responsables. La expresión diferencial de genes de respuesta inmune apoya los hallazgos previos en los rumiantes y sugirió que la infección con patógenos transmitidos por garrapatas y *M. bovis* puede resultar en únicos patrones de expresión génica en las ovejas. (31)

Adicionalmente, existe la transmisión de persona a persona entre los individuos con VIH, sobre todo en hospitales y prisiones; por ejemplo, aproximadamente el 7% de los casos de tuberculosis en San Diego, California, se debieron a *M. bovis*. (17)

La característica principal de la infección VIH es el deterioro funcional constante y progresivo de los linfocitos CD4+, con el consiguiente deterioro secundario de todo el sistema inmune celular. Los mecanismos patogénicos del deterioro de los linfocitos CD4+ están relacionados directamente con un efecto citopático del VIH, pero existen otros mecanismos de destrucción indirecta implicados como causa del proceso de inmunosupresión (apoptosis secundaria a proteínas virales, alteraciones en la homeostasis linfocitaria). En el momento en que el deterioro de la inmunidad celular sea lo suficientemente grave permitirá el desarrollo de la tuberculosis, incluso con cifras de linfocitos CD4+ superiores a las que se presentan otras infecciones oportunistas debido a un mayor poder patógeno de *Mycobacterium tuberculosis*. (17)

Si bien la aerolización de microorganismos durante la manipulación de las lesiones también ha dado lugar a nuevas infecciones en los trabajadores de la salud, los casos de transmisión por contaminación de las manos no son tan representativos en cuanto a cantidad, tal como sí sucede con otros agentes etiológicos, tales como *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, etc. Sin embargo, son suficientes para documentar la

transmisión a través de la piel, por motivos ocupacionales, en médicos, enfermeros y otros integrantes del equipo de salud. (15)

La importancia de la vía de administración *Mycobacterium tuberculosis* se puede observar claramente en el modelo murino donde se han reportado ratones a ser más susceptibles a la infección por la exposición al aerosol que por administración intravenosa, la inoculación se da principalmente en el pulmón en el cual se distribuyen de manera uniforme. (57)

Luego entonces, la tuberculosis corresponde principalmente a una enfermedad que se adquiere en forma predominante por vía aérea. Los familiares y otros contactos cercanos a enfermos con preparaciones teñidas positivas representan las personas afectadas con mayor frecuencia. (57)

No obstante, este padecimiento no se considera tan contagioso como otras afecciones virales, ya que se ha comprobado ampliamente que su aparición depende inicialmente de la inmunidad innata de quienes inhalan al agente causal; a este respecto, la probabilidad de infección entre los contactos del enfermo se estima entre 25 y 50%, aún en las peores condiciones del emisor y el receptor. De cualquier manera, debe considerarse que la cercanía con enfermos representa un peligro, aun cuando en el individuo afectado no se obtengan extensiones teñidas positivas. (64)

La infección con bacilos de la TB suele desencadenar una respuesta celular, 2 a 8 semanas más tarde; así, linfocitos T y macrófagos producen los granulomas que inhiben la libre reproducción y la diseminación del microorganismo, “secuestrándolo” tal como si lo redujera a un estado latente o casi inactivo. (64)

Los macrófagos alveolares interactúan con los linfocitos T, a través de diversas citocinas, y liberan interleucinas que estimulan principalmente a los linfocitos Th; en respuesta, éstos liberan interferón gamma para activar a los primeros, lo que potencia su actividad fagocítica y su producción de agentes oxidantes tales como el radical óxido nítrico. Sin embargo, los macrófagos no siempre provocan la muerte del microorganismo, ya que éste inhibe una parte de la respuesta transcripcional del fagocito; aun así, merced a la respuesta celular, el 90% de los individuos afectados logra aislar a la micobacteria en focos latentes, impidiendo el desarrollo de la enfermedad. Por esta razón se señala enfáticamente que hay infección, pero no tuberculosis. (64)

El índice de enfermedades activas adquiridas por el personal hospitalario expuesto a individuos muy afectados de tuberculosis es de 15% dentro del primer año, sobre todo cuando no se tiene la precaución de llevar a cabo un tratamiento profiláctico con isoniazida; la cifra es de sólo 5% después de transcurridas décadas después del contacto. (64)

Evidentemente, el desarrollo de enfermedad activa a partir de la reactivación de una infección antigua depende de diversos factores que afectan al sistema inmune. La inmunodeficiencia por VIH es una causa especialmente frecuente, aunque también existen otras condiciones que desencadenan la reactivación, incluyendo a la diabetes mellitus incontrolada, a la falla renal crónica y a la carencia de vitamina D, entre algunas otras, que comparten defectos en la producción de interferón gamma o de TNF, así como carencia de receptor para interferón gamma o IL-12. (60)

Dado que la TB declinó en 1984 en E.U.A., sorprendió el incremento del padecimiento en ancianos. Posteriormente, entre 1985 y 1992, las personas de 25 a 44 años de edad representaron más del 80% de los afectados; cabe agregar que el 10% correspondió a individuos con VIH, cuya infección por bacilos tuberculosos databa de muchos años. (60)

En 2008, los índices crecieron de acuerdo con la edad; la tasa fue de 2 por cada 100,000 en niños y de hasta 9 por cada 100,000 en adultos de 65 años o más. Así mismo, los índices en varones de 45 años o más se fueron al doble de lo calculado para mujeres de ese mismo grupo etario. (54)

Los niños pequeños rara vez desarrollan cavidades pulmonares, y contribuyen poco a la transmisión es por eso que la tuberculosis pediátrica es un factor importante para ver qué tan activa está la

enfermedad en el país. Un 40% de los niños menores de un año desarrollan enfermedad diseminada y no enfermedad cavitaria y ya después de los 8 a 10 años se ve enfermedad tipo adulto. La OMS recomienda inmunización en todos los neonatos con la vacuna BCG, cepa atenuada del *Mycobacterium bovis*, en todos los países donde la tuberculosis es endémica. Esta vacuna proporciona protección contra la enfermedad diseminada de la tuberculosis, pero no protege contra el desarrollo posterior del padecimiento (54)

La industrialización y la urbanización proveyeron de las condiciones óptimas para la transmisión, al aglutinarse familias enteras en nichos carentes de sanitización y cuidado; de hecho, en todas las fases de la epidemia, las áreas urbanas, en particular las más pobres, experimentaron incrementos en la incidencia y los picos máximos se alcanzaron antes de que ello ocurriera en las zonas rurales. (66)

Lógicamente, existe una relación inversa entre el *status* socioeconómico y la morbilidad de la TB; así mismo, también influyen las diferencias raciales, el hacinamiento y la disponibilidad de servicios médicos. (66)

En las prisiones, la incidencia es hasta 8 veces mayor que en otras comunidades, siendo más afectados los individuos pobres de nueva reclusión, aunque la combinación de circunstancias entre los internos hace crecer la reactivación de infecciones anteriores y, por lo tanto, la transmisión de persona a persona. Desafortunadamente, en muchas

prisiones del mundo, incluidas las norteamericanas, el aumento de la epidemia se reflejó antes que en la población general, lo que evitó la administración preventiva de isoniazida. (49)

Este mismo efecto se ha presentado en hospitales psiquiátricos y en las estancias de rehabilitación de alcohólicos y drogadictos, aunque también se ha reproducido entre los fumadores, enfermos de SIDA e individuos con diabetes, linfoma, cáncer, silicosis y, desde luego, en quienes reciben terapia inmunosupresora. (8)

La raza podría relacionarse con la predisposición genética, habida cuenta que, *in vitro*, los macrófagos pertenecientes a individuos de raza negra permiten mayores tasas de crecimiento que los provenientes de sajones. No obstante, éste y otros rasgos genéticos deberán estudiarse con mayor amplitud en el futuro. (8)

La mayoría de las nuevas infecciones y cerca del 10% del total tienen lugar en los niños; en el neonato, el contagio es resultado de su exposición a adultos afectados con procesos pulmonares activos. (33)

En este sentido, la infección primaria en infantes suele ser asintomática, aunque en el término de 1 ó 2 años puede tornarse activa; este hecho refuerza la propuesta de desarrollar vacunas eficaces. (33)

Por lo que se refiere al grupo de 15 a 25 años, parece predominar el cambio de los procesos latentes hacia los activos, aunque en general los individuos muestran resistencia al rápido progreso de la enfermedad. (28)

Después de los 35 años de edad, aparenta reducirse la probabilidad de reactivación y se tiene un mejor pronóstico; contrastando con ello, en la tercera edad las nuevas infecciones y las reinfecciones pueden resultar peligrosas y con alto índice de mortalidad. (28)

En otras palabras, el riesgo de reactivación se incrementa con la edad, quizá debido al descenso de la inmunidad celular. Adicionalmente, se ha comprobado que la institucionalización aumenta la probabilidad de adquirir tuberculosis, dada las debilidades de las personas involucradas; por ejemplo, en Arkansas la tasa de morbilidad en la población general fue de 20 por cada 100,000 habitantes, pero la cifra se elevaba a 60 en individuos mayores de 65 años y hasta 234 en ancianos de 65 años o más que vivían en hospitales o en casas con servicio de enfermeras. (28)

Es importante tomar en cuenta que de los 1.8 millones de personas que murieron de TB durante 2008, aproximadamente 500,000 estaban infectados por el HIV; como en otros casos de inmunodeficiencia, el riesgo de progreso desde infección latente hacia la forma activa se potencia hasta en 10% anual cuando el individuo padece de SIDA. En las zonas más endémicas para HIV, al menos el 50% de nuevos casos de TB se presenta en personas HIV positivas; en África, la cifra alcanza el 70%

y, aunque en esta población predomina la reactivación, también tienen lugar a numerosas reinfecciones. (61)

