



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Formación médica continuada: infecciones por micobacterias

Patogénesis de la tuberculosis y otras micobacteriosis



Pere-Joan Cardona

Unitat de Tuberculosi Experimental, Institut Germans Trias i Pujol, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 9 de octubre de 2017

Aceptado el 12 de octubre de 2017

On-line el 2 de diciembre de 2017

Palabras clave:

Mycobacterium tuberculosis

Hipótesis dinámica

Patogenicidad

R E S U M E N

La evolución entre la infección por *Mycobacterium tuberculosis* y la tuberculosis activa es multifactorial e implica diferentes escalas biológicas. La síntesis de ESAT-6 o la inducción de la necrosis de los macrófagos alveolares son claves, pero para entenderla se requiere tener en cuenta las dinámicas de reinfección endógena y exógena, el drenaje del parénquima pulmonar y la mecánica respiratoria, los procesos de fibrosis locales y la irrigación sanguínea. Paradójicamente, la respuesta inmune generada por la infección es altamente protectora (90%) contra la tuberculosis activa, aunque al basarse esencialmente en la proliferación de linfocitos Th1 no puede evitar la reinfección. La inmunosupresión severa tan solo puede explicar un 10% de los casos de tuberculosis activa, mientras que el resto es favorecido por comorbilidades, un ambiente proinflamatorio y una propensión genética desconocida. La capacidad patogénica de las micobacterias ambientales es discreta, ligada a déficits en la respuesta inmune innata y adquirida. Remarcable es la capacidad de generación de biofilms y la capacidad de *M. ulcerans* para generar la exotoxina micolactona.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Pathogenesis of tuberculosis and other mycobacteriosis

A B S T R A C T

The evolution between *Mycobacterium tuberculosis* infection and active tuberculosis is multifactorial and involves different biological scales. The synthesis of ESAT-6 or the induction of alveolar macrophage necrosis are key, but to understand it, it is necessary to consider the dynamics of endogenous and exogenous reinfection, drainage of lung parenchyma and respiratory mechanics, local fibrosis processes and blood supply. Paradoxically, the immune response generated by the infection is highly protective (90%) against active tuberculosis, although as it is essentially based on the proliferation of Th1 lymphocytes, it cannot prevent reinfection. Severe immunosuppression can only explain 10% of active tuberculosis cases, while the remainder are attributable to comorbidities, a proinflammatory environment and an unknown genetic propensity. The pathogenic capacity of environmental mycobacteria is discrete, linked to deficits in the innate and acquired immune response. The ability to generate biofilms and the ability of *M. ulcerans* to generate the exotoxin mycolactone is remarkable.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Keywords:

Mycobacterium tuberculosis

Dynamic hypothesis

Pathogenicity

Correo electrónico: pj.cardona@gmail.com

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.10.015>

0213-005X/© 2017 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

La entrada del bacilo

La calidad y cantidad de los aerosoles infectivos; y el surfactante

Los aerosoles infectados deben depositarse en el alvéolo pulmonar para poder generar la infección. De hecho, esta es una de las claves del éxito de *M. tuberculosis*: su capacidad para infectar el macrófago alveolar (MA). Es cierto que hay ciertos factores «protectores» que pueden evitar su capacidad infectiva. En primer lugar, la calidad del aerosol. No todos los enfermos son capaces de generar una cantidad suficiente de partículas aerosólicas susceptibles de poder internarse en el alvéolo¹. En segundo lugar, la calidad del surfactante que permite evitar el colapso de los alvéolos. El surfactante no deja de ser un tensioactivo, y como tal, tiene la capacidad de destruir la pared lipofílica de la micobacteria de manera que puede ser destruida por el MA al ser fagocitada². En todo caso, no sabemos hasta qué punto este factor es importante para evaluar la dosis infectiva. Lo que sí sabemos es que hay contactos próximos de enfermos con tuberculosis pulmonar activa (TBPA), expuestos constantemente a aerosoles infectivos, y que no han sido infectados³. Hay que tener en cuenta que las personas con más probabilidad de sufrir una tuberculosis activa (TBA) son aquellos que han estado en contacto con un caso de TBA de manera continuada, o sea más de 6 h al día por un periodo que depende del retraso diagnóstico y que se sitúa entre los 60 y los 90 días en países con un buen sistema sanitario⁴. Esto quiere decir que para desarrollar una TBA no sirve simplemente una infección única. Se requiere de un proceso de reinfección continuo⁵.

El espacio alveolar y el macrófago alveolar

Siempre hay que tener en cuenta la función fisiológica del alvéolo pulmonar para entender la esencia de la infección por *M. tuberculosis*. El alvéolo es una estructura muy delicada, configurada por unas células epiteliales, los neumocitos de tipo I, o células alveolares planas, que configuran el 95% de la superficie y que tienen un grosor ínfimo para permitir la difusión de gases, que a la vez han de atravesar las células endoteliales de los capilares que revisten los alvéolos. A la vez, estas células están adheridas firmemente entre ellas para evitar la entrada de plasma. Este hecho es trascendental, puesto que permite mantener una tensión superficial baja, gracias al surfactante generado por los neumocitos de tipo II, pero tiene una contrapartida negativa: evita la entrada de anticuerpos. Igualmente, cada alvéolo tiene su MA que se dedica a limpiar constantemente este espacio⁶. Hemos de tener en cuenta que aproximadamente cada 6 s el alvéolo se expande para permitir la entrada de aire del exterior, y con él todo tipo de partículas y de patógenos. La función del MA es mantener limpio el alvéolo para permitir el intercambio de gases y evitar a toda costa cualquier desarrollo inflamatorio que pueda romper su delicada estructura. El MA es, pues, una especie de «Don Limpio», no un «policia» dedicado a identificar patógenos para generar una respuesta inflamatoria inmediatamente, como sería el caso de las células de Langerhans de la piel. A este lavado también contribuye el surfactante, convertido en fluido alveolar, que sirve no solo para mantener la tensión superficial, sino que también lava el espacio alveolar, puesto que es constantemente drenado con el movimiento respiratorio hacia los bronquiolos, el árbol bronquial y la faringe, para ser deglutido y dirigido hacia el estómago. Diariamente drenamos aproximadamente 500 mL de fluido alveolar hacia el estómago.

La necrosis del macrófago alveolar como mecanismo de virulencia esencial

Cuando el bacilo viable es fagocitado por el MA, despliega su capacidad patogénica secretando 6 kDa *early secretory antigen*

target (ESAT-6). Este péptido es esencial para evitar la unión fagosoma-lisosoma y la apoptosis, y permite finalmente la entrada del bacilo en el citoplasma⁷. De esta manera, el bacilo aprovecha al máximo su capacidad de multiplicación en un único MA, aproximadamente entre 5-6 ciclos de división, para conseguir una concentración de entre 32 y 64 bacilos⁸. Este proceso se desarrolla durante unos 5-6 días, considerando que cada ciclo de división en *M. tuberculosis* requiere unas 24 h, provocando la necrosis del MA⁹. Entonces, los bacilos vuelven a convertirse en extracelulares y vuelven a ser fagocitados por el MA proveniente del espacio intersticial que sustituye al necrosado, y por los MA de los alvéolos vecinos, donde llegan a merced del constante drenaje generado por el movimiento de inspiración/espironación. El proceso se repite al menos una vez más, generándose hasta 1.000 bacilos, provocando la suficiente generación de quimiocinas por parte de los MA infectados como para generar una respuesta inflamatoria.

