



# TUBERCULOSIS

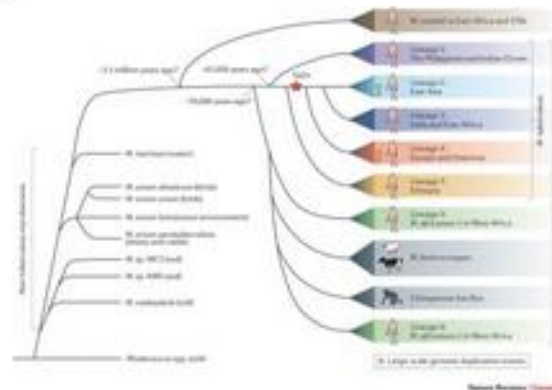
**Ramón A. Juste**



La tuberculosis es una enfermedad muy antigua (17.000 en bisontes)  
En humanos pruebas de lesiones tuberculosas en restos hace 9000 años  
La propuesta más reciente, basada en estudios de genética molecular, es que la separación de *M. tuberculosis* y *M. bovis* se produjo hace unos 68.000 años a partir de un ancestro común de tipo humano.

La evolución hacia el sedentarismo y la ganadería seguramente contribuyó a una transmisión o co-evolución en animales y humanos

Primeras descripciones en bovinos a principios del siglo XIX en Francia



- **Muy conocida:** *'La reina de las enfermedades'* y *'La enfermedad de los reyes'*. Peste blanca
- **Distintos nombres:** Tisis, consunción, enfermedad de Pott's y escrófula
- **Muchas víctimas** famosas incluyendo escritores y poetas (romanticismo), artistas, líderes religiosos, políticos, científicos,...

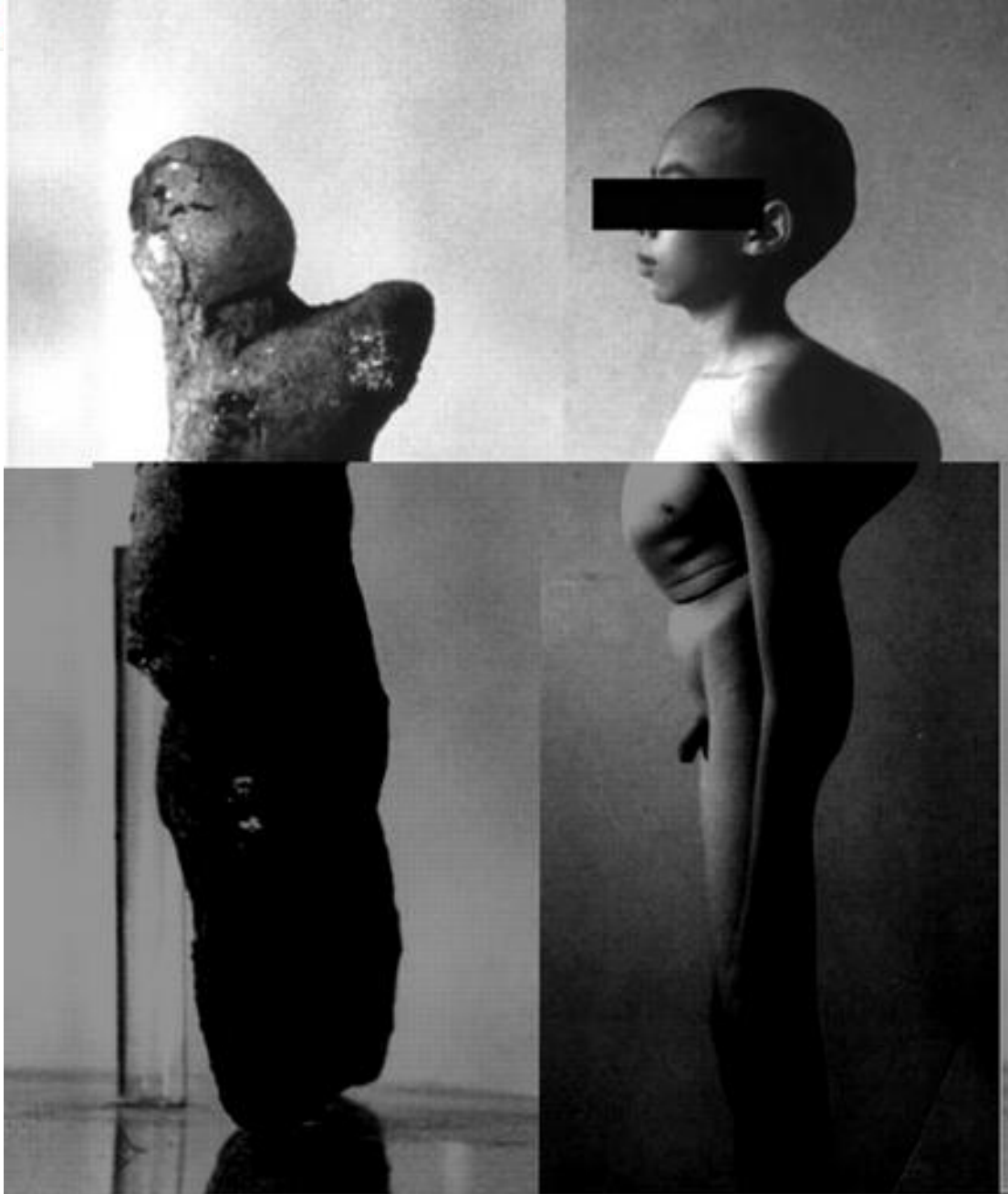


Figure 1

*Left*, Mayan terra-cotta figurine from the postclassical period (900–1521 C.E.) discovered inside the Temple of the Seven Dolls at the Dzibilchaltun archeological site in Yucatan, Mexico (photograph provided by and published with the permission of D. Trejo, Museo del Pueblo Maya de Dzibilchaltun, Instituto Nacional de Antropología e Historia). *Right*, Gibbous deformity of a child with advanced Pott disease attended by one of the authors (P.A.M.) in the late 1960s, shown for comparison.

# SANCTUAIRE NOTRE-DAME DE LOURDES



Esclerosis múltiple	1	1,45%
Feocitocromo	1	1,45%
Fiebre reumatica	1	1,45%
Hidatidosis	1	1,45%
Hodking	1	1,45%
Infeccion	2	2,90%
Infeccion crónica	3	4,35%
Inflamatoria	1	1,45%
Influenza	1	1,45%
No tuberculosis	1	1,45%
Trauma	4	5,80%
Trauma/infeccion	1	1,45%
Trombosis	1	1,45%
Tuberculosis	29	42,03%
Tuberculosis?	1	1,45%
(en blanco)	1	0,00%
<b>Total general</b>	<b>70</b>	<b>100,00%</b>



**L. Pasteur** implicación posible de un tipo de microbio

**J.A. Villemin** (1868, *Etudes sur la Tuberculosis*) inoculó pus de un nódulo tuberculoso a un conejo y reprodujo experimentalmente la TB (*de humanos a conejos, de vacuno a conejos y de conejos a conejos*)

**R. Koch** (1843-1910)

Observó y aisló el bacilo en los tejidos y lo comunicó (24/3/1882) a la Sociedad de Fisiología de Berlín: 'observado y aislado el microorganismo que causaba la TB en el hombre y en el ganado bovino'.