El efecto neto consiste en que los países endémicos para SIDA muestran las mayores mortalidades debidas a TB. A este respecto, es oportuno recordar que el etambutol disminuye las reactivaciones entre los infectados por VIH y que, desde luego, la terapia antiretroviral también reduce el riesgo de tuberculosis hasta en un 80% de los casos, lo cual establece que ambas estrategias deben sumarse, en beneficio de los individuos con SIDA. (61)

Otras personas con predisposición son quienes padecen deficiencia heredable de IFN- γ o IL-12, así como los individuos malnutridos de los países pobres, los diabéticos y quienes sufren de otras enfermedades debilitantes. Así mismo, la TB también es relativamente importante entre quienes proveen servicios de salud o son trabajadores sociales y, desde luego, en turistas de las zonas endémicas; estos últimos pueden propagar todo tipo de cepas en sus países de origen, incluidas las multirresistentes hacia las drogas antituberculosas. (61)

Estudios experimentales y epidemiológicos realizados en animales de laboratorio indican que una previa infección con tuberculosis confiere algún tipo de protección contra las re-exposiciones, aunque ésta parece disminuir ante el contacto con cepas nuevas. En tal contexto, resulta interesante que algunos individuos que han tenido contacto natural con

micobacterias no tuberculosas (NTM, por *non-tuberculous mycobacteria*) llegan a dar positiva la prueba de la tuberculina, lo que significaría una posible protección contra la tuberculosis. (40)

Lo anterior no parece descabellado, si se toma en cuenta que algo similar se espera de la vacuna BCG en los países que confían en su aplicación y que, por lo tanto, ésta es administrada a la mayoría de la población durante la niñez. A este respecto, cabría agregar que las infecciones naturales con NTM pudieran impedir la reproducción del bacilo de Calmette y Guérin, dejando sin efecto a la vacuna BCG; no obstante, ello también significaría la probable protección contra la tuberculosis, con base en una respuesta inmune dirigida hacia antígenos compartidos lo cual, desafortunadamente, hasta la fecha no se ha logrado demostrar en ratones. (40)

Es importante señalar que la BCG no ha sido la única vacuna probada: por ejemplo, en 1950, el Consejo de Investigación Médica (MRC, por *Medical Research Council*) del Reino Unido, propició la búsqueda de otro producto vacunal con microorganismos vivos de la especie *Mycobacterium microti*, encontrando que éste alcanzaba eficacias de hasta 84% (muy semejantes a la BCG), durante 5 años. Si bien este corto lapso de protección era subóptimo, el hallazgo significaba la funcionalidad de los antígenos compartidos. (40)

Así mismo, las pruebas realizadas en 1930 por Jules Freund con microorganismos inactivados, mostraron una eficacia del 42%, aunque se requería de múltiples refuerzos. En Italia se aplicó este tipo de vacuna a 18,000 niños, combinando células inactivadas de *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. avium*, logrando una mortalidad de 0%, comparada con la de 5% en niños no inmunizados. (37)

De cualquier manera, es claro que el potente y multifacético macrófago, así como los linfocitos T, representan el mejor conducto para contener a *M. tuberculosis*, limitándolo a una infección latente en 90% de las personas sanas; desde luego, ello implica falla inmunológica en 10% de los casos, en los cuales se presentan procesos activos o reactivaciones. (37)

Más allá de las inmunodeficiencias, los mecanismos que sustentan la persistencia del bacilo dentro de los macrófagos incluyen la inhibición de la maduración fagosómica y la fusión fagolisosomal, así como las alteraciones en la homeostasis del calcio y hierro, y en el metabolismo celular de los lípidos. Todo ello supone algún debilitamiento de la respuesta inmune coordinada por los linfocitos T y los macrófagos el cual, por un lado, resulta suficiente para contener al microorganismo, aunque sin erradicarlo y, por el otro, tolera una persistencia micobacteriana de largo plazo que pudiera derivar en alguna reactivación futura, al disminuir la inmunidad celular del individuo. (37)

Los estudios realizados para obtener modelos de respuestas protectoras contra la tuberculosis, han resultado en cierto grado reveladores: las células T CD4+ contactan a los antígenos inmunodominantes, entre los que destacan el ESAT-6 y el Ag85; sin embargo, observaciones realizadas en cobayos y humanos han mostrado que las respuestas múltiples (no las desencadenadas contra antígenos simples) son realmente las que proporcionan protección. (7)

Además, se ha comprobado que el rango de antígenos reconocidos por los linfocitos CD4+ y CD8+ es particularmente amplio, e incluye a las proteínas codificadas por el regulón DosR, en tanto que las células T CD1 y las NK son las que responden contra los antígenos lipídicos. (7)

Desafortunadamente, los hallazgos mencionados son insuficientes, por lo que los autores continúan buscando la composición que debe presentar una vacuna para lograr una respuesta 100% efectiva contra la enfermedad. (7)

iv. Factores de virulencia de *M. tuberculosis*

La nueva era de la biología molecular ha permitido conocer en su totalidad el genoma de los bacilos de la TB, aportando conocimientos sobre la virulencia micobacteriana y el posible desarrollo de nuevas drogas terapéuticas contra el padecimiento. (20)

En general, el genoma de estos microorganismos contiene información para la expresión de dos clases de productos: **a)** los que mantienen la vida del bacilo y permiten que se reproduzca eficazmente; y **b)** los que le permiten resistir la defensa innata y adaptativa del hospedador. (20)

En tal contexto, se han encontrado dos factores de especial trascendencia: el dimicocerosato de ftiocerol, que se encuentra en la superficie bacteriana, resulta fundamental para que la pared celular pueda resistir a la destrucción por macrófagos y, por su parte, la proteína ESAT-6 (de *early-secreted antigenic target*) micobacteriana, codificada por la región RD1 del genoma, induce el reclutamiento de macrófagos no activados, dentro de los cuales el desarrollo bacilar resulta eficaz; adicionalmente, los lípidos de la pared celular capacitan al microorganismo para sobrevivir dentro del fagosoma, impidiendo la acidificación y maduración de este organelo, requisitos indispensables ambos para el adecuado funcionamiento de los fagocitos profesionales. (20)

Se espera que en el futuro se puedan desarrollar algunas moléculas antimicrobianas que inhiban a los factores micobacterianos inductores de la sobrevivencia y reproducción del bacilo, e inclusive, se confía en que algunos de los productos que se obtengan también resulten efectivos contra otros microorganismos virulentos. Durante los próximos años se estará trabajando intensamente en estos tópicos estratégicos. (20)

v. Variaciones de los macrófagos en las lesiones tuberculosas

En una misma región anatómica afectada por bacilos tuberculosos, se pueden distinguir macrófagos y linfocitos con comportamientos diferentes, razón por la cual algunos mueren, otros sobreviven sin tener mayor participación y, sobretodo, una parte de ambas estirpes resulta determinante para la contención del crecimiento micobacteriano. (50)

Después de aplicar una inyección intravenosa de BCG, se ha constatado claramente que la CMI producida va decreciendo con el tiempo, aunque su nivel regresa a valores altos cuando llegan a ocurrir reinfecciones posteriores, merced a que el contacto inicial suele dejar una cantidad importante de clonas de linfocitos T que identifican a diversos antígenos del microorganismo; además, se trata de clonas que sintetizan importantes citocinas, las cuales propician el reclutamiento y la activación de los macrófagos, así como la llegada de más linfocitos al tejido afectado. (50)

Cuando se aplica una segunda inyección con otra bacteria intracelular facultativa diferente a *M. bovis* (por ejemplo, *Salmonella* o *Listeria*), los macrófagos locales previamente activados por la BCG destruyen inespecíficamente a esa bacteria, ya que la especificidad de la CMI reside exclusivamente en los linfocitos T, no en los macrófagos. (50)

Cabe señalar que la inoculación intravenosa con BCG provoca que las micobacterias se establezcan en bazo e hígado, por lo que consecuentemente ocurre la permanencia de macrófagos activados en dichos órganos. (32)

La cantidad de linfocitos T en la sangre y los tejidos se reduce con el tiempo, e inclusive, la prueba de la tuberculina llega a revertirse y dar negativa, cuando el bacilo de la TB y sus antígenos han sido eliminados del hospedero. Sin embargo, una reinfección desencadenaría el nuevo y relativamente rápido incremento de la CMI y de la DTH, así como la positividad a la tuberculina. (32)

Es indispensable considerar que, generalmente, la vacunación con BCG no impide el establecimiento del bacilo de la tuberculosis en los pulmones, sino sólo retrasa o evita el proceso patológico; empero, existe alguna posibilidad de que los 1, 2 o 3 bacilos recién inhalados pudieran ser destruidos por los macrófagos activados, producidos gracias a la BCG, antes de que iniciaran su reproducción en el tejido implicado. (45)

Evidentemente, una pequeña cantidad de 1 a 3 bacilos no representa suficientes antígenos para inducir la respuesta inmune; no obstante, esta situación cambia cuando el invasor logra reproducirse, ya que dichos antígenos alcanzan concentraciones más altas que facilitan su reconocimiento por parte de los linfocitos T. De esta manera, ocurre una rápida acumulación-activación de macrófagos y linfocitos, la cual

frecuentemente detiene el incipiente foco infeccioso interno, impidiendo el inicio de la enfermedad clínica. (45)

Sin embargo, el desafío de los investigadores que buscan nuevas vacunas consiste en encontrar antígenos más potentes que la BCG, en lo referente a la producción de linfocitos T activadores de macrófagos, aunque también intentan ubicar antígenos menos potentes que la BCG, los cuales generen poblaciones de linfocitos T que causen un nulo o muy pobre grado de necrosis caseosa pero, fundamentalmente, que no desencadenen la secuencial licuefacción del tejido afectado, condición esta última que se asocia a la posibilidad de que las micobacterias se multipliquen extracelularmente y agraven la patología. (14)

Cabe subrayar que diversos autores se inclinan más por lograr una formulación que provoque una gran respuesta de CMI, pero que se relacione con una baja o inexistente de DTH, ya que precisamente a esta última se le acredita la necrosis caseosa de los tejidos. (14)

De hecho, en caso de que esta vacuna se lograra concretar en el futuro, sin duda se buscaría que resultara negativa a la tuberculina, ya que esta prueba se asocia a una dañina reacción de hipersensibilidad tardía provocada por las tuberculino-proteínas. (14)

Por ello, la búsqueda se concentra en ciertas proteínas exentas de PPD, acomplejadas con algunos lípidos y carbohidratos, en virtud de que nunca

se ha logrado demostrar algún tipo de protección conferida por las tuberculino-proteínas que constituyen al mencionado derivado proteico.