Con la inflamación se rompe el equilibrio, al generarse un exudado a nivel capilar que destruye la estanqueidad del alvéolo y permite la entrada de células polimorfonucleares (PMN) normalmente neutrófilos, y monocitos, en proporciones que dependerán del tipo de quimiocinas y citocinas secretadas por los MA. Al mismo tiempo, permite un lavado más enérgico de los alvéolos afectados, drenándose hacia los nódulos linfáticos a través de los capilares linfáticos aferentes. De esta manera es como *M. tuberculosis* infecta en primer lugar a los macrófagos de los nódulos, generando una linfadenitis, y a las células dendríticas (fig. 1).

El escenario ganglionar. La inducción de la respuesta inmune

Las células dendríticas procesan *M. tuberculosis* y presentan unos epítomos que mayoritariamente corresponden a los antígenos secretados más abundantes: el ESAT-6 y el complejo antigénico 85 (Ag85 A, B o C). Este último es responsable de la construcción de la pared celular, ya que permite el ensamblaje de 2 moléculas esenciales: el arabinogalactano micolato y el trehalosa dimicolato¹¹. La presentación antigénica estimulará esencialmente los linfocitos T CD4, cuyo subtipo dependerá del tipo de quimiocinas y citocinas que transporta el líquido linfático drenado, y que son esencialmente Th1, Th2, Th17 o Treg. También se pueden generar linfocitos T CD8, pero de manera minoritaria. Generalmente, el subtipo dominante es el Th1, responsable de generar interferón gamma que permite la activación de los macrófagos infectados.

Aunque todavía no se sabe con certeza qué parámetro inmunológico es el determinante para evaluar la respuesta protectora contra *M. tuberculosis*, lo que sí está claro es que es protectora y evita el desarrollo de la TBA en un 90% de los casos aproximadamente. Los estudios de Heimbeck en el Hospital Ullevål de Oslo durante los años 1924-1946 demostraron que las estudiantes de enfermería que al ingresar tenían un test de tuberculina positivo tenían una protección altísima contra la TBA en comparación con las que tenían un test negativo. Concretamente, en el primer grupo hubo 22 casos de 668 (3,3%) y en el segundo 97 de 284 (34,2%), o sea, una protección de más del 90%. En el caso de aquellas estudiantes que tenían un test de la tuberculina negativo y se vacunaban con bacilo de Calmette-Guérin, la incidencia fue de 35 casos en 501 (6,9%), es decir, que se protegían, pero menos que en el caso de la infección natural. La mortalidad también reflejaba esta tendencia, observándose 0/668, 10/284 y 3/501, respectivamente¹².

El periplo del bacilo hacia la diseminación extrapulmonar

Normalmente el periplo del bacilo finaliza en el ganglio, pero no necesariamente. Al generarse una linfadenitis, esta puede progresar y liberar bacilos hacia los capilares eferentes, los cuales llegan

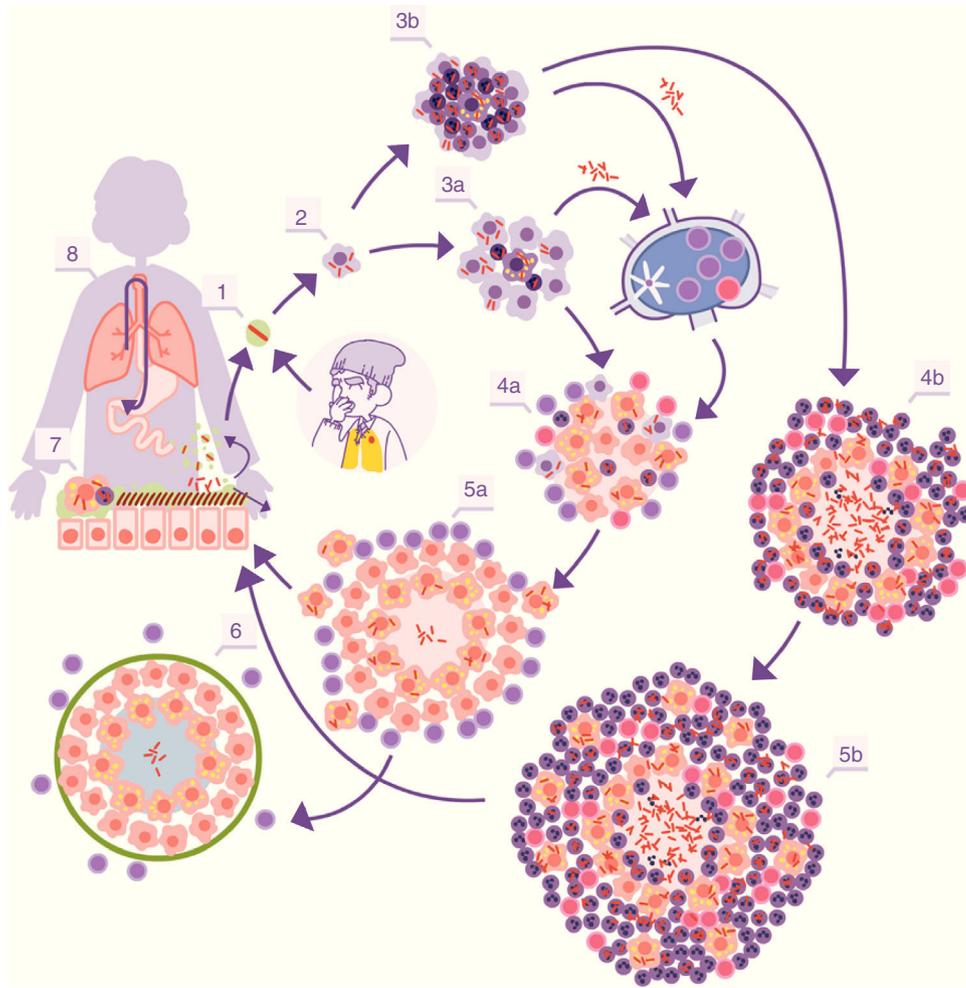


Figura 1. Ciclo infeccioso de *M. tuberculosis*. 1. Entrada de bacilos al alveolo pulmonar a través de una gota de aerosol. 2. Fagocitosis por parte de un macrófago alveolar (MA) y posterior multiplicación en su interior. 3. Destrucción del MA, diseminación local de *M. tuberculosis*, fagocitosis por parte de otros MA y generación de una respuesta inflamatoria local dominada por monocitos (3a) o PMN (3b), merced a la cual los bacilos pueden ser drenados hacia el ganglio linfático regional, donde proliferan linfocitos Th1 o Th17. 4. Los linfocitos son atraídos por la respuesta inflamatoria de las lesiones y activan a los MA infectados o atraen más PMN, dependiendo de que la respuesta inmune se decante por una respuesta de tipo Th1 (4a) o Th17 (4b), respectivamente. En el primer caso hay un control de la población bacilar y hay un drenaje de bacilos adormecidos a través de los macrófagos espumosos (5a), hasta que se controla mediante la encapsulación de la lesión (6). En el segundo, las lesiones van creciendo de tamaño gracias a la entrada de PMN y el crecimiento bacilar extracelular en las NET, generando nuevas lesiones periféricas. En este caso, la concentración bacilar es mucho más alta, y de aquí que el drenaje sea mucho más importante, ya sea a través del fluido alveolar o a nivel sistémico mediante la neovascularización del granuloma (5b). A nivel pulmonar los bacilos del fluido alveolar (7) tienden a ser drenados hacia el tracto gastrointestinal (8), aunque pueden formar parte de nuevos aerosoles, generando nuevas lesiones (1). Adaptada de Cardona¹⁰.