Cultivó el bacilo y reprodujo la enfermedad. Técnica Bacteriológica (aislamiento en cultivo puro)

Postulados de Koch



J.A. Villemin



## Tisis de las vacas:

Se señalan similitudes entre enfermedad humana y bovina en 1831 (Ernst Gurlt)

Se identifica como entidad veterinaria

Tos, disnea y consunción (tisis)

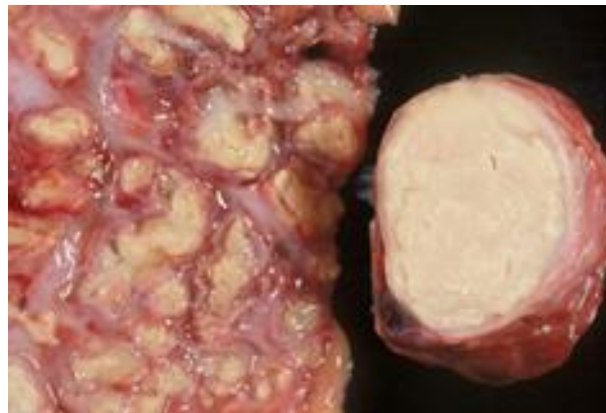
Auscultación: estertores crepitantes y sibilantes

Lesiones: Consunción asociada con nódulos pulmonares u otras localizaciones

Etiología: Desgaste por demanda productiva y deficiente alimentación

Mala higiene de los establos

Factores hereditarios: conformación torácica

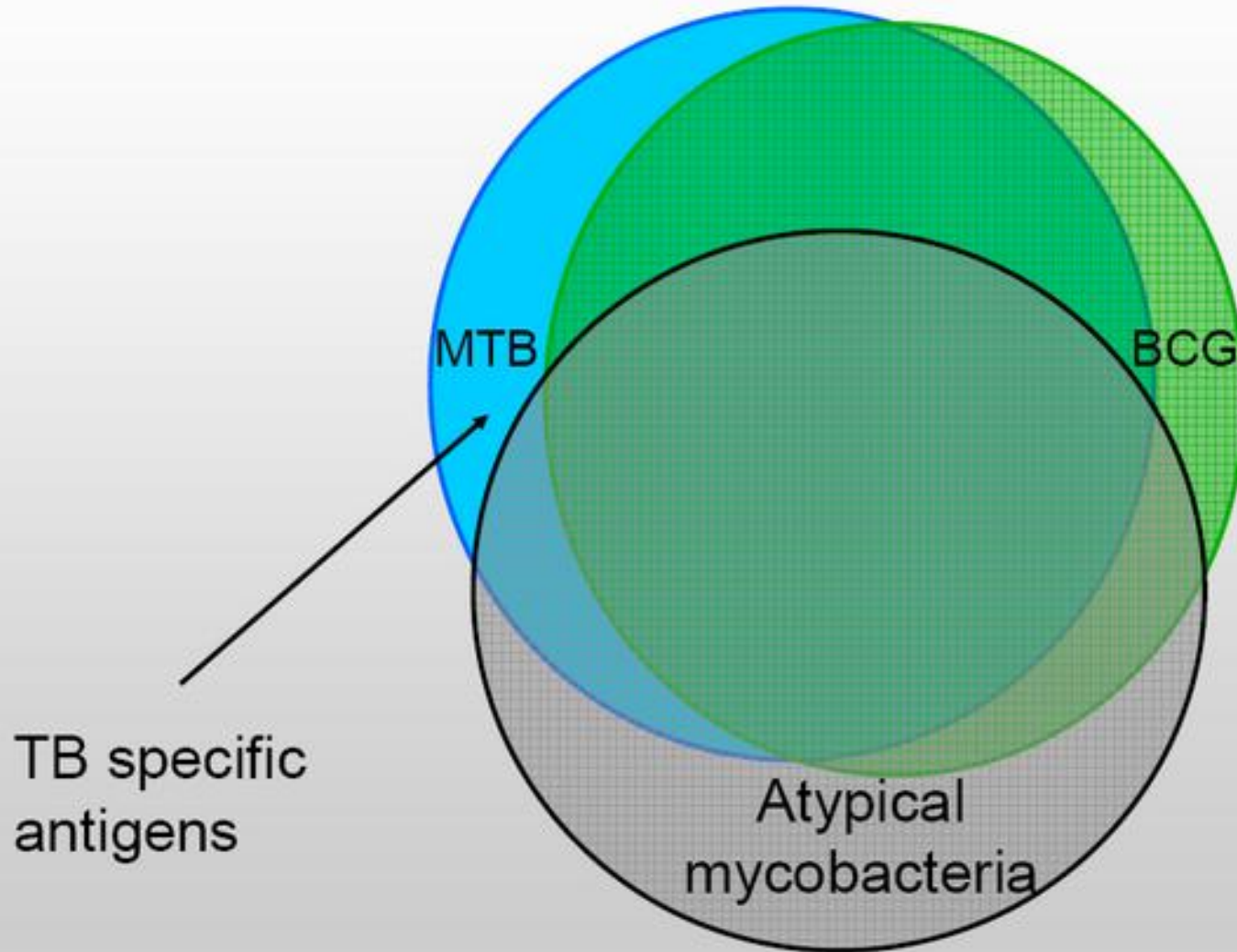


# Complejos *M. tuberculosis* y *M. avium*

- *M. tuberculosis*
- *M. bovis*
- *M. bovis* BCG
- *M. africanum*
- *M. microti*
- *M. caprae*
- *M. pinnipedi*
- *M. canetti*
- Var. genética *Oryx bacillus*
- Var. genética *Dassie bacillus*
- Var. genética *M. mungi*
- *M. avium* subsp. *avium*
- *M. avium* subsp. *silvaticum*
- *M. avium* subsp. *paratuberculosis*
- *M. avium* subsp. *hominissuis*
- *M. intracellulare*
- *M. arosiense*
- *M. chimaera*
- *M. columbiense*
- *M. marseillense*
- *M. bouchedurhonense*
- *M. timonense*



# Las micobacterias comparten la mayoría de los antígenos



# Aislamiento

- **Condiciones de crecimiento:**
  - **Aerobios** estrictos (algunas cepas microaerófilas: identificación)
  - **28-37°C**
  - pH: **6-6,5**
  - Tiempo: **30-60 d**

- Necesario:
  - **Descontaminar** las muestras clínicas (evitar gérmenes de crecimiento rápido) (NaOH al 4% o Cloruro de benzalconio o hexadecilpiridinio)
  - **Concentrar** las bacterias

*Se inocula el sedimento de la descontaminación-concentración*

Lowenstein - Jensen

Stonebrink

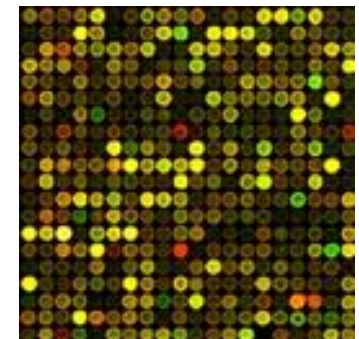
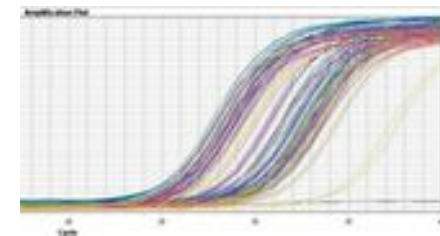
Coletsos

**Crecimiento lento:** tiempo de replicación en horas en lugar de minutos



## • Identificación rápida:

- **HPLC**: cultivo + horas
- **BACTEC-NAP**: 3.5 d
- **Biología Molecular**:
  - **Sondas marcadas**: sondas Accuprobe (cultivo + 1h)
  - **PCR**: múltiples sistemas en función de la secuencia diana y *primers* utilizados
  - **Real Time-PCR**. Detecta los miembros del complejo Mtb en todo tipo de muestras
  - **Microarrays**
- **MALDI-TOF**



# Secuencia de la infección con complejo *M. tuberculosis*

Ingestión o inhalación de los bacilos

En orofaringe, intestino o mucosa bronquial y epitelio alveolar son fagocitados por los **macrófagos que pasan a linfonodos** e inducen una respuesta pro-inflamatoria localizada que conduce al **reclutamiento de mononucleares** desde los vasos próximos

Se genera **un granuloma o tubérculo** formado por un centro de **macrófagos infectados** rodeado de **células gigantes** y más **macrófagos** con una cubierta de **linfocitos (fase de contención): complejo primario** (IDTB +)

**LATENCIA**

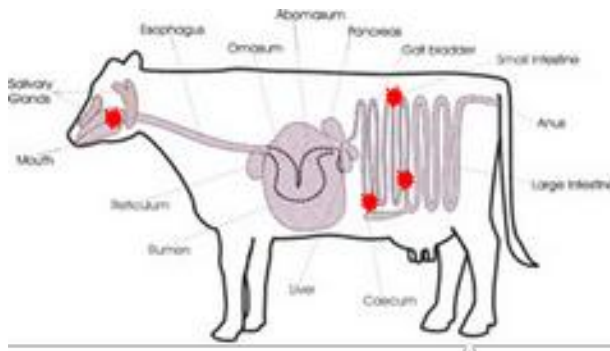
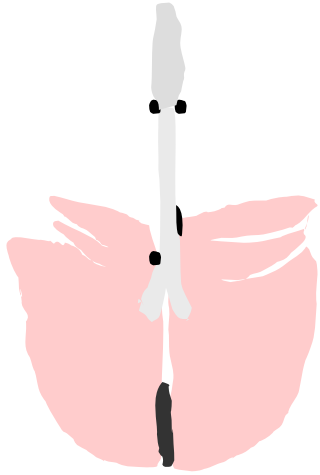
**LESION LOCALIZADA  
TB PRIMARIA**