(30)

Además, una vacuna que no generara positividad a la prueba de la tuberculina beneficiaría al diagnóstico del padecimiento: los individuos vacunados que eventualmente se transformaran en tuberculina-positiva serían tratados oportunamente, ya que la positividad sólo representaría alguna infección natural por bacilos de la tuberculosis. (30)

Por otra parte, también se trabaja con vacunas BCG recombinantes, las cuales corresponden a micobacterias que expresan antígenos de *M. tuberculosis* ausentes en *M. bovis* (como ESAT-6 y CFP-10, por *culture filtrate protein 10*) y, sobre todo, carecen de los genes asociados a la prueba de la tuberculina. (30)

Dada la razonada composición de este tipo de vacunas en desarrollo, no suena exagerado que éstas también pudieran utilizarse para el tratamiento de casos de tuberculosis reciente. Ello permitiría sustituir las terapias con isoniazida, droga sumamente hepatotóxica hacia la que ha aparecido una mayor resistencia entre las cepas nuevas que fungen como agentes causales. Inclusive, se ha propuesto que el plásmido al que se clona pudiera incorporar genes adicionales que codificaran para antígenos de otros microorganismos patógenos. (14)

III. INMUNOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS

La inmunidad celular (CMI) y la hipersensibilidad de tipo tardío (DTH), ambas mediadas por los linfocitos Th1, desempeñan papeles “clave” en la patogénesis de la tuberculosis: el bacilo no aparenta ser peligroso para el hospedero hasta que la respuesta inmune desarrolla. (52)

La TDH desarrollada contra antígenos asociados a la tuberculina conduce a la muerte de los macrófagos no activados dentro de los cuales se ha multiplicado la micobacteria, gracias a que la concentración local de antígenos asociados a la tuberculina pronto alcanza niveles tóxicos. (52)

Por su parte, la CMI origina la activación de los macrófagos que aún no han sido invadidos por el microorganismo, lo que parece ser un evento defensivo más efectivo que la activación (por la propia CMI) de los macrófagos que ya contienen al invasor. (52)

En otras palabras, los antígenos del bacilo que desencadenan la DTH son muy activos a partir de concentraciones bajas, en comparación con los que despiertan la CMI, ya que estos últimos se requieren en alta proporción. De hecho, la prueba intradérmica de la tuberculina sólo utiliza una unidad de PPD, que contiene 2×10^{-5} mg, puesto que la inoculación de mayores concentraciones (5 U) provocaría la necrosis caseosa de la

región puncionada. Todo ello hace suponer que los antígenos asociados a la tuberculina, aun estando en bajas concentraciones, propician la muerte de los macrófagos no activados y la de los bacilos tuberculosos que se reproducen en su interior. (52)

Cabe mencionar que los antígenos que inducen la CMI no han podido ser identificados ni cuantificados, aunque parecen ser proteínas distintas a las asociadas a la generación de DTH, las cuales se encuentran acomplexadas con lípidos o carbohidratos. (52)

i. Inmunidad mediada por células (CMI)

La CMI se caracteriza por la participación de numerosos linfocitos Th1 que, en presencia de sus antígenos homólogos, producen citocinas localmente, las cuales atraen a más linfocitos y a monocitos, macrófagos y células dendríticas (provenientes del torrente circulatorio), con el fin de activarlos secuencialmente. En este sentido, se puede afirmar que el IFN- γ y el TNF- α son las principales citocinas que activan macrófagos. (43)

El IFN- γ induce la expresión de receptores para la IL-2 por parte de macrófagos y monocitos, a fin de que esta importante citocina se encuentre en posibilidad de unirse a ellos, una vez que sea liberada por los propios linfocitos T (lo que representará una fuente adicional de activación), cuando estos contacten a los antígenos bacilares expuestos por el MHC-II de las APCs correspondientes. (43)

Los macrófagos activados producen especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, enzimas lisosomales y otros factores que matan y digieren a la micobacteria, pero sólo asumen dicha condición de “activados” después de alcanzar la región afectada, en donde es indispensable la presencia de linfocitos Th1 previamente sensibilizados por los antígenos bacilares asociados a inmunidad celular. En tal contexto, la acumulación local de macrófagos altamente activados quizá constituya la mayor fortaleza del hospedero para la lenta pero efectiva erradicación de los bacilos de la TB. (43)

ii. Hipersensibilidad de tipo tardío (DTH)

Por lo que se refiere a la DTH, el proceso es similar al descrito para la CMI, ya que involucra a los linfocitos Th1 y a sus citocinas; sin embargo, los antígenos proteicos implicados son diferentes, se requieren en menores cantidades y, por lo tanto, provocan necrosis caseosa en mayor escala, aun en presencia de pequeñas cantidades de bacilos en el tejido invadido. (43)

En resumen, la DTH mata a macrófagos que presentan en su interior fragmentos de bacilos tuberculosos, a partir de concentraciones bajas de los antígenos proteicos asociados a la tuberculina, mientras los antígenos relacionados con la CMI se requieren en concentraciones altas para que ocurra la activación de los macrófagos y, con ello, se impida el

crecimiento intracelular del invasor. Evidentemente, la CMI también puede desencadenar necrosis tisular en concentraciones muy altas de los antígenos correspondientes. (43)

iii. Sinergismo entre la CMI y la TDH

El papel de la CMI y la DTH en el control de microorganismos intracelulares facultativos fue largamente debatido durante décadas. En tal sentido, el detallado y prolongado análisis, tanto de las curvas de crecimiento de las micobacterias como de la histología de las lesiones de la tuberculosis, ha generado una gran coincidencia entre los autores, en el sentido de que existe una acción sinérgica entre la CMI y la DTH para la efectiva prevención del desarrollo bacilar *in vivo*. Empero, los individuos tuberculina-positiva con una intensa respuesta celular se defienden mejor que los tuberculina-positiva con respuesta celular débil; por ello, el daño tisular y la tasa de muerte resultan mayores en este último caso. (69)

Adicionalmente, el daño tisular por DTH detiene el crecimiento inicial del bacilo dentro de los macrófagos no activados, pero tal efecto citotóxico es insuficiente para detener el proceso patológico, mientras los invasores que logran escapar hacia zonas vecinas cercanas ingresen a macrófagos perifocales no sensibilizados; de hecho, la erradicación del microorganismo sólo ocurre cuando estos últimos macrófagos también hayan sido previamente activados vía la CMI; es preciso recordar que, en este punto, macrófagos y monocitos continúan llegando desde la sangre

y que recién arriban al tejido pulmonar lo hacen en calidad de no activados, pues aún no han entrado en contacto con las linfocinas que están siendo liberadas por los linfocitos Th1. (69)

De acuerdo con lo antes citado, los macrófagos representan un elemento “clave” de la respuesta contra el bacilo tuberculoso; a tal respecto, para detectar a un patógeno, dichos fagocitos deben reconocer ciertos patrones sobre la superficie del invasor, a través de receptores que captan manosa, complemento, fibronectina y los denominados TLRs (por *Toll-like receptors*). Esta familia de receptores TLR contiene al menos 10 integrantes, varios de los cuales reconocen PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos) ubicados en la pared micobacteriana, los cuales están constituidos principalmente por lipoproteínas y glucolípidos (entre los cuales destacan las lipoarabinomananas). (69)

Por ejemplo, la unión de lipoproteínas de *Mycobacterium* a los macrófagos humanos activan a la molécula NF- κ B de los fagocitos y, en respuesta, éstos liberan IL-12, lo que incrementa la transcripción de la enzima inducible sintetasa de óxido nítrico (NOS); ésta cataliza la síntesis de radicales óxido nítrico, indispensables para matar o inhibir el crecimiento del bacilo tuberculoso. Sobre este particular, se ha observado que la delección del gen de la NOS, o la inhibición química de la enzima, exacerba la tuberculosis experimental en ratones. (53)

Una vez que el microorganismo se une a los TLRs es internalizado en fagosomas; sin embargo, el bacilo impide parcialmente la fusión fagolisosomal y la acidificación del fagosoma, e inclusive, resiste la acción del contenido lisosomal y permite el ingreso de nutrientes y hierro. (53)

En concreto, recientemente se observó que *Mycobacterium* sintetiza una proteína serina/treonina cinasa G (pknG), muy parecida a la producida por los fagocitos, que es capaz de modular la señalización implicada en el tráfico de los organelos eucariontes y que es por este mecanismo que inhibe la fusión lisosoma-fagosoma. En consecuencia, se busca desarrollar agentes antituberculosos con tetrahydrobenzotiofeno, aprovechando que éste inhibe específicamente a la PknG. (60)