hasta la vena cava y pasan a la aurícula y el ventrículo derechos para ser trasladados de nuevo hacia el pulmón. De esta manera se pueden generar nuevos focos infecciosos, sobre todo si los bacilos son liberados masivamente, en forma de agregados o «clumps», que permitan obstaculizar un capilar, generar un estancamiento de la circulación, destruir la estanqueidad del espacio alveolar y entrar en el mismo. También pueden recolonizar las lesiones generadas previamente que, al estar en un proceso de inflamación, tienen una mayor vascularización y permeabilidad. Finalmente, estos bacilos pueden pasar simplemente a los capilares venosos, llegar a la aurícula y el ventrículo izquierdos y diseminarse sistémicamente. Potencialmente el bacilo puede colonizar cualquier órgano. Es un tema ligado a las características de la vascularización. De aquí que uno de los órganos en que las células endoteliales permiten una mayor permeabilidad, como el tejido óseo, especialmente en los niños, cuando está en fase de desarrollo, o el riñón, sean órganos diana habituales. En cambio, la afectación de las meninges es mucho menos habitual y requiere de una entrada masiva de bacilos en el torrente circulatorio, hecho que se asocia a las TBA diseminadas o

miliares, manifestándose en las primeras semanas posteriores a la infección¹³.

Un tema importante es que las lesiones generadas por *M. tuberculosis* desarrollan nuevos vasos que son más permeables y frágiles que los estructurales, permitiendo tanto el fenómeno de reinfección de la lesión como el de propagación del bacilo hacia los capilares venosos pulmonares¹⁴.

Otra vía de diseminación habitual es la generada por el mismo drenaje del bacilo a través del fluido alveolar, que permite que entre en la cavidad faríngea, pudiendo penetrar en la mucosa a través de pequeñas heridas, afectando a los ganglios cervicales; o provocando una TBA intestinal, en el caso de que la acidificación gástrica no sea suficiente como para destruir el bacilo. Por otra parte, la TBA pleural no deja de ser una variante de la TB pulmonar. Las células mesenquimales de la serosa pleural se encargan de vigilar cualquier mínima alteración del parénquima pulmonar más superficial y ante cualquier mínima lesión generan un masivo influjo de PMN y monocitos para aislarla y generar tejido fibroso a su alrededor¹⁵.

La TBA extrapulmonar representa aproximadamente un 30% de los casos de TBA y suele denotar un retraso en la respuesta inmune, afectando mayoritariamente a niños menores de 5 años o a personas que sufren una inmunodepresión, aunque hay mucha variabilidad geográfica, hecho que puede interpretarse como que puede haber algún factor genético que la favorece¹⁶.

El control de las lesiones mediante la respuesta inmune y las estructuras locales

La «hipótesis dinámica»: el proceso de reinfección endógena

En la mayoría de los casos, la proliferación de linfocitos de tipo Th1 específicos contra la infección tiene lugar a tiempo para evitar el desarrollo de la TBA. Los Th1 son drenados por los vasos eferentes, para incorporarse a la circulación pulmonar y dirigirse mayoritariamente hacia los focos infecciosos, dado que la inflamación permite una mayor probabilidad de atracción. Los Th1 entran en contacto con los macrófagos infectados, y mediante la síntesis de interferón gamma los activan, permitiendo la destrucción de la mayoría de los bacilos. No obstante, hay un pequeño porcentaje que consigue entrar en una fase de enlentecimiento metabólico o adormecimiento («dormancy») que le permite sobrevivir manteniendo una actividad metabólica mínima. Los macrófagos activados, aparte de mantener estos bacilos adormecidos en su interior, también fagocitan restos de los tejidos necrosados hasta un punto en que no pueden metabolizar la enorme carga de ácidos grasos (y sobre todo de colesterol) que supone, fabricando cuerpos lipídicos que van acumulando dentro del citoplasma, transformándose en macrófagos espumosos¹⁷. Estas células acaban siendo drenadas por el fluido alveolar, y es durante este proceso cuando pueden destruirse, liberando así bacilos que pueden formar parte de los aerosoles que se generan constantemente en los bronquiolos y volver a reinfectar el pulmón (fig. 1).

Este proceso fue el origen de la denominada «hipótesis dinámica», que entiende la infección tuberculosa latente (ITBL) como un proceso de reinfección endógena constante. Entre otras cosas, esta hipótesis permite explicar por qué funciona la quimioprofilaxis con isoniacida, teniendo en cuenta que no tiene actividad contra los bacilos adormecidos. El concepto es que los niveles constantes de isoniacida durante 6-9 meses permiten el drenaje de los bacilos adormecidos hacia el tracto gastrointestinal, evitando el riesgo de reinfección. El periodo tan prolongado se explica porque sería el tiempo medio para poder drenar todas las lesiones antes de que se fibrosen y calcifiquen, destruyendo los bacilos de su interior al generar un estrés multifactorial a su alrededor¹⁸.

Importancia de los septos interlobulares en la encapsulación de las lesiones

Hay otro mecanismo de control local que permite controlar la lesión: se trata de los septos interlobulares. Estas estructuras dividen el parénquima pulmonar en porciones de aproximadamente 1 cm³ y sirven para transmitir la fuerza mecánica generada por el diafragma¹⁹. De esta manera se puede insuflar el pulmón, permitiendo su expansión y evitando que la delicada estructura de los alvéolos sea tensionada excesivamente por el desplazamiento que requiere el movimiento respiratorio. Esta estructura es mantenida por fibroblastos que tienen una especial capacidad para captar variaciones mecánicas a su alrededor, como las generadas con la conformación de una lesión, incluso si es tan pequeña como la que ocasiona la infección inicial por *M. tuberculosis* (de unos 0,5 mm)²⁰. Así pues, los fibroblastos empiezan a tejer una cápsula alrededor de la lesión que acaba aislándola en aproximadamente unos 10 días.

Es interesante reseñar que la infección por *M. tuberculosis* genera una respuesta inmune protectora²¹, que no hay fenómenos de mutación ni existen grandes variaciones entre los diferentes linajes que han sufrido contextos evolutivos diferentes²². La respuesta inmune se genera inicialmente contra varios antígenos, pero progresivamente se va focalizando contra antígenos secretados vitales para *M. tuberculosis*. Esta especialización tiene una lógica. Por un lado, el bacilo en su forma activa es el que es capaz de generar daño al hospedador, gracias a su capacidad para destruir macrófagos. Por otra parte, ya hemos reseñado la capacidad de escape y de reinfección del bacilo incluso después de haberse generado la respuesta inmune, por lo que la focalización contra los bacilos en multiplicación supone una estrategia exitosa, más aún teniendo en cuenta que los bacilos adormecidos acaban siendo drenados hacia el tracto gastrointestinal, para ser finalmente expulsados (fig. 1).