**DISEMINACIÓN: fase de contagio**

# Cuadro Clínico

- **Curso crónico** (periodo de incubación de meses o años)
- **Signos inespecíficos iniciales** (caída de producciones y deterioro general)
- **Variedad de síntomas y lesiones:** debilidad progresiva, anorexia, pérdida de peso, fiebre (fluctúa), tos seca (intermitente y dolorosa), taquipnea y disnea, sonidos anormales a la auscultación y percusión, diarrea, tumefacción linfonodular y muerte
- Lo más habitual: **latencia sin síntomas**

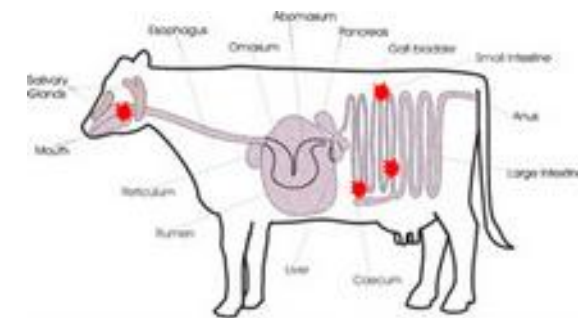
# Localización de la lesión tuberculosa en bovinos con una única lesión (Corner, 1994)



Localización	%
Ln. retrofaringeo medial	29,4
Ln. mediastínico	28,2
Ln. bronquial	18,0
Pulmón	9,8
Ln. mesentérico	2,9
Ln. parotideo	2,4
Ln. cervical caudal	2,4
Ln. inguinal superficial	1,2
Otros	5,7

**Tonsilas!**

LOCALIZACIÓN DE LESIONES EN		N.º DE CASOS	%	
a)	GANGLIOS	Apical ... ..	491	29'73
		Brónquico izquierdo ... ..	999	60'50
		Brónquico derecho .. ..	764	46'27
		Mediastínicos ... ..	964	58'38
		Retrofaríngeos .. ..	402	24'34
		Submaxilares ... ..	92	5'57
		Parotídeos ... ..	24	1'45
		Retrohepáticos ... ..	145	8'78
		Gástricos ... ..	103	6'23
		Mesentéricos ... ..	244	14'77
		Ilíacos ... ..	74	4'48
		Isquiáticos ... ..	26	1'57
		Poplíteos ... ..	104	6'29
		Precurrales ... ..	44	2'66
		Retromamarios ... ..	24	1'45
		Lumboaórticos ... ..	21	1'27
		Subdorsales ... ..	29	1'75
		Supraesternales ... ..	95	5'69
		Prepectorales ... ..	119	7'20
		Prescapulares ... ..	133	8'05
Axilares ... ..	22	1'33		
Atloideo .. ..	8	0'48		
b)	VÍSCERAS	Laringe ... ..	2	0'12
		Tráquea ... ..	4	0'24
		Pulmones ... ..	802	48'57
		Corazón ... ..	21	1'27
		Pleura ... ..	245	14'83
		Hígado ... ..	155	9'38
		Bazo ... ..	28	1'69
		Estómago ... ..	94	5'69
		Intestino ... ..	113	6'84
		Páncreas ... ..	3	0'18
		Riñones .. ..	3	0'18
Utero ... ..	6	0'36		
Peritoneo ... ..	63	3'81		
Mamas ... ..	11	0'66		



**218:1**  
**(humanos)**





Respuesta inmune hospedador

Celular  
IDR, IFN- $\gamma$

Humoral  
ELISA

Agente etiológico

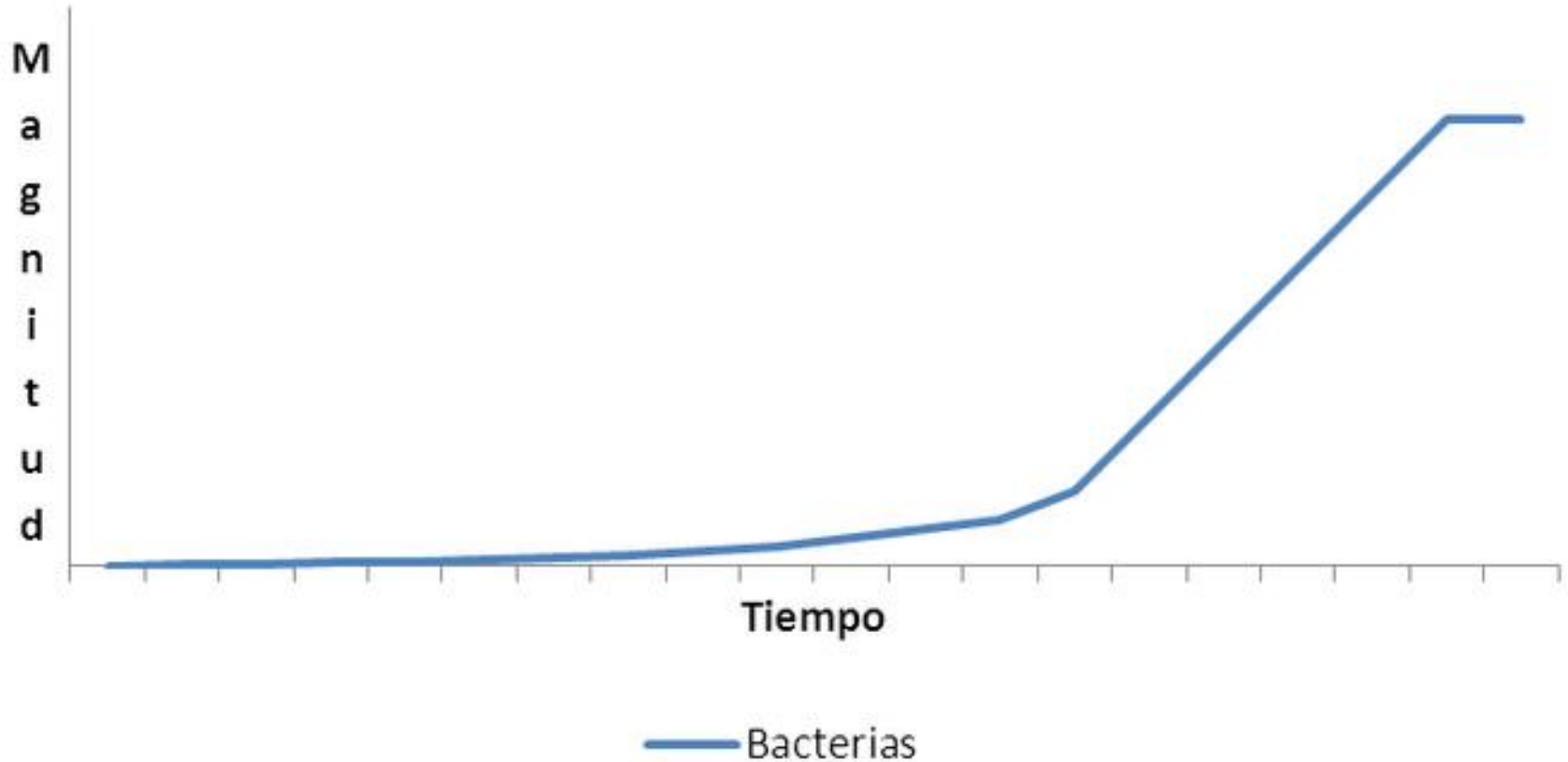
Aislamiento + Identificación  
(RT-PCR)