Análogamente, se ha detectado que las micobacterias liberan isocitrato liasa (ICL) dentro de los macrófagos murinos activados y no cuando se crecen libremente en macrófagos no activados, de lo cual se ha inferido que la ICL evita la destrucción del microorganismo por las microbiocinas de los macrófagos activados. Por tal motivo, se piensa que esta enzima podría ser “blanco” de futuros medicamentos antituberculosos, ya que no es producida por las células de mamíferos. (60)

iv. Eventos principales en la respuesta inmunitaria

Las APCs reconocen inicialmente a los LPS y a otros componentes microbianos que también pueden ser detectados por receptores situados

sobre la superficie de las células de la inmunidad innata; además, las APCs expresan factores co-estimulantes B7 y sus moléculas MHC de clase I y II, elementos necesarios para presentar antígenos a los linfocitos T. (63)

Estos últimos presentan al ligando CD28 (que se une a B7) y a su TCR encargado de reconocer al antígeno y a una parte del MHC que lo expone, con lo cual los linfocitos se activan y reproducen para dar lugar a la inmunidad antígeno-específica, aunque también liberan citocinas y producen otras moléculas de superficie, tales como el ligando CD40L que interactúa con CD40, otra molécula co-estimuladora de las APCs. (63)

La IL-12 sintetizada por macrófagos y DCs es una importante citocina que activa los mecanismos de inmunidad innata, la cual estimula a las NKs, aunque también a los linfocitos Th1; no obstante, subsecuentemente induce la síntesis de IL-10 en linfocitos y fagocitos, para detener o modular la propia producción de IL-12, además de activar a los linfocitos Th2. Los pacientes con VIH-SIDA suelen carecer de la capacidad para sintetizar IL-12, lo cual parece jugar un papel preponderante en su especial susceptibilidad a la TB. (63)

La principal APC para los linfocitos T es la DC situada en los márgenes de los nódulos linfáticos; ésta es producida en la médula ósea, reside en diversos tejidos y madura por un mecanismo de dos pasos: el primero se cubre al procesar antígenos y, el segundo, al ser estimulada por el

linfocito T. Los linfocitos B, los monocitos y macrófagos también son eficaces APCs, aunque su efectividad es menor a la de las DCs. (63)

Las DCs determinan la extensión de la respuesta de la inmunidad celular y su maduración depende del órgano en que se encuentra el microorganismo invasor. Las DCs que circulan en sangre son reclutadas en el sitio de la inflamación, tal como ocurre en los tejidos que presentan las lesiones tuberculosas y no sólo inician y mejoran la defensa específica, sino también la modulan. Las APCs presentan antígenos en forma de péptidos a la mayoría de los linfocitos T, vía sus MHC, hasta que estos son reconocidos por el TCR de algunos linfocitos. En general, las moléculas de MHC de clase I presentan péptidos generados en el citosol a los linfocitos T citotóxicos (CD8+) y los MHC de clase II lo hacen con antígenos procesados en los endosomas, a los linfocitos Th (CD4+). (63)

Los MHC difieren de persona a persona, por lo que la intensidad de la respuesta hacia los bacilos tuberculosos también varía entre los individuos. El ácido micótico y las lipoarabinomananas son componentes no peptídicos del microorganismo, presentados a los linfocitos T, ligados a moléculas superficiales CD1, más que a los propios MHC. (63)

Los linfocitos aportan la especificidad inmunológica contra el bacilo de la TB, vía las respuestas CMI y DTH. En este caso, el término “linfocitos de memoria” supone una amplia población de linfocitos que, dada su amplia

cantidad, origina y modula respuestas CMI y DTH en los sitios en donde bacilos exógenos y endógenos infectan al hospedero. (63)

En la TB, los linfocitos T tienen dos funciones principales: **a)** destruir a los macrófagos no activados o parcialmente activados dentro de los cuales el agente causal se reproduce; y **b)** producir citocinas que activan macrófagos para que puedan inhibir o matar al invasor. Dichos linfocitos se dividen en dos categorías: Th1 y Th2, dependiendo del tipo de citocinas que producen, y una población suprime o limita la respuesta de la otra. Los linfocitos Th1 producen IL-2 (que propicia la proliferación de células T), así como IFN- γ y TNF- β , que activan macrófagos. El IFN- γ desactiva la respuesta Th2 en la que se producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, las cuales promueven la producción de anticuerpos por los linfocitos B; la IL-4, IL-10 e IL-13 deprimen la respuesta Th1. (34)

Los macrófagos producen IL-12, un activador de los Th1, y posteriormente pueden liberar IL-10, para inhibir y modular la respuesta de Th1; así mismo, los linfocitos Th2 parecen contar con capacidad para disminuir la respuesta Th1 para que no resulte excesiva. (34)

Por lo que se refiere a los linfocitos B, estos producen anticuerpos, previa diferenciación a células plasmáticas, las cuales se observan en las lesiones tuberculosas; sin embargo, es importante considerar que las células B activadas también aumentan la producción de IFN- γ , estimuladas por las NKs, las cuales contribuyen matando macrófagos en

cuyo interior se reproducen bacilos de la TB, vía citotoxicidad mediada por células (apoptosis). (34)

De hecho, los linfocitos CD4+ son participantes “clave” en la respuesta hacia la enfermedad, porque también liberan IFN- γ y otras citocinas activadoras. Los individuos infectados por el HIV, con reducidas células CD4+, muestran mayor susceptibilidad a la TB y experimentan una forma más severa de la enfermedad. (34)

En cuanto al papel de los linfocitos CD8+ en la citotoxicidad mediada por células, destaca su destrucción de macrófagos invadidos por bacilos de la TB, aunque también la liberación de IFN- γ para activar macrófagos no activados. En ratones deficientes en células CD8 y en células deficientes en MHC-I, suelen ocurrir mayores daños por *M. tuberculosis*, ya que los linfocitos Tc destruyen a las células invadidas por el microorganismo, vía la producción y translocación de perforina y granzima, amén de la expresión de ligandos para Fas: la perforina genera poros en la célula “blanco”, por donde pasa la granzima para activar caspasas; evidentemente, el ligando de Fas también promueve la apoptosis. (34)

Finalmente, las células NK comprenden el 5 a 10% de los linfocitos de la sangre periférica, proliferan en respuesta a las citocinas liberadas por linfocitos T y macrófagos, presentan una morfología de grandes linfocitos granulares que no expresan proteína CD3 (como sucede en los linfocitos T) y presentan la proteína CD56 que las distingue. Las células

hospederas infectadas por bacilos de la TB y otros invasores intracelulares (incluyendo agentes virales), carezcan o no de MHC-I, pueden ser destruidas por las NKs, como parte de la inmunidad innata; además, éstas son importantes productoras tempranas de IFN- γ para activar macrófagos, aún antes de que aparezcan linfocitos T contra la micobacteria, e inclusive, responden inespecíficamente en contra de lípidos y glicolípidos incluidos en la estructura del bacilo. (34)

v. Papel de los anticuerpos en la tuberculosis

Los anticuerpos nunca han sido reconocidos como factores importantes para neutralizar la TB, dado que su papel como opsoninas o activadores del complemento resultan intrascendentes cuando se trata de microorganismos intracelulares con importantes y grandes cubiertas de lípidos. Ello se ha comprobado ampliamente en animales de laboratorio a quienes se ha inmunizado pasivamente con anticuerpos preformados. (38)

Sin embargo, gracias al potencial inflamatorio de la previa reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac), llegan con mayor rapidez al sitio lesionado una cantidad más abundante de linfocitos T y de otros tipos celulares que participan en la CMI y la DTH. (38)

Los anticuerpos circulantes dirigidos contra varios antígenos del bacilo pueden detectarse en todos los individuos tuberculina-positiva, incluidos

los individuos vacunados con la BCG y personas sanas con lesiones tuberculosas inaparentes. Dichos anticuerpos reaccionan con micobacterias exógenas (o endógenas) asociadas a reinfecciones y la reacción Ag-Ac resultante produce quimiotaxinas (por ejemplo, el péptido C5a del complemento), que propician rápidamente la llegada de DCs y macrófagos y, consecuentemente, la expansión de las poblaciones de linfocitos T antígeno-específicas en las regiones afectadas. (38)

vi. Citocinas

Las citocinas son proteínas liberadas por células del hospedero que afectan el comportamiento de otras células que circundan un tejido lesionado; incluyen citocinas, interleucinas y TNFs, entre las cuales la IL-1 y el TNF- α son consideradas como las primarias o tempranas, ya que median o regulan la participación de otras. En general, una determinada concentración de cierta citocina podría estimular a otras, pero una mayor proporción de la misma actuaría como represora. En tal contexto, una citocina excretada se uniría a glicoaminoglicanos de la matriz extracelular del tejido, para actuar como efectora en la región en la que se le requiere; sin embargo, la TNF- α es especial: puede transportarse hasta los nódulos linfáticos vecinos unida a partículas que contienen heparina liberadas por mastocitos (células cebadas). (1)

Las citocinas se han evaluado en modelos animales de tuberculosis que abarcan ratones, cobayos y conejos. Así, Kaplan y cols han publicado

trabajos en conejos con tuberculosis meníngea que resulta muy parecida a la del humano, en los que destacan la gran concentración de TNF en LCR, debido a la elevada cantidad de PMNs y macrófagos presentes, que correlaciona con la severidad del proceso patológico. Otras conclusiones derivadas de las observaciones en modelos animales, son:

- Las quimiocinas son quimiotácticas y la MCP-1 juega algún papel en la formación de las lesiones de la tuberculosis, ya que atrae macrófagos y linfocitos a la región afectada. (27)
- La IL-12 es producida en forma primaria por los fagocitos, incluidas las DCs, en respuesta a la internalización de bacilos. Activa a las NKs y a los linfocitos Th1 propiciando que sinteticen IFN- γ y TNF- β ; por lo tanto, IL-2 es una citocina “clave” en la CMI contra *M. tuberculosis*, que incrementa la sobrevivencia de ratones y humanos a cepas resistentes a las drogas antituberculosas. (19)
- Recientemente, se ha visto que la IL-17 (producida por linfocitos Th17) desempeña una función importante, estimulando a los fibroblastos y a las células locales para que produzcan citocinas que reclutan granulocitos y macrófagos en el sitio correspondiente. Sin embargo, existen evidencias de que la unión de IL-17 a la dectina-1 de las DCs reduce las capacidades de estas últimas y, por ende, favorece al bacilo tuberculoso. (68)

- El TNF- α es secretado predominantemente por monocitos y macrófagos tisulares, para inducir la respuesta inflamatoria y resistir a la TB, tal como se ha demostrado en ratones *knock out*, los cuales desarrollan una enfermedad severa y responden positivamente a la administración de esta citocina. (58)
- El IFN- γ también es liberado por linfocitos CD4, CD8 y NKs y su deficiencia en ratones *knock out* reduce muy bajos niveles de óxido nítrico sintetasa, con crecimiento bacilar. Análogamente, los humanos con carencia de receptor para esta citocina son particularmente susceptibles al desarrollo de micobacterias atípicas. (58)

IV. PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS

i. La vacuna BCG

La vacuna BCG fue desarrollada por los franceses Leon Calmette y Camille Guérin, el primero médico microbiólogo y, el segundo, veterinario y biólogo. En 1902, ellos empezaron a resembrar cada 3 semanas una cepa de *Mycobacterium bovis* que habían aislado a partir de una vaca con mastitis tuberculosa, hasta completar 230 pases; en 1913, inocularon esa cepa atenuada a terneros y cobayos sin reproducir en ellos enfermedad alguna y, posteriormente, desafiaron a vacas inmunizadas inoculándoles una cepa virulenta de *M. bovis*, sin que aparecieran lesiones propias de la tuberculosis. Finalmente, demostraron la protección en otros animales, incluyendo cerdos, conejos y caballos. (21)

En 1921 la vacuna se administró oralmente a humanos, entre ellos a un recién nacido de 3 días cuya madre había muerto de la enfermedad y la abuela, quien había quedado a su cuidado, padecía la forma activa; aunque en ese momento se desconocían los riesgos de la vacuna BCG, el pequeño nunca manifestó efecto alguno de tuberculosis. Entre 1921 y 1924 se aplicó a 600 niños más, sin que presentaran complicaciones serias y la producción alcanzó las 100,000 dosis en 1928, para ser administradas a igual cantidad de niños, incluidos algunos nietos de

Calmette. De acuerdo con dichos resultados, en ese mismo año la vacuna fue certificada como segura por la Liga de las Naciones, pero poco más tarde, un lote contaminado con *M. tuberculosis* se aplicó a 251 niños alemanes (en Lubeck), lo que provocó la muerte de 172 de ellos. (21)

Aun cuando todas las cepas de BCG que se distribuyeron mundialmente a diversos laboratorios partían de la trabajada por Calmette y Guérin, en relativamente poco tiempo ya existían clones genéticamente distintas a la original. El primer estudio aleatorio en que se valoró la eficacia de la protección fue realizado por Aronson entre 1935 y 1938. En 1947, la OMS inició un programa de control de la tuberculosis que incluyó la aplicación global de la BCG. A partir de la mitad de los 50s y hasta 1997, los lotes semilla de la vacuna fueron supervisados por la OMS y administrados por la *Danish State Serum Institute* de Copenhage (Dinamarca) pero, actualmente, la responsabilidad de la producción reside en las empresas manufactureras y su control recae en las agencias regulatorias de cada país, destacando cuatro cepas, conocidas respectivamente como Glaxo, Danish, Pasteur y Tokyo, las cuales representan el 90% de las utilizadas. (21)

La inmunización con la vacuna BCG induce una suave infección sistémica en los individuos sanos; la autopsia practicada a niños que murieron por causas ajenas a la TB revela la formación generalizada de granulomas. La infección controlada induce tanto la respuesta celular como la humoral hacia los antígenos micobacterianos y los sujetos inoculados exhiben la

proliferación de linfocitos T dirigidos contra proteínas de *M. bovis* y de *M. tuberculosis*, así como la producción de IFN- γ y otras citocinas Th1 dirigidas hacia la bacteria completa y los antígenos que secreta. (39)

Lógicamente, la respuesta de anticuerpos incluye a las clases IgM e IgG contra proteínas y péptidos derivados de estas proteínas micobacterianas, en tanto que la inmunidad celular contra la bacteria completa correlaciona con la positividad a la prueba de la tuberculina. Sin embargo, aún existen dudas y notables controversias acerca del grado de protección que proporciona a los individuos vacunados. Por ejemplo, se ha observado que la inmunización intradérmica resulta más efectiva que la subcutánea aunque, según un estudio aleatorio realizado en Sudáfrica, las vías percutánea e intradérmica (con Tokyo 172 BCG) proporcionan protecciones equivalentes. Desde luego, se coincide plenamente en que la aplicación de la vacuna está contraindicada para el caso de niños con SIDA. (39)

Aunque la mayoría de los países y de los organismos internacionales han concluido que la vacunación BCG en la población infantil es efectiva y útil, esta impresión no es compartida por varios países desarrollados, incluido EUA. (39)

ii. Respuestas a la tuberculina

La gran mayoría de las personas tuberculina negativa que son inmunizadas con la vacuna BCG desarrollan una prueba positiva varias semanas después. Evidentemente, el efecto va disminuyendo con el tiempo, por lo que algunos autores proponen que las reacciones mayores a 10 mm de diámetro después de varios años podrían indicar infecciones latentes con cepas silvestres, más que inmunidad debida a la BCG. Sin embargo, las reacciones inducidas por la tuberculina son frecuentemente mayores de 10 mm y podrían ser provocadas por la repetición de pruebas cutáneas y, aunque generalmente se establece que la sensibilidad en las pruebas tuberculina positiva no necesariamente representan protección contra la tuberculosis, se trata de un tema no estudiado ampliamente. No obstante, estudios en voluntarios humanos han mostrado correlación entre sensibilidad inducida a la tuberculina y marcadores contemporáneos in vitro de la respuesta inmune hacia la BCG. (12)

iii. Terapia antituberculosa

En la TB pulmonar se considera que participan al mismo tiempo tres poblaciones diferentes del agente causal:

La primera reside en un ambiente extracelular, multiplicándose eficazmente en los desperdicios caseosos de consistencia líquida, por lo cual suelen alcanzar cantidades de por lo menos 10^8 micobacterias dentro

de cada cavidad pulmonar típica. Esta población, dado que es la más grande, representa la de mayor posibilidad de que las mutaciones puntuales se asocien a resistencia a cierta droga antituberculosa, lo cual se piensa que ocurre naturalmente con una frecuencia de una de cada 10^6 - 10^7 células de *Mycobacterium tuberculosis*. (29)

La segunda población está conformada por pocos microorganismos de muy lento crecimiento intramacrofágico, como consecuencia de la acidez al interior del fagosoma y de la baja actividad reproductiva del bacilo, la cual resulta oportuna para éste porque casi no desencadena la actividad antimicrobiana del macrófago. (29)

La tercera población corresponde a micobacterias de la TB que desarrollan muy lentamente en el material caseoso sólido, al cual suelen no llegar las drogas terapéuticas, debido a la carencia de irrigación sanguínea en esa zona. (29)

Un tratamiento efectivo de la enfermedad, requiere de regímenes terapéuticos que incluyan agentes activos capaces de llegar hasta los bacilos, en sus distintos nichos. Adicionalmente, los medicamentos deben administrarse durante lapsos prolongados para asegurar la erradicación de todos los bacilos. (29)

La resistencia a las drogas de primera elección ocurre de manera natural y la administración de una sola conlleva una gran probabilidad de

provocar el surgimiento de alguna clona resistente y la consecuente diseminación del invasor; por tal motivo, la prescripción abarca regularmente a tres o cuatro de ellas, lo que crea una barrera estadística para el desarrollo de resistencia, puesto que las mutaciones correspondientes ocurren independientemente contra un agente a la vez. (29)

Asimismo, la administración de multidrogas antituberculosas incrementa la probabilidad de cubrir a los tres tipos de poblaciones de las que se hizo referencia anteriormente, independientemente de que sus nichos son totalmente diferentes. (26)

Las principales drogas de primera elección, dadas su eficacia y su “menor” toxicidad como efecto colateral, son las siguientes:

- Isoniazida (INH)
- Rifamicina (RIF)
- Pirazinamida (PZA)
- Estreptomina (SM)
- Etambutol (EMB)

La INH resulta bactericida contra bacilos tuberculosos intra y extracelulares; la RIF es bactericida para las tres poblaciones; la PZA es bactericida contra bacilos intracelulares y funciona eficazmente a pH ácido; la SM y otros aminoglucósidos son bactericidas para

microorganismos extracelulares; y el EMB carece de actividad bactericida, por lo que sólo es utilizado cuando se ha logrado comprobar resistencia a alguna de las otras drogas. (16)

Los regímenes terapéuticos suelen ser divididos en dos fases: la primera incluye a las primeras ocho semanas del tratamiento y, la segunda, conocida como “de continuación”, consta de 4 a 7 meses, dependiendo de la respuesta obtenida. (16)

Durante la primera fase se emplean conjuntamente las drogas con los más potentes efectos esterilizantes: RIF, PZA e INH, para eliminar a los bacilos y convertir en negativa su presencia en el esputo. En cuanto a la fase de continuación, suelen emplearse INH + RIF, para eliminar a los microorganismos residuales, reduciendo la posibilidad de recaídas posteriores. (16)