La inmunidad basada en linfocitos explica la naturaleza reactiva de la respuesta inmune

La otra lección que aprendemos es que, debido a la naturaleza celular de la respuesta inmune, esta siempre va constantemente «después» de la infección. Todo lo contrario a lo que supone una respuesta inmune humoral, que en este caso no es eficaz debido a la falta de entrada de anticuerpos al espacio alveolar. Por tanto, el hospedador que ya ha generado una respuesta inmune específica previa tiene una ganancia de unos pocos días, al tener disposición de células de memoria, que permite reducir la población bacilar, hecho que sería clave para evitar una excesiva diseminación extrapulmonar y/o concentración local bacilar, necesarias para la generación de la TBA²³. Aun así, debido a que inicialmente la multiplicación del bacilo es silente y no genera respuesta inflamatoria alguna, estos linfocitos no pueden ser atraídos de ninguna manera al foco infeccioso. La traducción de esta información es que, en realidad, la infección y la reinfección por *M. tuberculosis* no pueden evitarse²⁴. De aquí la enorme desesperación en el campo de la vacunología. En realidad, es imposible conseguir una vacuna profiláctica, tal como hemos venido constatando hasta la fecha¹⁰. Ninguna vacuna es capaz de evitar la infección: el objetivo es evitar la TBA.

El origen de la tuberculosis pulmonar. El tamaño importa

La praxis clínica en el diagnóstico

Teniendo en cuenta la reacción del huésped, se hace difícil explicar el desarrollo de la TBPA. Si bien la infección parece inevitable, las consecuencias para el huésped son prácticamente nulas. Se generan lesiones extraordinariamente pequeñas, que no ocasionan ningún tipo de disfunción significativa. De hecho, se hace difícil explicar por qué una lesión de 1 mm de diámetro puede convertirse en una lesión de 10 mm. ¿Por qué 10 mm? Porque es el tamaño de lesión que se requiere para poder ser detectada a través de una exploración radiográfica de tórax²⁵.

Años de lucha contra la tuberculosis han permitido estandarizar una praxis clínica eficaz. Ante una sospecha de TBA, lo que debe hacerse es un test de tuberculina o de *interferon-gamma release assay* para valorar si ha habido infección y se ha generado una respuesta inmune. En caso de ser positivo, se procede a realizar una radiografía de tórax. Si se detecta una lesión se considera que se sufre una TBPA y para poder ser detectada esta lesión debe tener un tamaño mínimo de 10 mm. En caso contrario, se considera que la persona sufre una ITBL y en caso de infección reciente se ha demostrado que el riesgo más importante de desarrollar una TBPA es durante los 2 primeros años, decreciendo exponencialmente hasta ser nulo a los 8 años⁵.

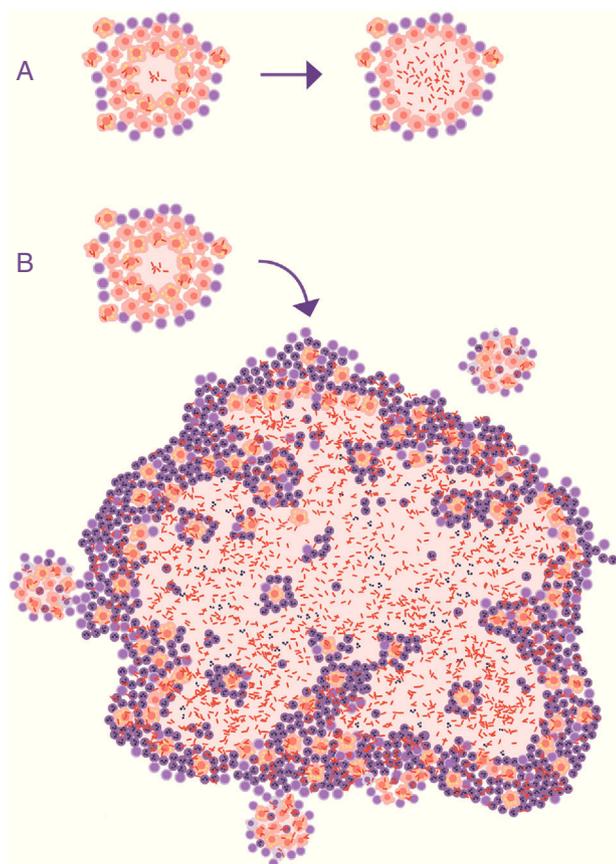


Figura 2. Evolución de infección tuberculosa latente (ITBL) a tuberculosis activa (TBA). A. Representación habitual, la diferencia está en la actividad del bacilo, obviando el hecho de que la característica principal que clínicamente distingue la ITBL de la TBA es el tamaño de las lesiones (B). Extraída de Cardona¹⁰.

Importancia del tamaño de la lesión

La pregunta es: ¿cómo puede desarrollarse una lesión de 10 mm a partir de una lesión de 1 mm teniendo en cuenta que los mecanismos de control local funcionan tan bien?

En este punto es importante tener en cuenta la misma formulación de la pregunta. En la totalidad de las publicaciones que estudian el fenómeno de la evolución de la infección tuberculosa a TBA, esta cuestión ni se plantea. Las preguntas se focalizan en la capacidad de reactivación de los bacilos durmientes o en el desarrollo de algún tipo de inmunodepresión local. Nadie plantea lo que realmente se ve en la clínica: la TBPA se caracteriza por la presencia de una lesión visible en la radiografía de tórax (fig. 2).

El tropismo por los lóbulos pulmonares superiores en el desarrollo de la tuberculosis

Fisiología de los lóbulos pulmonares superiores

Un aspecto característico del desarrollo de la TBPA en adultos es la afectación de los lóbulos pulmonares superiores. La teoría que actualmente tiene más éxito para explicar este fenómeno es que en esta localización la presión de oxígeno es más elevada y permite un mejor crecimiento de *M. tuberculosis*. Esta teoría, la «teoría unitaria», es atractiva debido a su fácil enunciación, pero realmente no resiste un análisis sistemático⁵. El origen de la acumulación de oxígeno en esta localización se debe a que el desplazamiento del parénquima pulmonar con el movimiento respiratorio es mucho menor que en la base. Ello es debido a la estructura del pulmón,

que se sujeta en el vértice para que el movimiento de expansión del diafragma pueda efectivamente generar la expansión del parénquima. Por otra parte, la fuerza de la gravedad condiciona el hecho de que los septos interlobulares del pulmón superior estén constantemente tensados y tengan una menor reactividad que los situados en la base. La falta de movimiento también provoca un déficit en el drenaje vascular, por lo que hay un menor intercambio de gases que se traduce en la hiperoxigenación. Sin embargo, aunque este incremento favoreciese una aceleración de la capacidad de multiplicación del bacilo, hecho dudoso desde el punto de vista microbiológico, no explicaría el crecimiento desmesurado de las lesiones²⁶.

La respuesta está en el drenaje alveolar

Lo que es relevante en realidad es la disminución del drenaje del interior del propio alvéolo, puesto que se traduce en una acumulación de bacilos extracelulares localmente. Ello provoca que el MA que debe fagocitarlos se enfrente a una gran concentración bacilar, provocando una mayor destrucción celular y la generación de una respuesta quimioquina y citocínica que favorece la acumulación intensiva de PMN⁶ (fig. 3).