**Caracterización molecular**  
(DVR-spoligotyping, VNTRs)

Estudio histopatológico + Inmunohistoquímico

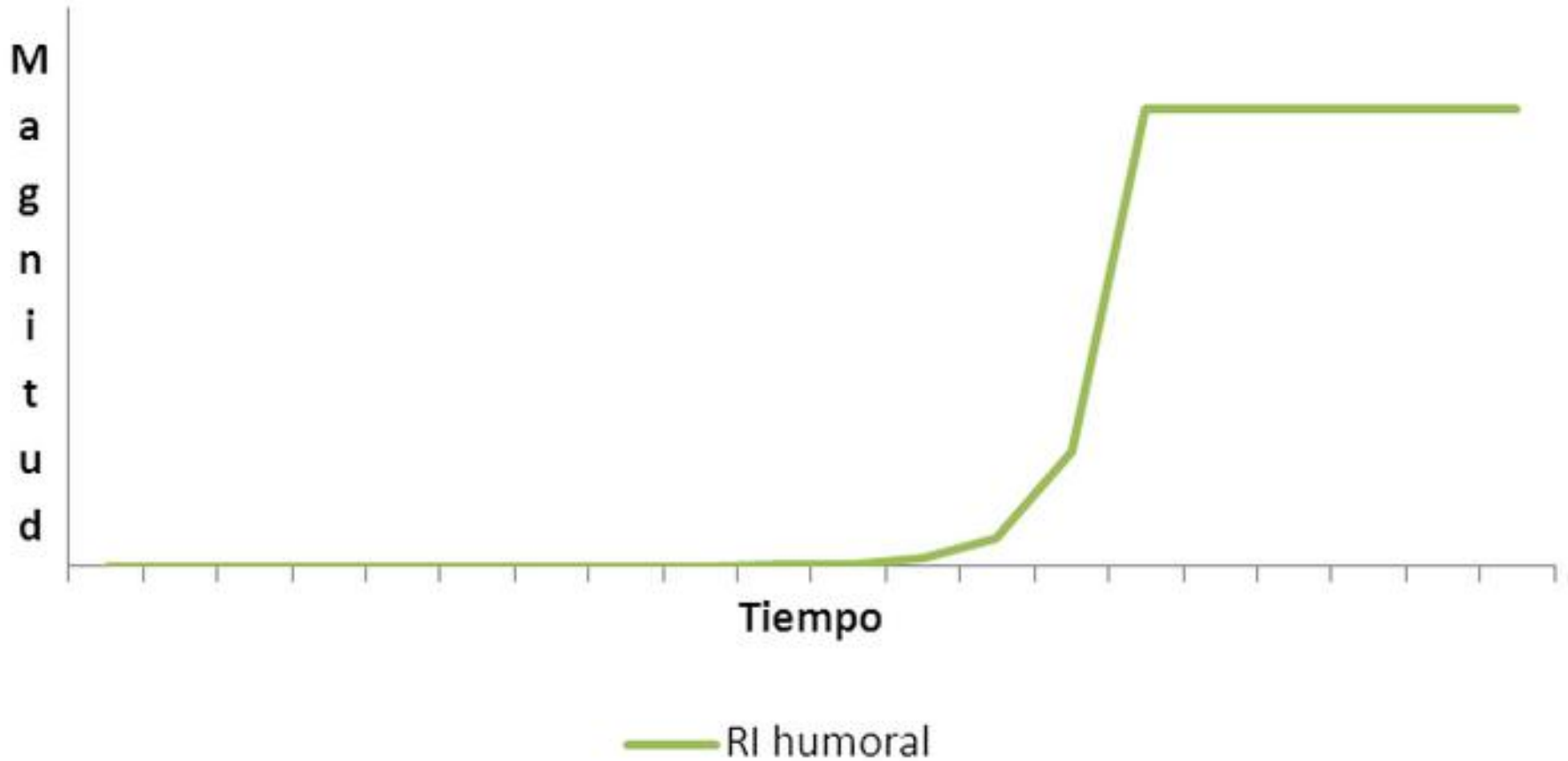
# Evolución de la respuesta inmune

## Bacterias

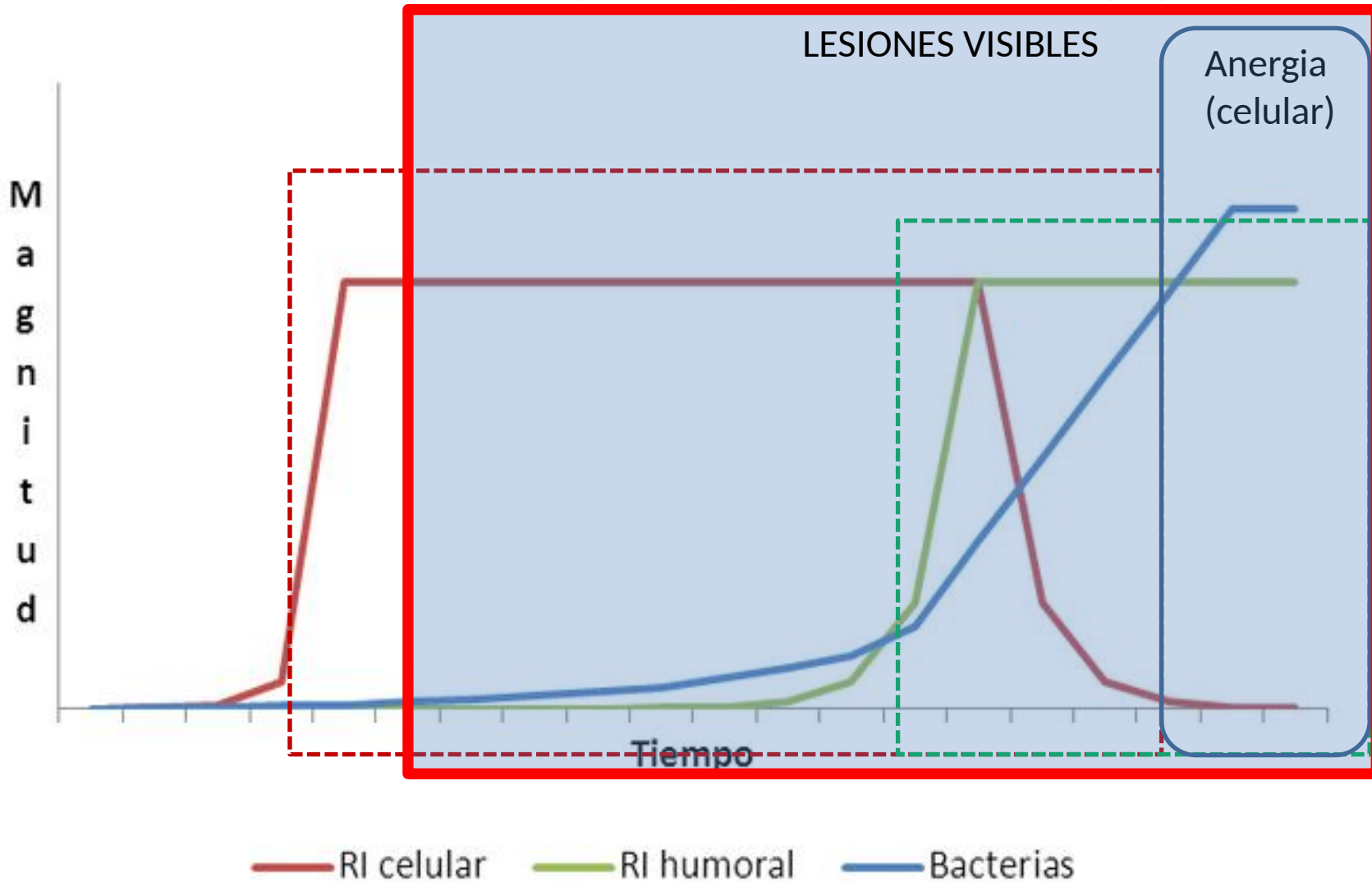


# Evolución de la respuesta inmune

## RI humoral

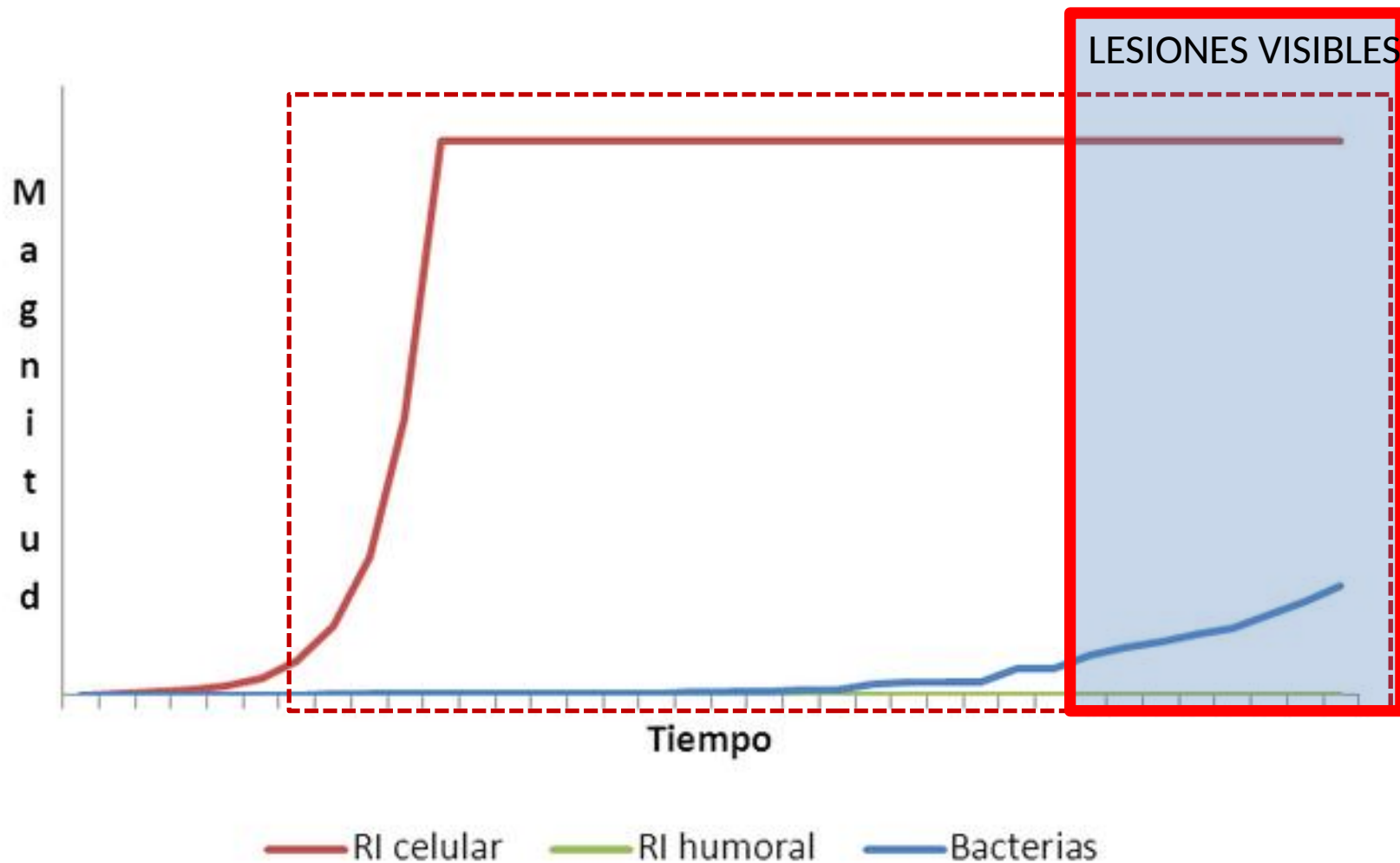


# INDICADORES DE INFECCION



# INDICADORES DE INFECCION

FORMAS PAUCIBACILARES. TUBERCULOIDES O LINFOPLASMOCITICAS



# IDTB

## IDTB Simple: Se

- **63-100%** (intervalo)
- 83.9% (más probable); 95% >60%

## IDTB Simple: Sp

- **75-99%** (intervalo)
- 96.8% (más probable); 95% >75%

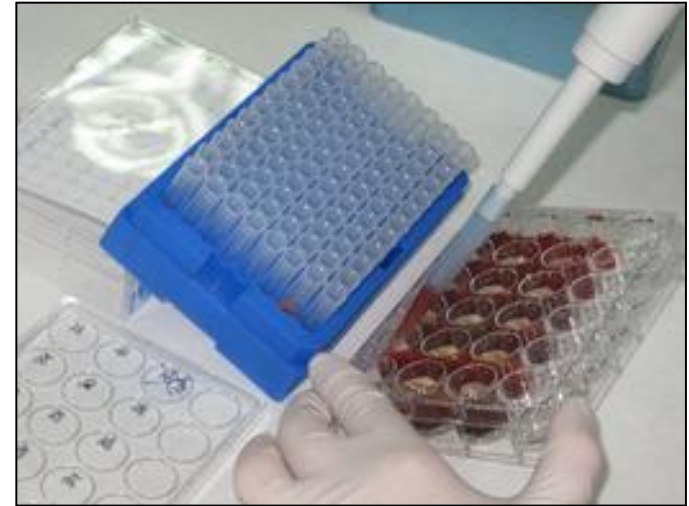