Cabe agregar que las fluoroquinolonas están indicadas cuando existe resistencia micobacteriana a algunas drogas de primera elección, o bien, cuando éstas no están siendo toleradas por el enfermo, ya que se trata de antibióticos con actividad bactericida contra *M. tuberculosis*. (16)

En virtud de la propensión para desarrollar resistencia y de que los regímenes terapéuticos deben administrarse durante periodos prolongados, la adhesión al tratamiento por parte del enfermo resulta fundamental. (16)

A tal respecto, es necesario mantener la estrategia conocida como “terapia observada directamente (DOT)”, la cual consiste en una estrecha y minuciosa supervisión por parte de los servicios de salud, a fin de que el paciente haga la toma de sus medicamentos puntualmente y no abandone el régimen establecido para evitar los efectos colaterales de las drogas prescritas. (16)

Es importante tomar en cuenta que la INH, así como la RIF y la PZA son hepatotóxicas, que el EMB causa colateralmente neuritis óptica con pérdida de la visión y que la SM es ototóxica; por lo tanto, el monitoreo del médico debe incluir la constante revisión de estas posibles irregularidades, las cuales obligarían a modificar el régimen original, ya sea incorporando fluoroquinolonas, otras drogas de primera elección, o bien, etionamida, cicloserina o ácido p-amino salicílico (PAS), considerados agentes antituberculosos de segunda elección. (16)

iv. Inmunoterapia

Durante la primera parte del siglo XX, los exitosos resultados del tratamiento a base de drogas antituberculosas desalentaron la promisoriosa incorporación de la inmunoterapia a la estrategia de combate de la enfermedad ocasionada por el complejo *M. tuberculosis*. (2)

Sin embargo, en los tiempos más recientes, dos aspectos fundamentales han influido para retomar el tema:

- En primer lugar, la necesidad de sostener los regímenes terapéuticos a base de drogas y antibióticos, durante lapsos particularmente prolongados que fluctúan entre los 6 y los 9 meses, con todos los problemas, esfuerzos y dificultades que representan para el sistema de salud y los propios enfermos poder completar los protocolos. (2)

A este respecto, debe señalarse que los síntomas del padecimiento y su transmisión suelen desaparecer en pocas semanas, pero es indispensable que el paciente lleve a término su régimen, para eliminar a las células micobacterianas persistentes que en el futuro cercano podrían ser la causa de serias recaídas. Es decir, en el caso de esta lesiva enfermedad, no debe dejarse al sistema inmune la erradicación del agente causal, después de haberse administrado una dosificación insuficiente de las drogas correspondientes, ya que las consecuencias pueden resultar altamente graves, e inclusive, fatales.

Cabe destacar que en los enfermos que han recibido terapia, los valores de IFN- γ son verdaderamente bajos, lo que sugiere que la enfermedad activa se asocia a una relativa depresión de la inmunidad, en comparación con las concentraciones encontradas

en las personas con infección latente tuberculina positiva. Los mecanismos involucrados aún no se han aclarado, pero los factores esenciales podrían incluir la producción de citocinas que suprimen las respuestas de Th1 (por ejemplo, TGF- β), o bien, la destrucción de linfocitos vía apoptosis. En tal sentido, es claro que la reversión del problema con inmunoterapia podría apoyar la recuperación del enfermo.

- La segunda razón para retomar el estudio de la inmunoterapia reside en el inexorable aumento de las cepas de *M. tuberculosis* multi-resistentes a las drogas. Lógicamente, se han evaluado otros instrumentos de inmunoterapia para aplicarse junto con los regímenes terapéuticos antituberculosos, entre los que figura el uso de una preparación inactivada de *Micobacterium vaccae*, una especie no patógena que habita en el suelo la cual, sin embargo, induce una interesante y potente respuesta de IL-12, actuando como un eficaz adyuvante que favorece al fenotipo Th1. Es decir que, si en una TB se desvía la respuesta del sistema inmune hacia el predominio de linfocitos Th2 a todas luces ineficaces, la inmunoterapia con *M. vaccae* podría beneficiar al hospedero afectado. (2)

Inicialmente, *M. vaccae* fue estudiado en una serie de pruebas clínicas que resultaron prometedoras, aunque se desataron numerosos cuestionamientos asociados a las metodologías empleadas. Más

recientemente, ensayos realizados con óptimas medidas de control de calidad se han realizado en Sudáfrica, Uganda y Tanzania, con resultados variados, detectados principalmente a través de la observación y cuantificación de bacilos ácido-alcohol resistentes en la expectoración de las personas involucradas. (2)

La modulación de actividades inmunológicas basadas en la administración de citocinas representa una segunda forma de inmunoterapia contra la TB, la cual es particularmente interesante para tratar a enfermos infectados por cepas multi-resistentes a las drogas antituberculosas. Algunos estudios se han realizado administrando IL-2, concluyéndose que es una actividad segura, con la cual se requieren efectuar más experimentos para asegurar que confiere efectos benéficos. (41)

Otros esfuerzos se han enfocado en el empleo de TNF- α ; si bien esta molécula se requiere para la activación de macrófagos, en concentraciones mayores ocasiona necrosis tisular y la destrucción característica de la tuberculosis. (41)

La talidomida, aunque retirada del mercado como analgésico, ha seguido siendo empleada para el tratamiento de episodios asociados a dolor y daño nervioso en pacientes con lepra. Ahora se sabe que la talidomida proporciona buenos resultados porque disminuye la expresión del TNF- α , debido a que disminuye la vida media del mRNA. (41)

Además de la posible reducción del daño tisular en la tuberculosis aguda, la disminución en los niveles de TNF- α podría lograr un impacto importante en la desafortunada interacción entre el HIV y *M. tuberculosis*: La mejorada replicación del virus en las células activadas por la citocina parece contribuir al progreso acelerado del SIDA en individuos co-infectados, lo que podría abatirse con talidomida, prolongando la sobrevida del enfermo. (41)

CONCLUSIONES

1. La principal vía de transmisión de la tuberculosis pulmonar es la aérea y funciona más eficazmente con las emisiones del enfermo menores de 5 μm de diámetro que sólo contienen uno a tres bacilos, en virtud de que permanecen suspendidas mayor tiempo y su menor tamaño les permite alcanzar los pulmones.
2. La forma más grave de la tuberculosis pulmonar es la cavitaria, ya que los microorganismos acceden al árbol bronquial y se diseminan hacia otras áreas de los pulmones.
3. En la defensa contra la tuberculosis, los linfocitos Th1 son fundamentales, en virtud de que desencadenan los dos factores principales: la CMI, que se encarga de la activación de los macrófagos, para que el bacilo no pueda crecer dentro de ellos y, la DTH, la cual destruye a los macrófagos no activados, a los bacilos que se reproducen libremente en el interior de estos y, desafortunadamente, también a los tejidos involucrados.
4. Si bien los anticuerpos anti-*M. tuberculosis* no afectan directamente al agente causal, contribuyen a la ampliación de la respuesta

inflamatoria, provocando la infiltración de CD4, macrófagos y linfocitos T a la región en la que se desarrollan las lesiones.

5. Entre las principales citocinas que liberan los linfocitos T para comandar la defensa contra la tuberculosis, destacan el IFN- γ y el TNF- α . Los pacientes que experimentan la forma latente de la enfermedad, sufren la reactivación de la infección cuando reciben terapias que inhiben al TNF- α como terapia de la artritis reumatoide u otros padecimientos autoinmunes.
6. El papel de la recién descubierta IL-17 es paradójica, ya que por un lado propicia la producción de agentes quimiotácticos que atraen células de defensa a la región afectada pero, por otro, disminuyen ostensiblemente el papel de las CD4, favoreciendo la persistencia y multiplicación del bacilo tuberculoso.
7. Las tuberculino-proteínas que participan originando la positividad en la prueba cutánea de la tuberculina, son las que, en bajas concentraciones, desencadenan la DTH, la cual protege contra el agente causal pero también ejerce una acción citotóxica contra los tejidos invadidos, generando la denominada necrosis caseosa.
8. *M. tuberculosis* desarrolla eficazmente dentro de los macrófagos no activados, pero sus mayores cantidades se generan extracelularmente en los tejidos caseosos que han experimentado

licuefacción. En consecuencia, es en estos en donde el microorganismo presenta mutaciones puntuales que le confieren resistencia a las drogas antituberculosas que se le administran al enfermo.

9. La vacuna BCG es cuestionada en los países desarrollados, ya que ocasiona la enfermedad a algunos individuos; además, su papel resulta intrascendente en personas que han padecido infecciones por NTM, habida cuenta que el bacilo vacunal es destruido antes de que logre establecerse y reproducirse en los tejidos de las persona inmunizadas.