El papel de los neutrófilos en el desarrollo de la tuberculosis pulmonar activa. El retorno de un actor olvidado

La experiencia de los patólogos en la era preantibiótica

Durante la fase moderna del estudio de la TB, la que empieza con la declaración de la Emergencia Mundial en 1993, los PMN eran considerados unos actores secundarios en la patogenia, cuando no eran simplemente ignorados. Sin embargo, al revisar las experiencias de los patólogos que estudiaron la TBPA en la era preantibiótica, se observa que describían 2 tipos de lesiones: la proliferativa (o «tubérculo»), que contiene una población bacilar pequeña compuesta por células epitelioides y fibroblastos que progresa hacia la fibrosis y la calcificación, y la exudativa, o condensación neutrofílica local, que contiene una elevada población bacilar y se relaciona con el desarrollo de TBPA²⁷.

Lecciones aprendidas del modelo de tuberculosis activa en ratón. El modelo de pompas de jabón

El desarrollo del modelo experimental utilizando ratones de la cepa C3HeB/FeJ ha permitido un impulso muy importante en la comprensión de la evolución entre la ITBL y la TBPA. En este modelo se ha podido demostrar que *M. tuberculosis* potencia la formación de trampas extracelulares de neutrófilos, un mecanismo desarrollado por los PMN para hacer frente a infecciones ocasionadas por patógenos extracelulares. Consiste en la lisis de la célula para liberar las enzimas contenidas en los lisosomas, atrapando a la vez a los patógenos a través de la formación de un tejido mediante el ADN nuclear. Pero en el caso de *M. tuberculosis* no consiguen destruirlo; al contrario, las trampas extracelulares de neutrófilos constituyen una plataforma para el crecimiento extracelular del bacilo²⁸. De esta manera se produce un crecimiento exponencial del tamaño de la lesión, que implica la generación de lesiones satélite (o «hijas») alrededor y un proceso de fusión final entre todas ellas, en un periodo temporal de entre 10 y 15 días. Esto permite evitar el mecanismo protector de la encapsulación y es capaz de generar una TBPA en forma de infiltración alveolar por PMN que finalmente licuefacta y cavita. La reinfección constante que sufren los contactos de los casos de TBPA citada anteriormente ayuda claramente a este fenómeno, en el caso de que la reinfección se localice

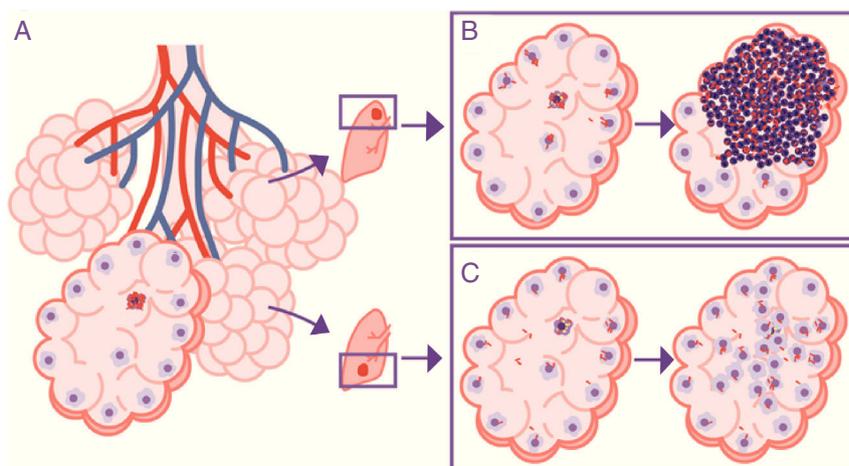


Figura 3. Importancia de la localización de la infección en los lóbulos superiores. La infección tiene lugar en un alveolo pulmonar (A), pero la evolución es diferente en el lóbulo superior, donde la acumulación de bacilos hace que los macrófagos alveolares (MA) deban hacer frente a una cantidad más elevada de bacilos, generando una respuesta basada preferentemente en la acumulación de PMN (B). Contrariamente, en el lóbulo inferior el drenaje más importante permite una mejor distribución de los bacilos y una respuesta inflamatoria basada en la acumulación de MA y monocitos (C). Adaptada de Cardona¹⁰.

de manera adyacente, al igual que la reinfección endógena constante como consecuencia del drenaje de los bacilos adormecidos a partir de lesiones previas (fig. 1) y las que provienen de la diseminación hematológica que consigue burlar el filtro de los ganglios linfáticos.

La evolución de este proceso se asemeja mucho a la dinámica de formación de pompas de jabón. De ahí que se hiciera un paralelismo y se consiguiera demostrar que la inducción de este tipo de lesiones depende necesariamente de los 3 factores: un crecimiento rápido de la lesión inicial (como el experimentado con la infiltración de PMN), la formación de «lesiones hijas» alrededor y la fusión de todas ellas²⁹ (fig. 4).

¿Absceso o caseum?

¿Cuál sería la diferencia entre un absceso pulmonar y una TBPA? La respuesta es el tiempo. Los abscesos pulmonares tienen una progresión muy rápida, generados por patógenos con una capacidad de multiplicación mucho más rápida (una división cada 20 min) que la que tiene *M. tuberculosis* (una división cada 24h). Ello se traduce en que la destrucción de las paredes alveolares tiene lugar rápidamente en el caso del absceso, mientras que en el caso de la TBPA no, de manera que los detritos de los PMN quedan circunscritos en cada alveolo. Cuando el patólogo secciona la lesión, la zona necrótica tiene una textura caseosa y, por ello, la denomina «caseum»³⁰. Sin

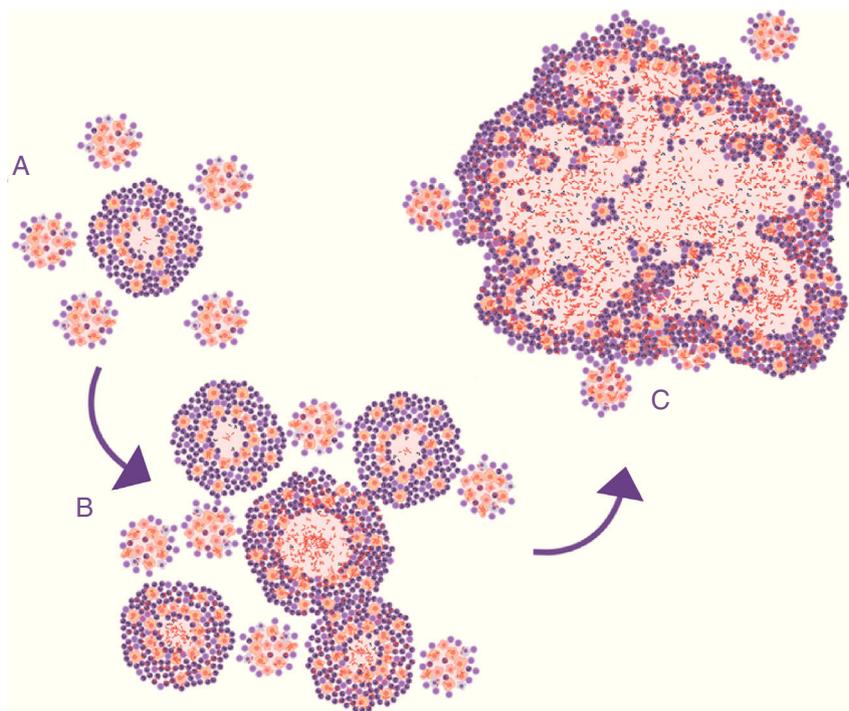


Figura 4. Evolución de las lesiones de infección tuberculosa latente a tuberculosis pulmonar. El modelo de las pompas de jabón. En la infección inicial (A) se generan unas lesiones mínimas que crecen rápidamente gracias a la acumulación de los PMN y al crecimiento extracelular de los bacilos. Posteriormente, se generan lesiones «hijas», que sufren el mismo proceso (B), y finalmente todas ellas se fusionan en una gran lesión, burlando el proceso de encapsulación (C). Adaptada de Cardona¹⁰.

embargo, con el paso de los días, las paredes alveolares finalmente degeneran y permiten confluir el contenido de todos los alvéolos afectados, generándose la denominada licuefacción.