## IDTB comparada: <Se y > Sp

- Se: **52-100%** (80-93.5% en función de la interpretación)
- Sp: **78-100%** (99.5%)
- En caso de enfermedad: > probabilidad de dejar animales infectados

# PRUEBA DE DETECCIÓN DE IFN-GAMMA

## IFN- $\gamma$ : Sensib

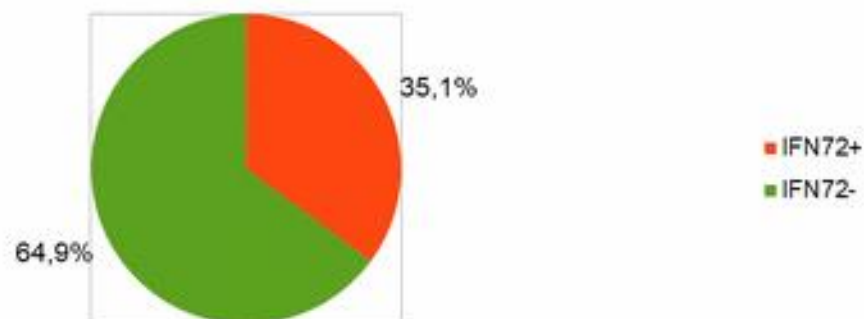
- **73-100% (intervalo) : punto de corte**
- 92% (más probable); 95% >80%



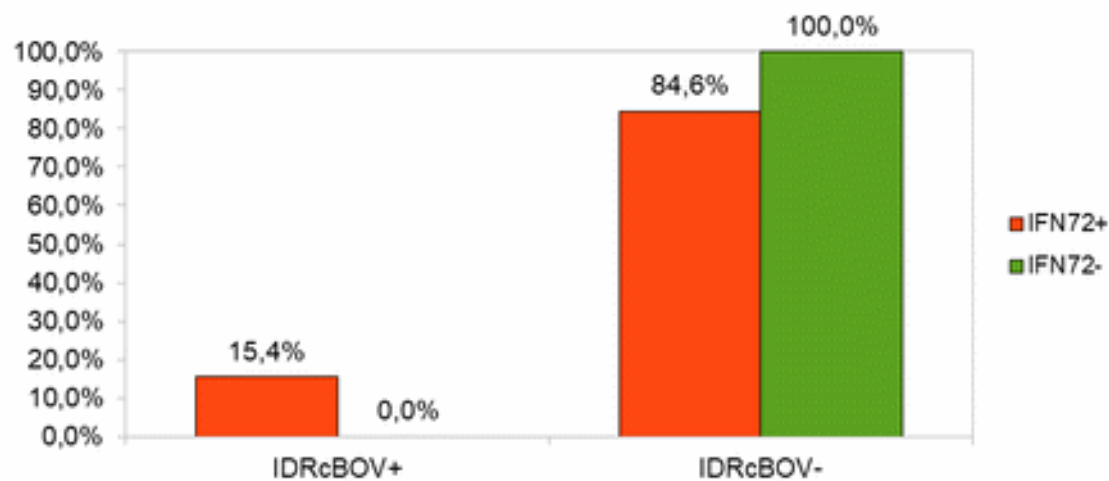
## IFN- $\gamma$ : Especif

- **80-99% (intervalo) : punto de corte**
- 90% (más probable); 95% >80%
- Técnica sensible a pequeñas modificaciones
- **IDTBs >> IFN en condiciones de campo: uso en explotaciones infectadas**