10. Las drogas antituberculosis de primera elección son RIF, INH, PZA, SM y EMB; durante las primeras 8 semanas de la terapia se prescriben conjuntamente 3 ó 4 de ellas para evitar que las clonas resistentes que puedan aparecer continúen su reproducción, agravando la enfermedad; los 4 a 7 meses siguientes se administran INH+RIF para erradicar a los bacilos sobrevivientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Negar Niki A., Courtney M.Y., Miramontes R., Pratt R., Price S. F., Navin T.R.: Trends in tuberculosis, CDC United States, *Morbidity & Mortality Weekly Report*, 2014; 63(11): 229-233.
2. Amanzholova L.: Epidemiological and Diagnostic Aspects of Osteoarticular Tuberculosis in Children and Adolescents in Kazakhstan, *Medical & Health Science Journal*, 2011; 75-81.
3. Anderson J.A., Meissner J.S., Ahuja S.D., Shashkina E., O'Flaherty T., Proops D.C.: Confirming *Mycobacterium tuberculosis* transmission from a cadaver to an embalmer using molecular epidemiology, *American Journal of Infection Control*, 2015; 43(5): 543-545.
4. Balsanelli A.P., Cunha I.C.K.O. and Whitaker I.Y.: Epidemiological characteristics of cases of death from tuberculosis and vulnerable territories, *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 2015; 23(5): 910-918.
5. Banu S., Rahman T., Uddin M., Mohammad K.M., Khatun R., Ahmed T., Rahman M., Husain A., van Leth F.: Frank epidemiology of tuberculosis in an urban slum of Dhaka City, Bangladesh, *PLoS ONE*, 2013; 8(10): 1-8.
6. Baquero-Artigao F., Mellado-Peña M.J., Del Rosal-Rabes T., Noguera J.A., Goncé-Melgren A., De La Calle Fernández-Miranda M., and Navarro Gómez M.L.: Spanish Society for Pediatric Infectious Diseases, guidelines on tuberculosis in pregnant women and neonates (i): Epidemiology and diagnosis. Congenital tuberculosis, *Anales de Pediatría*, 2015; 83(4): 285-285.
7. Bishara H., Goldstein N., Hakim M., Vinitzky O., Shechter A.D., Weiler R.D.: Tuberculosis during Pregnancy in Northern Israel 2002-2012, *Women's Health Weekly*, 2015; 17(6): 346-350.
8. Bishwakarma R., Kinney W.H., Honda J.R., Mya J., Strand M.J., Gangavelli A., Bai X., Ordway D.J., Iseman M.D. and Chan E.D.: Epidemiologic link between tuberculosis and cigarette/biomass smoke exposure: Limitations despite the vast literature, *Respirology*, 2015; 20(4): 556-568.

9. Bojang A.L., Mendy F.S., Tientcheu L.D., Otu J., Antonio M., Kampmann B., Agbla S., and Sutherland J.S.: Comparison of TB-LAMP, GeneXpert MTB/RIF and culture for diagnosis of pulmonary tuberculosis in the Gambia. *The Journal of Infection*, 2015; 72(3): 332-337.
10. Borgdorff M.W. and Soolingen D.: The re-emergence of tuberculosis: what have we learnt from molecular epidemiology?, *Clinical Microbiology & Infection*, 2013; 19(10): 889-901.
11. Chandran A., Antony C., Jose L., Mundayoor S., Natarajan K., Kumar R.A.: *Mycobacterium tuberculosis* Infection Induces HDAC1-Mediated Suppression of IL-12B Gene Expression in Macrophages, *Frontiers in Cellular and Infección Microbiology*, 2015; 5(90): 1-14.
12. Cuéllar L., Castañeda C.A., Rojas K., Dolores-Cerna K., Castillo M., Vicente W., Flores C.: Características clínicas y toxicidad del tratamiento de tuberculosis en pacientes con cáncer, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 2015; 272-277.
13. Davidow A.L., Katz D., Ghosh S., Blumberg H., Tamhane A., Sevilla A., Reves R.: Preventing Infectious Pulmonary Tuberculosis Among Foreign-Born Residents of the United States, *American Journal of Public Health*, 2015; 105(9): 81-88.
14. Delogu G., Manganelli R., Brennan M.J.: Critical research concepts in tuberculosis vaccine development, *Clinical Microbiology & Infection*, 2014; 20(S5): 59-65.
15. Durando P., Alicino C., Orsi A., Barberis I., Paganino C., Dini G., Mazzarello G., Del Bono V., Viscoli C., Copello F., Sossai D., Orengo G., Ansaldo F. and Icardi G.: Latent tuberculosis infection among a large cohort of medical students at a teaching hospital in Italy, *BioMed Research International*, 2015; 1-6.
16. Fontalvo Rivera D., Gómez Camargo D., Gómez Arias R.: Análisis de la Política para el Control de la Tuberculosis en Colombia, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 2014; 775-780.
17. Gallivan M., Shah N. and Flood J.: Epidemiology of human *Mycobacterium bovis* disease, California, USA, 2003-2011, *Emerging Infectious Diseases*, 2015; 21(3): 435-443.
18. Getahun H., Matteelli A., Chaisson R.E. and Raviglione M.: Latent *Mycobacterium tuberculosis* Infection, *New England Journal of Medicine*, 2015; 372(22): 2127-2135.
19. Giri P., Basu S., Sargeant T., Rimmer A., Pirzada O., and Adishes A.: Pre-placement screening for tuberculosis in healthcare workers, *Occupational Medicine*, 2014; 64(7): 524-529.

20. González D.A., Battaglioli T., Díaz R.R., Goza V.R., González O.E., Van der Stuyft P.: Molecular epidemiology of tuberculosis in Havana, Cuba 2009, *Tropical Medicine and International Health*, 2015; 20(11): 1534-1543.
21. Gonzalo X., Ambroggi M., Cordova E., Brown T., Poggi S., Drobniowski F.: Molecular Epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*, *Emerging Infectious Diseases*, 2011; 528-531.
22. Guo Y., Deng Y., Huang Z., Luo Q., Peng Y., Chen J., Jiang H., Ye J., Li J.: EBP50 induces apoptosis in macrophages by upregulating nitric oxide production to eliminate intracellular *Mycobacterium tuberculosis*, *Nature*, 2016; 1-11.
23. Hermans S., Horsburgh C.R. and Wood R.: A century of tuberculosis epidemiology in the Northern and Southern Hemisphere: The Differential Impact of Control Interventions. *PLoS ONE*, 2015; 10(8): 1-13.
24. Herrera L.L., Pozuelo D.R., Molina M.T., Valverde C.A., Saiz V.P., Jiménez P.M.S.: Aplicación de métodos moleculares para la identificación de las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, *Elsevier*, 2009; 496-502.
25. Jiménez-Corona M.E., García-García L., de León A.P., Bobadilla-del Valle M., Torres M., Canizales-Quintero S., Palacios-Merino C., Molina-Hernández S., Martínez-Gamboa R.A., Juárez-Sandino L., Cano-Arellano B., Ferreyra-Reyes L., Cruz-Hervert L.P., Báez-Saldaña R., Ferreira-Guerrero E., Sada E., Marquina B., Sifuentes-Osornio J.: Investigación sobre epidemiología convencional y molecular de tuberculosis en Orizaba, Veracruz, 1995-2008, *Salud Pública de México*, 2009; 51(S3): 470-478.
26. Knight G.M., Gomez G.B., Dodd P.J., Dowdy D., Zwerling A., Wells W.A., Cobelens F., Vassall A., White R.G.: The Impact and Cost-Effectiveness of a Four-Month Regimen for First-Line Treatment of Active Tuberculosis in South Africa, *PLoS ONE*, 2015; 10(12): 1-13.
27. Koenig S.P., Rouzier V., Vilbrun S.C., Morose W., Collins S.E., Joseph P., Decome D., Ocheretina O., Galbaud S., Hashiguchi L., Pierrot J. and Pape J.W.: Tuberculosis in the aftermath of the 2010 earthquake in Haiti, *Bulletin of the World Health Organization*, 2015; 93(7): 498-502.
28. Lee Robyn S., Radomski N., Proulx J.F., Manry J., McIntosh F., Desjardins F., Soualhine H., Domenech P., Reed M.B., Menzies D., and Behr M.A.: Reemergence and amplification of tuberculosis in the canadian arctic, *Journal of Infectious Diseases*, 2015; 211(12): 1905-1914.

29. Leonor M.E.L. and Reis-Santos B.: Determinants of tuberculosis in Brazil: from conceptual framework to practical application, *Revista Panamericana de Salud Pública*, 2015; 38(1): 28-34.
30. Liao T-YA., Lau A., Joseph S., Hytönen V., Hmama Z.: Improving the Immunogenicity of the *Mycobacterium bovis* BCG Vaccine by Non-Genetic Bacterial Surface Decoration Using the Avidin-Biotin System, *PLoS ONE*, 2015; 10(12): 1-25.
31. López V., Alberdi P., Mera I.G., Barasona J.A., Vicente J., Garrido J.M., Torina A., Caracappa S., Lelli R.C., Gortázar C., de la Fuente J.: Evidence of co-infection with *Mycobacterium bovis* and tick-borne pathogens in a naturally infected sheep flock, *Elsevier*, 2015; 384-389.
32. Mandal A., Das Sibes K., Bairagya T.D.: Experience of Managing Abdominal Tuberculosis at a Tertiary Care Hospital in India, *Journal of Global Infectious Diseases*, 2011; 3(4): 344-347.
33. Mathad J.S., Gupta A.: Tuberculosis in Pregnant and Postpartum Women: Epidemiology, Management, and Research Gaps, *Clinical Infectious Diseases*, 2012; 55(11): 1532-1549.
34. Menzies H.J., Winston C.A., Holtz T.H., Cain K.P., MacKenzie W.: Epidemiology of tuberculosis among US- and foreign-born children and adolescents in the United States, 1994-2007, *American Journal of Public Health*, 2010; 100(9): 1724-1729.
35. Moleavin I., and Dobrescu C.: Pulmonary Tuberculosis: Transversal Epidemiological Study, *Bulletin of the Transylvania Medical Sciences*, 2012; 129-134.
36. Mundhra S.H., Thakker R.M., Upadhyay G.P., Mundhra K.S., Trivedi N.S., Shah Y.: A study of epidemiology and clinical profile of tuberculosis in patients living with HIV-Aids, *International Journal of Medical Science and Public Health*, 2014; 3(12): 1519-1522.
37. Odone A., Riccò M., Morandi M., Borrini B.M., Pasquarella C., Signorelli C.: Epidemiology of tuberculosis in a low-incidence Italian region with high immigration rates: differences between not Italy-born and Italy-born TB cases, *BMC Public Health*, 2011; 11: 376-384.
38. Oren E., Winston C.A., Pratt R., Robinson V.A., Narita M.: Epidemiology of Urban Tuberculosis in the United States, 2000-2007, *American Journal of Public Health*, 2011; 101(7): 1256-1263.
39. Osman M., Seddon J.A., Dunbar R., Draper H.R., Lombard C., Beyers N.: The complex relationship between human immunodeficiency virus infection and death in adults being treated for tuberculosis in Cape