Es interesante tener en cuenta este cambio de paradigma. *M. tuberculosis* se convierte en un patógeno extracelular antes de lo pensado. Tradicionalmente se pensaba que la fase extracelular se iniciaba con la licuefacción, y se potenciaba con el aire entrante en el caso de causar una erosión del bronquio y proceder al drenaje³⁰. Hoy podemos sostener que no es así, y que el crecimiento extracelular constituye el mecanismo por el cual hay una evolución entre ITBL y TBPA.

¿Tuberculosis primaria o posprimaria?

En general, la TBA primaria se considera aquella que afecta a los lóbulos basales y hay una implicación visible de los ganglios hiliares, mientras que la TBA postprimaria o del adulto es aquella que afecta a los lóbulos superiores. Este concepto surge de las campañas de detección de la TBA mediante radioscopia de tórax que se realizaron posteriormente a la Segunda Guerra Mundial. En aquel momento, cuando la incidencia de la TBA y la ITBL era tan importante, se empezaron a observar en los adultos lesiones calcificadas en el lóbulo inferior y en los ganglios, mientras que la TBA se manifestaba en los lóbulos superiores. En 1967 se enunció la «unitary theory», que daba sentido global a aquellas observaciones, teniendo en cuenta que se creía que una vez infectada una persona, no podía volver a infectarse³¹. La interpretación era que de aquellas lesiones antiguas habían surgido en la fase preinmune unas lesiones en los pulmones superiores que habían quedado dormidas y que posteriormente se habían reactivado. Actualmente se ha demostrado que esto no es cierto. En primer lugar, si bien la infección de una buena protección contra la TBA, no evita la reinfección. En segundo lugar, los estudios epidemiológicos moleculares han demostrado que la localización de la TBA depende de la respuesta inmune del hospedador³². En el caso de los niños menores de 5 años o en adultos inmunodeprimidos, la proliferación del bacilo no necesita la ventaja que le da la localización en el pulmón superior, por tanto, se puede desarrollar en ambas zonas. En el caso de los adultos inmunocompetentes, se desarrolla generalmente en el pulmón superior debido a la ventaja que le proporciona la falta de drenaje y la inducción de una respuesta inflamatoria dominada por PMN.

Uno de los puntos que habitualmente no se tienen en cuenta en las TBA desarrolladas en pacientes que contrajeron una TBA en la era preantibiótica, es decir, antes de los años 50, es que a menudo lesiones muy importantes se solucionaron mediante métodos clásicos, ya sea con «curas de reposo», neumotórax o toracoplastias, que buscaban el control de las lesiones mediante su fibrosis. En todos estos casos, la erradicación de la población bacilar fue muy diverso, pero en general inefectivo. De aquí que en este caso la posibilidad de generar una TBA, especialmente al llegar a la vejez, fuera mucho más elevada que en el caso de detectarse una ITBL y, por tanto, de no observarse ninguna lesión con la radiografía de tórax.

Conclusión: ¿por qué un 10% de los infectados desarrollan tuberculosis activa?

¡Esta es la gran pregunta! Por un lado, se han identificado los antígenos más importantes, cuya expresión es muy estable; por otro lado, la naturaleza de la respuesta inmune de tipo celular no evita la infección, pero sí que tiene una gran eficacia para evitar la TBA. En este sentido, la aparición del sida ha ayudado a entender la importancia de los linfocitos CD4. Sin embargo, solo explica un 10% de los casos de TBA³³. La gran complejidad en las circulaciones del bacilo a través del drenaje pulmonar o el torrente sanguíneo, los movimientos respiratorios, la capacidad de encapsulación por parte de los septos interlobulares, conjuntamente con la capacidad

que tienen los aerosoles externos para generar infecciones efectivamente, generan una gran complejidad que impide encontrar marcadores con un valor predictivo suficiente. Lo que está claro es que hay factores de comorbilidad que favorecen el desarrollo de la TBA. El consumo de tabaco³⁴ o la polución doméstica por el uso de combustibles sólidos³⁵ se pueden relacionar claramente con una capacidad deficiente en el drenaje pulmonar. Sin embargo, hay un factor que parece tener un gran valor, como es el de aquellas personas que tienen un ambiente proinflamatorio y que, por tanto, favorece la atracción de PMN a las lesiones. Este aspecto puede explicar por qué la TBA afecta más al género masculino³⁶ y a los pacientes con diabetes mellitus tipo 2³⁷. De hecho, en la mayoría de los casos, la inducción de TBA se incluiría dentro del marco conceptual de la «teoría del daño»³⁸, por la cual la inducción de TBA puede ser debida a una inmunodepresión, pero mayoritariamente es debida a una excesiva respuesta por parte del hospedador, en este caso en forma de infiltrados de PMN.

Históricamente hay una gran evidencia de la susceptibilidad familiar a sufrir TBA, sin embargo, hasta la fecha no se ha reconocido todavía una asociación concreta replicable³⁹. Finalmente, siempre se tiene que tener en cuenta que los pacientes que han sufrido una TBPA y se han curado con el tratamiento estándar, y no han sufrido una recaída, tienen una mayor probabilidad de sufrir otro episodio de TBPA ante una nueva reinfección exógena. Ello puede ser debido a 2 factores: a una susceptibilidad debido al mismo factor o factores de tipo genético que ya favorecieron la inducción de la primera TBPA y/o a las secuelas locales generadas por el primer episodio⁴⁰.

Micobacteriosis ambientales

Las micobacterias ambientales tienen mucho interés para poder contrastar la patogenia de la TB. Se trata de unos microorganismos que viven en el medio natural y que comparten muchos aspectos con *M. tuberculosis*, no tan solo en cuanto a las características de la pared celular, rica en ácidos micólicos, sino compartiendo diversos antígenos capaces de generar respuestas protectoras⁴¹. Sin embargo, a nivel patogénico han sido poco estudiadas y es difícil extraer conclusiones. Su interés clínico surge, en primer lugar, con la enfermedad pulmonar generada en poblaciones envejecidas⁴², produciendo en pacientes negativos para el VIH una dolencia muy similar a la TBPA; en segundo lugar, en pacientes positivos para el VIH, demostrando el valor de la respuesta inmune de tipo Th1 para evitar infecciones diseminadas⁴³. Igualmente, estas micobacterias son capaces de generar linfadenopatías, infecciones cutáneas, óseas o de articulaciones⁴². Cabe reseñar que una de sus particularidades es que, en general, su temperatura óptima de crecimiento se sitúa alrededor de los 30 °C. Esta desventaja competitiva limita su actividad patogénica a epitelios superficiales donde la temperatura puede acercarse a este valor.