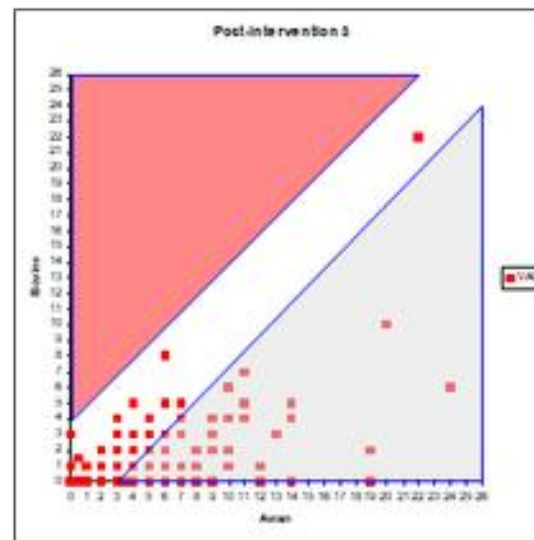
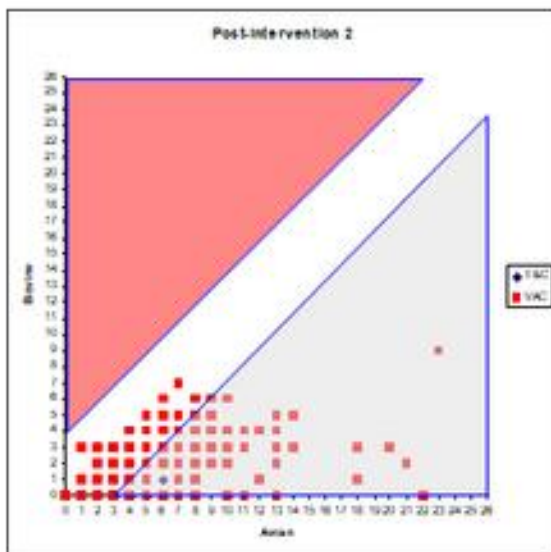
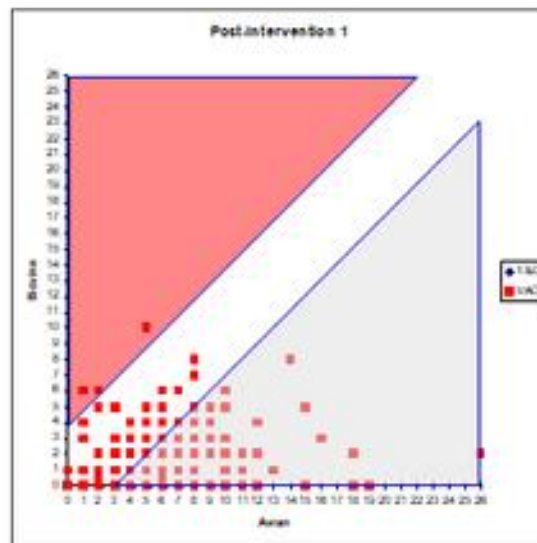
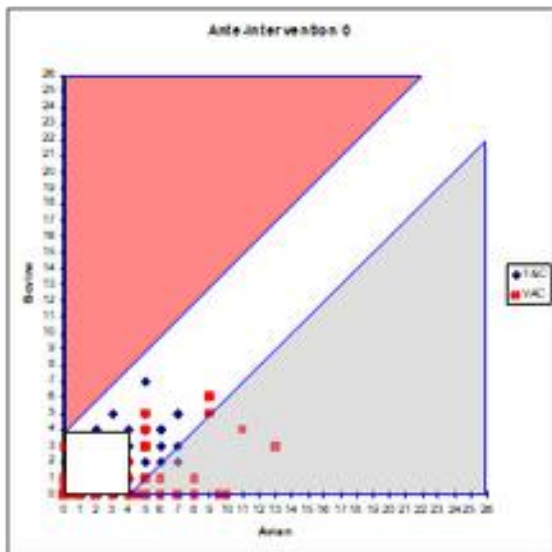
### Confirmacion de IDR+ por IFN a las 72h



### Confirmacion de IFN a los 42 días por IDRc







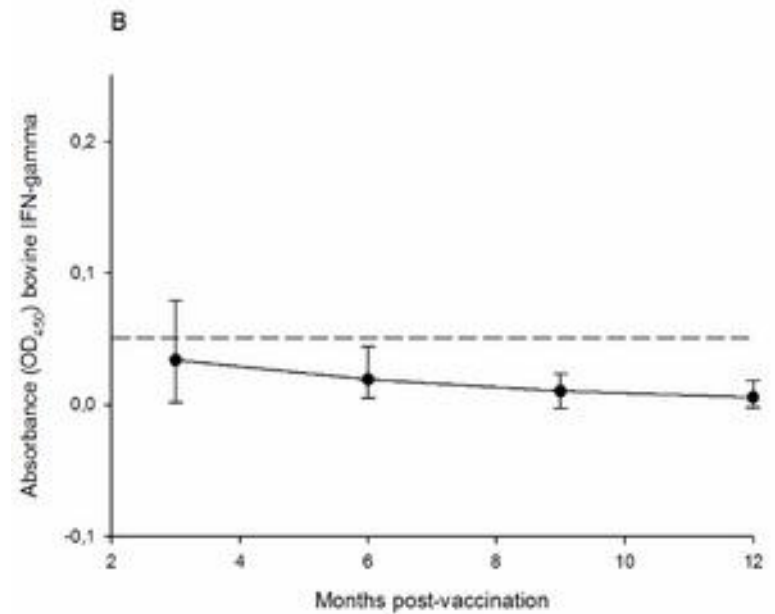
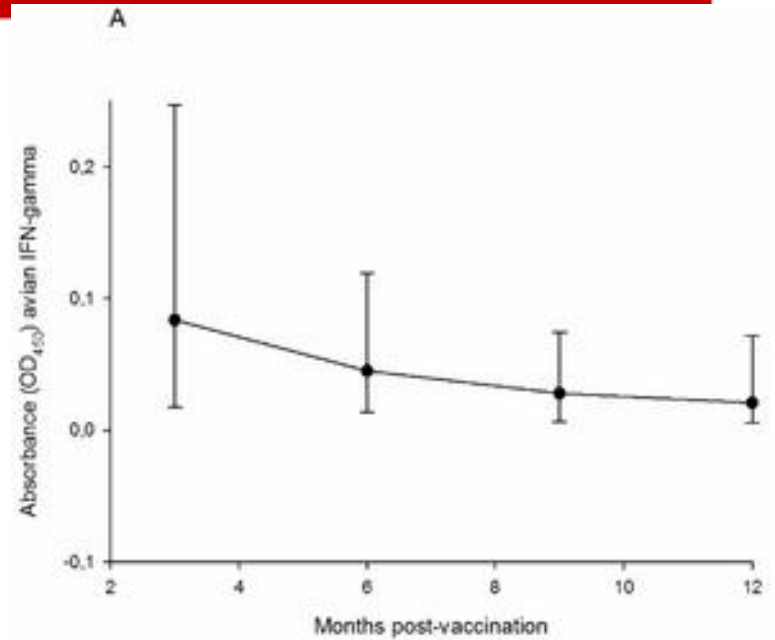
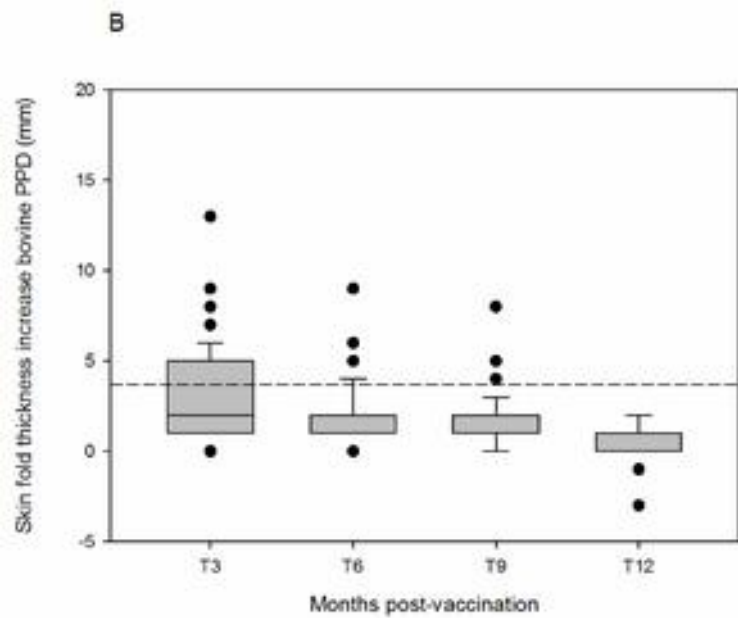
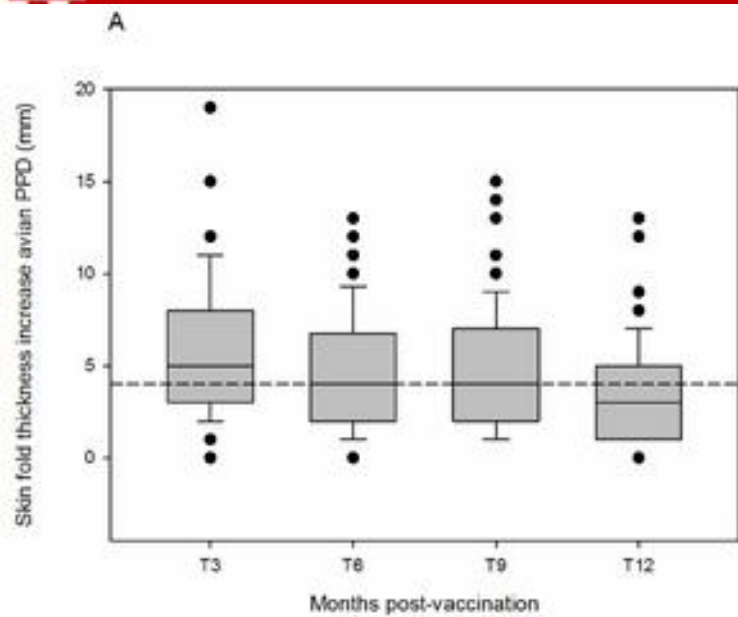


Table 4. Skin thickness interpretation criteria after application of the different antigens in the skin test.