- Town, South Africa Infectious Disease epidemiology, *BMC Public Health*, 2015; 15(1): 1-8.
40. Panagiotou M., Papaioannou A.I., Kostikas K., Paraskeua M., Velentza E., Kanellopoulou M., Filaditaki V., Karagiannidis N.: The epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria: Data from a General Hospital in Athens, Greece, 2007-2013, *Pulmonary Medicine*, 2014; 1-9.
 41. Peltzer K., Naidoo P., Matseke G., Louw J., Mchunu G., Tutshana B.: Prevalence of post-traumatic stress symptoms and associated factors in tuberculosis (TB), TB retreatment and/or TB-HIV co-infected primary public health-care patients in three districts in South Africa, *Psychology, Health & Medicine*, 2013; 18(4): 387-397.
 42. Pérez Lago L., Herranz M., Comas I., Ruiz Serrano M.J., López Roa P., Bouza E., García de Viedma D.: Ultra-fast assessment of the presence of a high-risk *Mycobacterium tuberculosis* strain in a population, *Journal of Clinical Microbiology*, 2015; 54(3): 779-781.
 43. Peto H.M., Pratt R.H., Harrington T.A., LoBue P.A., Armstrong L.R.: Epidemiology of Extrapulmonary Tuberculosis in the United States, 1993-2006, *Clinical Infectious Diseases*, 2009; 49: 1350-1357.
 44. Piñeiro P.R., Cilleruelo O.M.J., García López-Hortelano M., García A. M., Medina C.A.F., Mellado P.M.J.: Interpretación de la prueba de tuberculina en niños con alteración de la inmunidad celular mediada por linfocitos CD4, *Anales de Pediatría*, 2014; 47-50.
 45. Quezada A.S., Sánchez G.S.: Vacuna contra la tuberculosis BCG: Eficacia y efectos adversos, *Revista Ciencia UNEMI*, 2015; 120-125.
 46. Reyes C.A., Díaz J.M., Pérez R.A.: Tuberculosis y SIDA: Algunos aspectos clínicos y epidemiológicos en 72 enfermos cubanos, *Revista Cubana*, 2014; 56(1): 35-41.
 47. Gupta R.K., Rice B., Brown E.A., Thomas H.L., Zenner D., Anderson L., Pedrazzoli D., Pozniak A., Abubakar I., Delpech V., Lipman M.: Does antiretroviral therapy reduce HIV-associated tuberculosis incidence to background rates?, A national observational cohort study from England, Wales, and Northern Ireland, *The Lancet. HIV*, 2015; 243-251.
 48. Rodríguez-Ríos M., Aguilar-Anguiano L.M., Galván-Berlín A.A., Hernández-Sánchez R., Castro-Lizárraga M., Rodríguez F.: Epidemiología de la tuberculosis y enfermedades asociadas en los escalones del Servicio de Sanidad Militar en el periodo 2007-2011, *Revista de Sanidad Militar*, 2014; 68(5): 245-250.

49. Sacchi Flávia P.C., Praça Renata M., Tatara Mariana B., Simonsen V., Ferrazoli L., Croda M.G., Suffys P.N., Ko A.I., Andrews J.R., Croda J.: Prisons as reservoir for community transmission of tuberculosis, *Emerging Infectious Diseases*, 2015; 21(3): 452-455.
50. Saedi S., Youssefi M., Safdari H., Soleimanpour S., Marouzi P., Ghazvini K.: Sequence Analysis of lip R: A Good Method for Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis*, *Current Microbiology*, 2015; 1(4): 443-448.
51. Saelens J.W., Lau-Bonilla D., Moller A., Medina N., Guzmán B., Calderón M., Herrera R., Sisk D.M., Xet-Mull A.M., Stout J.E., Arathoon E., Samayoa B., Tobin D.M.: Epidemiology: Whole genome sequencing identifies circulating Beijing-lineage *Mycobacterium tuberculosis* strains in Guatemala and an associated urban outbreak, *Tuberculosis*, 2015; 95(6): 810-816.
52. Salih Yaarub I., Ibraheem M.S., Subhi R.: Epidemiological characters of Tuberculosis in Salahaldeen Governorate during 2008, *Tikrit Medical Journal*, 2011; 17(1): 99-111.
53. Sánchez G.C.: Tuberculosis: epidemiología y actualización en métodos diagnósticos, *Revista Biomédica MedWave*, 2011; 11(11): 223-228.
54. Schopfer K., Steinlin-Schopfer J.F., Bodmer T., Rieder H.L., Van Soolingen D., Chantana, Y., Studer P., Laurent D., Richner B. and Zwahlen M.: Molecular epidemiology of tuberculosis in Cambodian children, *Epidemiology and Infection*, 2015; 143(5): 910-921.
55. Senado D.J.: Tuberculosis en grupos de riesgo en la Región Metropolitana, 2008, *Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias*, 2010; 105-111.
56. Shuldiner J., Leventhal A., Chemtob D., Mor Z.: Mortality after anti-tuberculosis treatment completion: results of long-term follow-up, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2016; 20(1): 43-48.
57. Sibley L., Dennis M., Sarfas C., White A., Clark S., Gleeson F., McIntyre A., Rayner E., Pearson G., Williams A., Marsh P., Sharpe S.: Route of delivery to the airway influences the distribution of pulmonary disease but not the outcome of *Mycobacterium tuberculosis* infection in rhesus macaques, *Tuberculosis (Edinb)*, 2015; 141-149.
58. Smaoui S., Mezghanni M.A., Marouane C., Kammoun S., Messadi-Akrout F., Hammami B., Ben Jemaa M., Zalila N., Ghorbel A.: Tuberculosis lymphadenitis in a southeastern region in Tunisia:

Epidemiology, clinical features, diagnosis and treatment, *International Journal of Mycobacteriology*, 2015; 4(3): 196-201.

59. Smith G.S., Schoenbach V.J., Richardson D.B., Gammon M.D.: Particulate air pollution and susceptibility to the development of pulmonary tuberculosis disease in North Carolina: an ecological study, *International Journal of Environmental Health Research*, 2014; 103-112.
60. Traore F.A., Sako F.B., Sylla D., Bangoura M., Kpamy D.O., Traore M., Doumbouya M., Sangare I.: Epidemiology of bacillary pulmonary tuberculosis according to HIV status of patients followed in the department of infectious diseases Conakry (Guinea), *Bulletin de la Societe de pathologie exotique*, 2014; 346-350.
61. Unis G., Ribeiro A.W., Esteves L.S., Spies F.S., Picon P.D., Dalla Costa E.R., Rosa R.M.L.: Tuberculosis recurrence in a high incidence setting for HIV and tuberculosis in Brazil, *BMC Infectious Diseases*, 2014; 1-14.
62. Úriz J., Repáraz J., Castiello J., Sola J.: Tuberculosis en pacientes infectados por el VIH, *Anales del sistema sanitario*, 2007; 131-142.
63. Velayati Ali Akbar, Farnia Parissa, Mozafari Mohadese, Malekshahian Donya, Farahbod Amir Masoud, Seif Shima, Rahideh Snaz, Mirsaeidi Mehdi.: Identification and Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* Isolated from water and soil samples of a Metropolitan City, *CHEST*, 2014; 147(4): 1094-1102.
64. Wang W., Mathema B., Hu Y., Zhao Q., Jiang W., Xu B.: Role of casual contacts in the recent transmission of tuberculosis in settings with high disease burden, *Clinical Microbiology & Infection*, 2014; 1140-1145.
65. Wang X., Yang Z., Fu Y., Zhang G., Wang X., Zhang Y. and Wang X.: Insight to the epidemiology and risk factors of extrapulmonary tuberculosis in Tianjin, China during 2006-2011, *PLoS ONE*, 2014; 9(12): 1-12.
66. Yamamura Mellina, Arcencio Ricardo Alexandre.: Social indicators, deaths and hospitalizations due to tuberculosis: an ecological study, *Online Brazilian Journal of Nursing*, 2014; 379-381.
67. Young K.H., Ehman M., Reves R., Maddox B.L., Khan A., Chorba T.L., Jereb J.: Tuberculosis Contact Investigations, United States, 2003-2012, *Center for disease control and prevention*, 2016; 64(50): 1369-1374.

68. Zenaro E., Donini M. and Dusi S.: Induction of Th1/Th17 immune response by *Mycobacterium tuberculosis*: role of dectina-1, mannose receptor and DC-SIGN, *Journal of Leukocyte Biology*, 2009; 1393-1401.
69. Zhu Q., Zhang M., Shi M., Liu Y., Zhao Q., Wang W., Zhang G., Yang L., Zhi J., Zhang L., Hu G., Chen P., Yang Y., Dai W., Liu T., He Y., Feng G., Zhao G.: Human B cells have an active phagocytic capability and undergo immune activation upon phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis*, *Elsevier*, 2015; 558-567.
70. Zúñiga Carrasco Iván Renato, Caro Lozano Janett.: Pacientes con tuberculosis drogorresistente: un reto nacional en los tres niveles de salud, *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, 2013; 342-345.