Puesto que la secreción de ESAT-6 parece ser uno de los factores clave en la patogenia de *M. tuberculosis*, podemos clasificar las micobacterias ambientales en relación con este aspecto.

Especies secretoras de ESAT-6 o ESAT-6-like

M. kansasii es capaz de generar lesiones similares a la TBPA en individuos expuestos a aerosoles de aguas con una gran concentración de este bacilo. La incidencia de la enfermedad pulmonar por *M. kansasii* es muy baja y probablemente la explicación se encuentra en que en realidad se necesita una dosis infectiva muy elevada. Este hecho significa que en realidad *M. tuberculosis* tiene otros mecanismos patogénicos que no hemos sabido valorar, seguramente relacionados con la capacidad de generar una respuesta necrótica. Recientemente se ha podido demostrar que las micobacterias ambientales inducen una producción rápida de apoptosis,

hecho vinculado con diferencias moleculares en uno de los principales componentes de la pared celular: el lipoarabinomano, distinto del de *M. tuberculosis*, que sí es capaz de provocar necrosis celular⁴⁴.

Mycobacterium marinum también genera lesiones muy similares a las inducidas por *M. tuberculosis*, tal como reflejan los extensos estudios realizados en el modelo de zebrafish⁴⁵. Sin embargo, debido a que su temperatura de crecimiento óptimo está alrededor de los 30 °C, la capacidad de generar patogénesis humana es limitada, centrándose en localizaciones con una temperatura similar, como la superficie cutánea, y siempre ligado a la disrupción del epitelio por causas físicas, que permite al bacilo la introducción en la dermis.

No secretoras de ESAT-6

En este caso debemos citar el grupo extensísimo de *M. avium-intracellulare*, que surgió como un problema médico importante al ocasionar infecciones diseminadas en pacientes con sida⁴². Este grupo ya se conocía por su capacidad de generar linfadenopatías en niños de países nórdicos, como en el caso de *M. malmoense*⁴⁶, o infecciones respiratorias en pacientes con bronquiectasias⁴⁷, aspecto ligado seguramente a su capacidad para generar biofilms⁴⁸. Este aspecto ha sido también especialmente importante tanto en micobacterias de rápido crecimiento como de lento para poder mantenerse en las conducciones de agua potable, cañerías, duchas, etc.⁴⁹, y poder genera dosis infectivas suficientemente importantes como para poder contactar con diferentes epitelios humanos, sea cutáneo o respiratorio, y poder generar procesos infecciosos en personas con alguna deficiencia en la inmunidad innata o adquirida. O colonizar prótesis o dispositivos médicos.

Mención aparte merece *M. ulcerans*, un microorganismo cuyo hábitat natural son los ríos o los lagos, y que requiere una incubación a una temperatura menor de 32 °C⁴². Pues bien, este bacilo es capaz de sintetizar una exotoxina, la micolactona, con efectos devastadores en el epitelio cutáneo. Esta toxina es capaz de inducir un efecto citotóxico en todas las estirpes celulares de la piel y suprimir la producción de citocinas, evitando entre otras la capacidad microbicida inducida por el interferón gamma en los macrófagos; la capacidad de maduración y de migración de las células dendríticas, así como su capacidad para estimular inmunidad celular. En los linfocitos inhibe la capacidad de generar IL-2, y la capacidad dependiente de antígeno de producir citocinas en linfocitos Th1, Th2 y Th17. De hecho, la micolactona también afecta en el proceso de atracción de los linfocitos, causando depleción de linfocitos T a nivel de los nódulos linfáticos periféricos⁵⁰. Se trata pues del factor patogénico más importante detectado en una micobacteria ambiental.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A Júlia Gallardo Andrés, por las magníficas ilustraciones. A Paula Cardona, por repasar el manuscrito.

Bibliografía

- Escombe AR, Oeser C, Gilman RH, Navincopa M, Ticona E, Martínez C, et al. The detection of airborne transmission of tuberculosis from HIV-infected patients, using an in vivo air sampling model. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1349–57. <http://dx.doi.org/10.1086/515397>.
- Arcos J, Sasindran SJ, Fujiwara N, Turner J, Schlesinger LS, Torrelles JB. Human lung hydrolases delineate *Mycobacterium tuberculosis*-macrophage interactions and the capacity to control infection. *J Immunol*. 2011;187:372–81. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1100823>.
- Ma N, Zalwango S, Malone LL, Nseroko M, Wampande EM, Thiel BA, et al. Clinical and epidemiological characteristics of individuals resistant to *M. tuberculosis* infection in a longitudinal TB household contact study in Kampala, Uganda. *BMC Infect Dis*. 2014;14:352. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-352>.
- Storla DG, Yimer S, Bjune GA. A systematic review of delay in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *BMC Public Health*. 2008;8:15. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-8-15>.
- Cardona PJ. Reactivation or reinfection in adult tuberculosis: Is that the question? *Int J Mycobacteriol*. 2016;5:400–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.09.017>.
- Cardona PJ. The progress of therapeutic vaccination with regard to tuberculosis. *Front Microbiol*. 2016;7:1536. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01536>.
- Mitchell G, Chen C, Portnoy DA. Strategies used by bacteria to grow in macrophages. *Microbiol Spectr*. 2016;4. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.MCHD-0012-2015>.
- Lee J, Remold HG, Jeong MH, Kornfeld H. Macrophage apoptosis in response to high intracellular burden of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by a novel caspase-independent pathway. *J Immunol*. 2006;176:4267–74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16547264>.
- Behar SM, Divangahi M, Remold HG. Evasion of innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*: Is death an exit strategy? *Nat Rev Microbiol*. 2010;8:668–74. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2387>.
- Cardona PJ. What we have learned and what we have missed in tuberculosis pathophysiology for a new vaccine design: Searching for the “Pink Swan”. *Front Immunol*. 2017;8:556. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.00556>.
- Kremer L, Maughan WN, Wilson RA, Dover LG, Besra GS. The *M. tuberculosis* antigen 85 complex and mycolyltransferase activity. *Lett Appl Microbiol*. 2002;34:233–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11940150>.
- Heimbeck J. BCG vaccination of nurses. *Tubercle*. 1948;29:84–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18909014>.
- Wallgren A. The time-table of tuberculosis. *Tubercle*. 1948;29:245–51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18101320>.
- Osherov N, Ben-Ami R. Modulation of host angiogenesis as a microbial survival strategy and therapeutic target. *PLoS Pathog*. 2016;12:e1005479. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005479>.
- Mutsaers SE, Prele CM, Brody AR, Idell S. Pathogenesis of pleural fibrosis. *Respirology*. 2004;9:428–40. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1843.2004.00633.x>.
- Kulchavenya E. Extrapulmonary tuberculosis: Are statistical reports accurate? *Ther Adv Infect Dis*. 2014;2:61–70. <http://dx.doi.org/10.1177/2049936114528173>.
- Cáceres N, Tapia G, Ojanguren I, Altare F, Gil O, Pinto S, et al. Evolution of foamy macrophages in the pulmonary granulomas of experimental tuberculosis models. *Tuberculosis*. 2009;89:175–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2008.11.001>.
- Cardona PJ. A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection. *Infection*. 2009;37:80–6. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-008-8087-y>.
- Webb WR. Thin-section CT of the secondary pulmonary lobule: Anatomy and the image—The 2004 Fleischner lecture. *Radiology*. 2006;239:322–38. <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2392041968>.
- Gil O, Díaz I, Vilaplana C, Tapia G, Díaz J, Fort M, et al. Granuloma encapsulation is a key factor for containing tuberculosis infection in minipigs. *PLoS One*. 2010;5:e10030. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0010030>.
- Mollenkopf HJ, Kursar M, Kaufmann SHE. Immune response to postprimary tuberculosis in mice: *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guérin induce equal protection. *J Infect Dis*. 2004;190:588–97. <http://dx.doi.org/10.1086/422394>.
- Coscolla M, Copin R, Sutherland J, Gehre F, de Jong B, Owolabi O, et al. *M. tuberculosis* T cell epitope analysis reveals paucity of antigenic variation and identifies rare variable TB antigens. *Cell Host Microbe*. 2015;18:538–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2015.10.008>.
- Jung YJ, Ryan L, LaCourse R, North RJ. Properties and protective value of the secondary versus primary T helper type 1 response to airborne *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J Exp Med*. 2005;201:1915–24. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20050265>.
- Kaufmann SH, Evans TG, Hanekom WA. Tuberculosis vaccines: Time for a global strategy. *Sci Transl Med*. 2015;7:276fs8. <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa4730>.
- Andreu J, Cáceres J, Pallisa E, Martínez-Rodríguez M. Radiological manifestations of pulmonary tuberculosis. *Eur J Radiol*. 2004;51:139–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejrad.2004.03.009>.
- Bru A, Cardona PJ, Bru A, Cardona PJ. Mathematical modeling of tuberculosis bacillary counts and cellular populations in the organs of infected mice. *PLoS One*. 2010;5:e12985. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0012985>.
- Cardona PJ. The key role of exudative lesions and their encapsulation: Lessons learned from the pathology of human pulmonary tuberculosis. *Front Microbiol*. 2015;6:612. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00612>.
- Marzo E, Vilaplana C, Tapia G, Díaz J, García V, Cardona PJ. Damaging role of neutrophilic infiltration in a mouse model of progressive tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2014;94:55–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2013.09.004>.