Antigen	Test type and interpretation	Cut-off positivity criteria	Sensitivity %	Specificity %
<b>Official diagnostic criteria: vaccinated and non-vaccinated animals</b>				
PPD	Single official	Standard: $\Delta\text{mm B-PPD} \geq 4$	100	40
		Strict: $\Delta\text{mm B-PPD} > 2$	100	0
	Comparative official	Standard: $\Delta\text{mm B-PPD} \geq 4$ and $> \text{A-PPD}$	70	100
		Strict: $\Delta\text{mm B-PPD} > 2$ and $> \text{A-PPD}$	70	100
<b>Alternative diagnostic criteria (vaccinated animals only)</b>				
PPD	Single absolute	$\Delta\text{mm} \geq 6$	100	100
	Comparative absolute	$\Delta\text{mm} \geq 6$ and $\text{B-PPD} \geq \text{A-PPD}$	60	100
	Single relative	$\geq 100\%$	100	100
	Comparative relative	$\geq 100\%$ and $\text{B-PPD} \geq \text{A-PPD}$	100	100
Peptide cocktail	Single absolute	$\Delta\text{mm} \geq 3$	100	80
	Single relative	$\geq 40\%$	100	100
Protein cocktail	Single absolute	$\Delta\text{mm} \geq 3$	100	100
	Single relative	$\geq 30\%$	100	100
<b>Alternative diagnostic criteria (non-vaccinated animals only)</b>				
Peptide cocktail	Single absolute	$\Delta\text{mm} \geq 3$	100	100
Protein cocktail	Single absolute	$\Delta\text{mm} \geq 3$	100	100

A-PPD: avian purified protein derivative. B-PPD: bovine purified protein derivative.

doi:10.1371/journal.pone.0169735.t004



## Evaluation of five serologic assays for bovine tuberculosis surveillance in domestic free-range pigs from southern Spain



Fernando Cardoso-Toset<sup>a,b,\*</sup>, Inmaculada Luque<sup>b</sup>, Librado Carrasco<sup>c</sup>, Francisco Jurado-Martos<sup>a,b</sup>, María Ángeles Riscalde<sup>d</sup>, Ángel Venteo<sup>e</sup>, José A. Infantes-Lorenzo<sup>f,g</sup>, Javier Bezos<sup>f</sup>, Paloma Rueda<sup>e</sup>, Istar Tapia<sup>e</sup>, Christian Gortázar<sup>d</sup>, Lucas Domínguez<sup>f</sup>, Mercedes Domínguez<sup>g</sup>, Jaime Gomez-Laguna<sup>a,c</sup>

F. Cardoso-Toset et al. / Preventive Veterinary Medicine 137 (2017) 101–104

103

**Table 1**

Estimates of sensitivity, specificity and area under the curve (AUC) with 95% confidence intervals (CI<sub>95</sub>) of the five tests for the detection of serum antibodies against *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) in domestic free-range pigs, using MTC detection by culture and qPCR as reference method. A total of 147 animals were included within the description of positive (50) and negative (88) animals.

Serologic assays	Sensitivity		Specificity		AUC	CI <sub>95</sub>
	%	CI <sub>95</sub>	%	CI <sub>95</sub>		
MPB70 + MPB83 ELISA (INGEZIM TB Porcine, INGENASA)	78.0	65.3–87.7	100	95.9–100	0.902	0.842–0.945
MPB83 LFD (INGEZIM TB-CROM, INGENASA)	74.6	61.6–85.0	98.9	93.8–100	–	–
hPPD1 ELISA (TB ELISA-VK; Vacunek S.L.)	72.9	59.7–83.6	100	95.9–100	0.979	0.940–0.995
r hPPD in-house ELISA	71.2	57.9–82.2	100	95.9–100	0.785	0.710–0.848
hPPD2 in-house ELISA	66.1	52.6–77.9	100	95.9–100	0.818	0.746–0.877

TB positive animals: pigs with compatible gross lesions at post-mortem inspection and MTC identification by means of bacteriological culture or qPCR genome amplification from tissue. TB negative animals: pigs from TB-free areas without compatible gross lesions at post-mortem inspection and absence of MTC by qPCR genome amplification from tissue.

**Table 2**

Seropositivity in relation to TB compatible lesions at slaughterhouse in domestic free-range pigs. A total of 129 animals from TB positive farms were included in the analysis and described as pigs with tuberculosis-like lesions at slaughterhouse (TBL; n = 77) and pigs with no visible lesions (NVL; n = 52).

Serologic assays	TBL <sup>a</sup>		NVL <sup>b</sup>	
	N <sup>a</sup>	%	N <sup>b</sup>	%
MPB70 + MPB83 based ELISA (INGEZIM TB Porcine, INGENASA)	59/77	76.6	5/52	9.6
MPB83 based LFD (INGEZIM TB-CROM, INGENASA)	57/77	74.0	7/52	13.5
hPPD1 ELISA (TB ELISA-VK; Vacunek S.L.)	56/77	72.7	14/52	26.9
r hPPD in-house ELISA	55/77	71.4	5/52	9.6
hPPD2 in-house ELISA	52/77	67.5	5/52	9.6

<sup>a</sup> TBL: pigs with TBL detected during meat inspection at slaughterhouse.

<sup>b</sup> NVL: pigs without visible compatible lesions during meat inspection at slaughterhouse.

# Serología

## Sensitivity and Specificity reported for Antibody Detection blood tests (Nuñez-Garcia *et al.* 2017)

Marassi <i>et al.</i> (2014)	MPB70 <sup>a</sup>	0.11		
Marassi <i>et al.</i> (2014)	MPB83 <sup>e</sup>	0.67		
Buddle <i>et al.</i> (2013)	MPB70 and MPB83 <sup>d</sup>	0.53		
Casal <i>et al.</i> (2014)	MPB70 and MPB83 <sup>f</sup>	0.70	Casal <i>et al.</i> (2014)	MPB70 and MPB83 <sup>g</sup> 1.00
			Casal <i>et al.</i> (2014)	MPB70, MPB83, ESAT6, 0.98
				CFP-10, PPD bovine, MPB70 <sup>h</sup>
Casal <i>et al.</i> (2014)	MPB70, MPB83, ESAT6, CFP-10, PPD bovine, MPB70 <sup>f</sup>	0.85		
da Silva <i>et al.</i> (2011)	MPT-51 <sup>u</sup>	0.55	da Silva <i>et al.</i> (2011)	MPT-51 <sup>l</sup> 0.52
da Silva <i>et al.</i> (2011)	Ag85 <sup>v</sup>	0.48	da Silva <i>et al.</i> (2011)	AG85 <sup>j</sup> 0.89
da Silva <i>et al.</i> (2011)	BCG <sup>w</sup>	0.82	da Silva <i>et al.</i> (2011)	BCG <sup>k</sup> 0.91



Contents lists available at ScienceDirect

## Veterinary Immunology and Immunopathology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetimm](http://www.elsevier.com/locate/vetimm)