29. Prats C, Vilaplana C, Valls J, Marzo E, Cardona PJ, López D. Local inflammation, dissemination and coalescence of lesions are key for the progression toward active tuberculosis: The bubble model. *Front Microbiol.* 2016;7:33, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00033>.
30. Grosset J. *Mycobacterium tuberculosis* in the extracellular compartment: An underestimated adversary. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:833–6. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=149338&tool=pmcentrez&rendertype=Abstract>.
31. Stead WW. Pathogenesis of a first episode of chronic pulmonary tuberculosis in man: Recrudescence of residuals of the primary infection or exogenous reinfection? *Am Rev Respir Dis.* 1967;95:729–45, <http://dx.doi.org/10.1164/arrd.1967.95.5.729>.
32. Geng E, Kreiswirth B, Burzynski J, Schluger NW. Clinical and radiographic correlates of primary and reactivation tuberculosis: A molecular epidemiology study. *JAMA.* 2005;293:2740–5, <http://dx.doi.org/10.1001/jama.293.22.2740>.
33. World Health Organization Global tuberculosis report 2016. WHO; 2017.
34. Schneider NK, Novotny TE. Addressing smoking cessation in tuberculosis control. *Bull World Health Organ.* 2007;85:820–1, <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.07.043794>.
35. Jubulis J, Kinikar A, Ithape M, Khandave M, Dixit S, Hotalkar S, et al. Modifiable risk factors associated with tuberculosis disease in children in Pune, India. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014;18:198–204, <http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.13.0314>.
36. Neyrolles O, Quintana-Murci L. Sexual inequality in tuberculosis. *PLoS Med.* 2009;6:e1000199, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000199>.
37. Hodgson K, Morris J, Bridson T, Govan B, Rush C, Ketheesan N. Immunological mechanisms contributing to the double burden of diabetes and intracellular bacterial infections. *Immunology.* 2015;144:171–85, <http://dx.doi.org/10.1111/imm.12394>.
38. Casadevall A, Pirofski L. The damage-response framework of microbial pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2003;1:17–24, <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro732>.
39. Naranbhai V. The role of host genetics (and genomics) in tuberculosis. *Microbiol Spectr.* 2016;4, <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.TBTB2-0011-2016>.
40. Verver S, Warren RM, Beyers N, Richardson M, van der Spuy GD, Borgdorff MW, et al. Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:1430–5, <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200409-12000C>.
41. Poyntz HC, Stylianou E, Griffiths KL, Marsay L, Checkley AM, McShane H. Non-tuberculous mycobacteria have diverse effects on BCG efficacy against *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb).* 2014;94:226–37, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2013.12.006>.
42. Tortoli E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15:906–10, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03014.x>.
43. Halstrom S, Price P, Thomson R. Review: Environmental mycobacteria as a cause of human infection. *Int J Mycobacteriol.* 2015;4:81–91, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmyco.2015.03.002>.
44. Bohsali A, Abdalla H, Velmurugan K, Briken V. The non-pathogenic mycobacteria *M. smegmatis* and *M. fortuitum* induce rapid host cell apoptosis via a caspase-3 and TNF dependent pathway. *BMC Microbiol.* 2010;10:237, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-10-237>.
45. Meijer AH. Protection and pathology in TB: Learning from the zebrafish model. *Semin Immunopathol.* 2016;38:261–73, <http://dx.doi.org/10.1007/s00281-015-0522-4>.
46. Henriques B, Hoffner SE, Petrini B, Juhlin I, Wahlen P, Kallenius G. Infection with *Mycobacterium malmoense* in Sweden: Report of 221 cases. *Clin Infect Dis.* 1994;18:596–600, <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/18.4.596>.
47. Wickremasinghe M, Ozerovitch LJ, Davies G, Wodehouse T, Chadwick MV, Abdallah S, et al. Non-tuberculous mycobacteria in patients with bronchiectasis. *Thorax.* 2005;60:1045–51, <http://dx.doi.org/10.1136/thx.2005.046631>.
48. Johansen TB, Agdestein A, Olsen I, Nilsen SF, Holstad G, Dønne B. Biofilm formation by *Mycobacterium avium* isolates originating from humans, swine and birds. *BMC Microbiol.* 2009;9:159, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-9-159>.
49. Williams MM, Yakrus MA, Arduino MJ, Cooksey RC, Crane CB, Banerjee SN, et al. Structural analysis of biofilm formation by rapidly and slowly growing nontuberculous mycobacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75:2091–8, <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00166-09>.
50. Sarfo FS, Phillips R, Wansbrough-Jones M, Simmonds RE. Recent advances: Role of mycolactone in the pathogenesis and monitoring of *Mycobacterium ulcerans* infection/Buruli ulcer disease. *Cell Microbiol.* 2016;18:17–29, <http://dx.doi.org/10.1111/cmi.12547>.