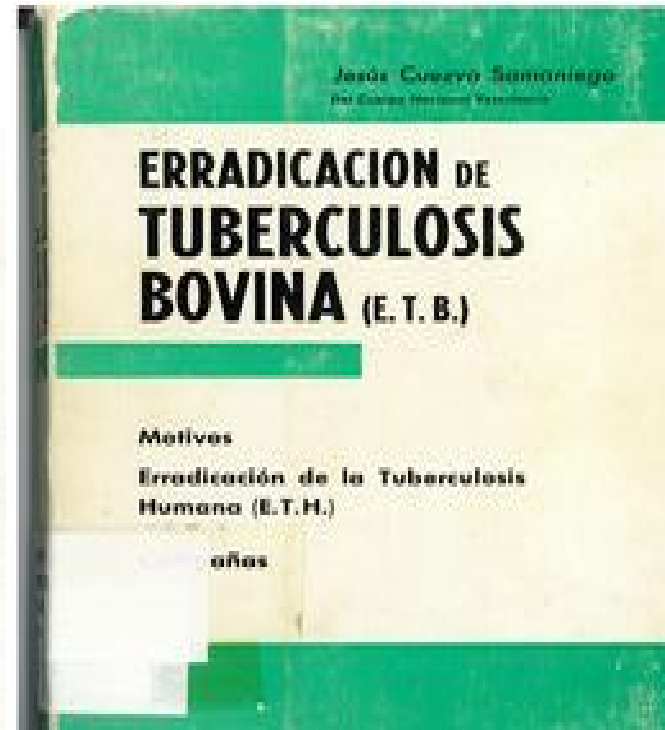
The use of serological tests in combination with the intradermal tuberculin test maximizes the detection of tuberculosis infected goats



Javier Bezos<sup>a,b,c</sup>, Álvaro Roy<sup>a,c</sup>, José Antonio Infantes-Lorenzo<sup>a,b</sup>, Isabel González<sup>d</sup>, Ángel Venteo<sup>d</sup>, Beatriz Romero<sup>a,c</sup>, Anna Grau<sup>f</sup>, Olga Mínguez<sup>f</sup>, Lucas Domínguez<sup>a,b</sup>, Lucía de Juan<sup>a,b</sup>

## Cuezva Samaniego y la E.T.B.

Dirigió y organizó el primer equipo de saneamiento de lucha contra la brucelosis bovina, tricomoniasis y esterilidad en los años 1952-1955. Durante los años 1953 a 1955 realizó el estudio epizootiológico sobre la tuberculosis bovina en la provincia. Vizcaya fue la primera provincia juntamente con la de Santander en la que se organizó dicha lucha.



Disponible en pdf

- 1- Infección residual (recirculación)
- 2- Entrada de bovinos infectados
- 3- Movimientos de animales
- 4- Contagio a partir de rebaños vecinos (contigüidad)
- 5- Contacto indirecto (útiles, maquinaria, vehículo...)
- 6- Interacción con reservorios silvestres (contacto indirecto)
- 7- Interacción con otras especies domésticas infectadas (caprino)
- 7- Interacción otras especies domésticas infectadas (ovinos)
- 7- Interacción con otros animales domésticos infectados (cerdos)
- 7- Interacción con otros animales domésticos infectados (otros)
- 8- Transmisión excepcional a través de personas infectadas...

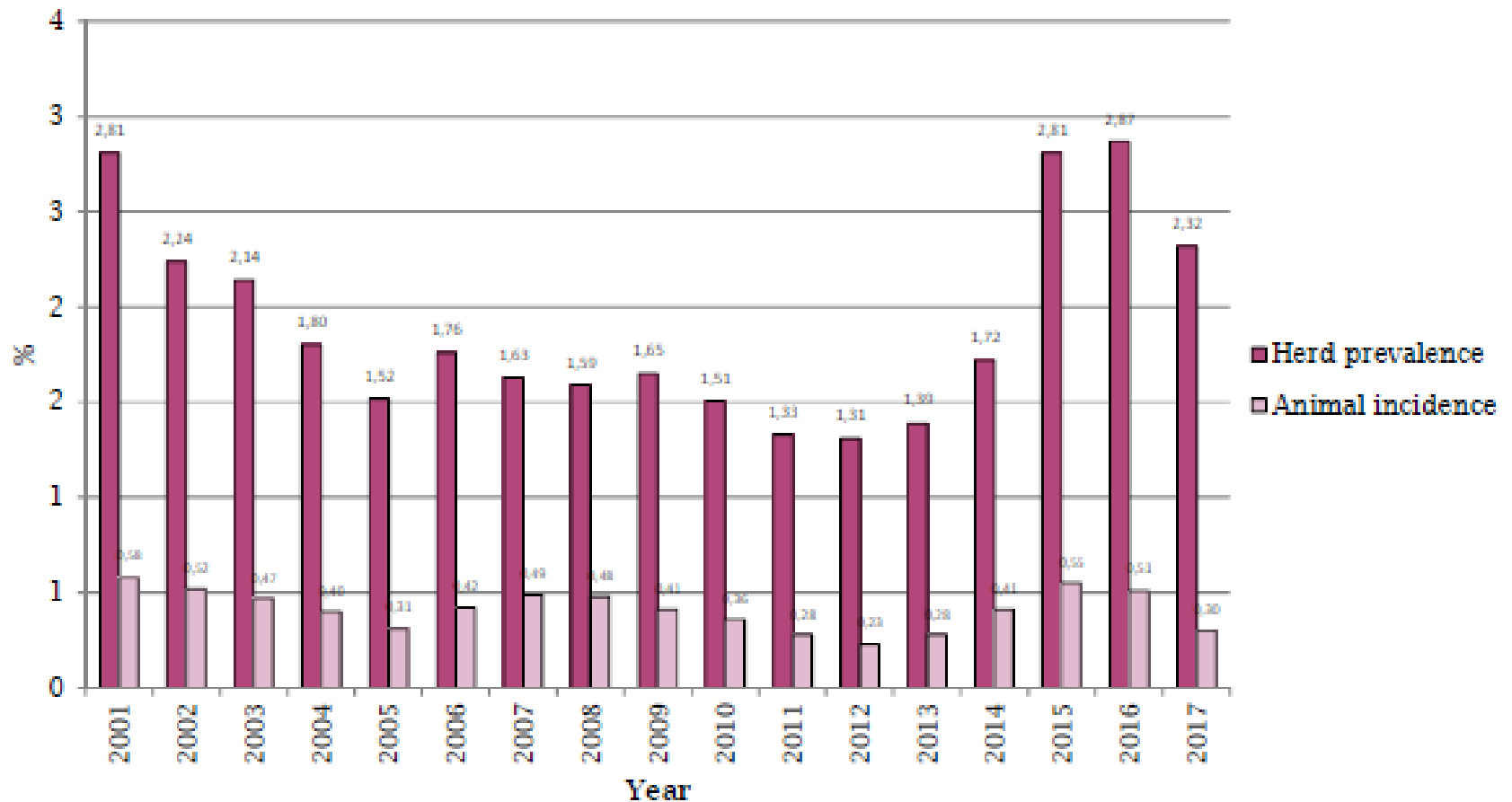
# Estudio cuestionarios epidemiológicos BRUTUB 2013-2016

Tabla 6. Porcentajes de vías más probable de entrada de la tuberculosis en las granjas analizadas estratificado por Comunidad Autónoma.

CCAA	Entradas	Fauna	Pastos	Residual	Vecinos	Desconocida
ANDALUCIA	10%	32%	3%	50%	2%	2%
ARAGON	6%	26%	7%	36%	0%	25%
ASTURIAS	14%	27%	8%	44%	5%	2%
CANTABRIA	10%	13%	15%	56%	6%	0%
CASTILLA-LA MANCHA	17%	39%	6%	28%	4%	6%
CATALUÑA	11%	37%	11%	26%	0%	14%
EXTREMADURA	15%	39%	6%	30%	3%	7%
GALICIA	4%	45%	2%	44%	0%	4%
MADRID	18%	24%	10%	35%	2%	10%
Otras Comunidades	13%	16%	12%	37%	0%	22%
Total general	14%	36%	6%	36%	3%	6%



# Tuberculosis bovina en España



# SANCTUAIRE NOTRE-DAME DE LOURDES



Esclerosis múltiple	1	1,45%
Feocitocromo	1	1,45%
Fiebre reumatica	1	1,45%
Hidatidosis	1	1,45%
Hodking	1	1,45%
Infeccion	2	2,90%
Infeccion crónica	3	4,35%
Inflamatoria	1	1,45%
Influenza	1	1,45%
No tuberculosis	1	1,45%
Trauma	4	5,80%
Trauma/infeccion	1	1,45%
Trombosis	1	1,45%
Tuberculosis	29	42,03%
Tuberculosis?	1	1,45%
(en blanco)	1	0,00%
<b>Total general</b>	<b>70</b>	<b>100,00%</b>





irec

neiker  
tecnalia



CSIC

Consejo Superior de Investigaciones Científicas



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE MADRID



www.risvet.es



universidad  
de león

UAB Universitat Autònoma  
de Barcelona

¡Muchas gracias!