



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Departamento de Medicina
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Barcelona

**Estudio de la tuberculosis pulmonar mediante
Tomografía Computarizada Multidetector en un modelo
experimental de *minipig***

Jordi Bechini Bernad

Tesis doctoral presentada para obtener el grado de Doctor por la Universidad Autónoma
de Barcelona
Programa de Doctorado en Medicina

Badalona, Octubre de 2016

Directores:

Dr. Ricardo Pérez Andrés
Dr. Pere-Joan Cardona Iglesias
Dra. Cristina Vilaplana Massaguer

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría empezar esta tesis doctoral, dando las gracias a todas aquellas personas que han colaborado en su realización.

Agradecer a todos aquellos que han formado parte de mi larga trayectoria profesional y por extensión, a los profesionales del Departamento de Imagen del Hospital Universitari Germans Trías i Pujol.

A mis padres Jordi y Paquita, por educarme en la cultura del esfuerzo y la responsabilidad.

A Ana y a nuestra hija Miriam, por su paciencia, comprensión y apoyo durante estos dos últimos años.

A mi hermana Gemma, por dedicarme toda su ayuda en los momentos difíciles.

A mi inseparable perrita Chloe, por hacerme compañía las madrugadas de los sábados y algún domingo. Esos paseos matutinos me ayudaron a empezar el trabajo con alegría.

Al doctor Ricard Pérez, al que me une una larga amistad y dilatada relación profesional, por haber creído en mí y proponerme la realización de esta tesis.

A los doctores Pere Joan Cardona y Cristina Vilaplana, referentes mundiales en la tuberculosis experimental, por su predisposición y ayuda en introducirme en el arte de la investigación. Con ellos he aprendido a compaginar la ciencia con el buen humor y la risa.

A todos los miembros de la UTE (*Unitat de Tuberculosis Experimental*), especialmente a Laura Villegas, por su inestimable ayuda en la recogida de los datos de nuestro experimento, así como de la elaboración del documento final.

Al grupo de investigación MOSIMBIO (*Grup de Modelització i Simulació Discreta de Sistemes Biològics*), fundamentalmente a Clara Prats y a Daniel López, por enseñarme a conocer la etiopatogenia de las infecciones y la morfo-anatomía humana desde la óptica de otras especialidades científicas. He aprendido y disfrutado mucho con su compañía. Esta colaboración multidisciplinar ha de ser la base de futuros proyectos de investigación.

También mostrar mi agradecimiento a Martí Català, estudiante de Ingeniería Física, por sus contribuciones en su trabajo de final de grado, basado en el diseño de un modelo 3D del árbol bronquial del *minipig*.

Agradezco de todo corazón a la doctora Montserrat Tenesa, por su ayuda en las fases previas de mi tesis y por su desinteresada cooperación durante todo este tiempo. Con ella, he podido comprobar que los amigos son la familia que uno escoge en la vida.

Al Sr. Mariano Moya, diplomado en enfermería especializado en equipos de TC, por colaborar conmigo en las fases del preprocesado y procesado de todas las imágenes obtenidas.

Al profesor Jordi Tor, Catedrático de Medicina de la *Universitat Autònoma de Barcelona*, por su apoyo.

A mi secretaria, Mar Gallarín, por su soporte logístico y simpatía constante.

A Fernando Lema, supervisor de enfermería del Departamento de Imagen de nuestro hospital, por tener siempre una sonrisa como respuesta.

A la doctora Patrícia Cuadras, coordinadora general del Departamento, por su valioso criterio y habilidad en la gestión de nuestra organización asistencial.

Al equipo directivo del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, formado por los doctores Jordi Ara, Beatriu Bayès y Oriol Estrada por darme todas las facilidades para poder realizar este proyecto de investigación.

A los doctores Manel Fraile y Marta Milà, del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol y los doctores Gloria Moragas y JR García Garzón, médicos nucleares de CETIR, por introducirme en el apasionante mundo de la imagen molecular, que ha de ser la piedra angular de las nuevas estrategias de la bioimagen.

A todos los jefes de las diferentes áreas asistenciales, de docencia, formación continuada, investigación y control de calidad del Departamento de Imagen por seguir luchando, a pesar de todo, para desarrollar nuestro proyecto territorial.

A todos los miembros del Departamento: enfermeros, técnicos, auxiliares de clínica, administrativos, celadores, así como el soporte del servicio de informática del hospital por mantener su esfuerzo en solucionar los problemas diarios.

Finalmente, deseo agradecer profundamente la oportunidad que me ha brindado la vida de realizar en este proyecto de investigación, ya que he podido aprender a elaborar una tesis doctoral fascinante así como conocer a personas extraordinarias que me han enseñado a investigar.

Los Doctores Ricardo Pérez Andrés, Pere-Joan Cardona Iglesias y Cristina Vilaplana Massaguer,

Certifican:

Que el trabajo experimental y la redacción de la memoria de la Tesis Doctoral titulada **Estudio de la tuberculosis mediante Tomografía Computarizada Multidetector en un modelo experimental de *minipig*** han sido realizados por Jordi Bechini Bernad bajo su dirección, y consideran que son aptos para ser presentados y optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad Autónoma de Barcelona (Departamento de Medicina).

Y para que quede constancia, se firma este documento en Badalona, Octubre de 2016.

Dr. Pere-Joan Cardona Iglesias

Dr. Ricardo Pérez Andrés

Dra. Cristina Vilaplana Massaguer

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN (ESTADO DEL ARTE)	15
1.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA	15
1.1.1 Robert Koch	16
1.1.2 La TB después del descubrimiento de Koch	17
1.2. ETIOPATOGENIA Y FISIOPATOLOGIA	18
1.2.1 Etiología.....	18
1.2.2 Transmisión	19
1.2.3 Patogenia	21
1.2.4 Historia Natural	22
1.2.5 TB pulmonar típica	24
1.2.6 Infección tuberculosa latente (ITBL)	25
1.2.7 Hipótesis dinámica de la reinfección de la ITBL	26
1.3. EPIDEMIOLOGÍA	27
1.3.1 TB mundial	27
1.3.2 TB en España	30
1.3.3 TB en Cataluña	32
1.3.4 TB en la ciudad de Barcelona	32
1.3.5 Costes económicos que genera la TB	33
1.4 CLÍNICA	35
1.4.1 TB pulmonar	36
1.4.2 TB extrapulomonar	37
1.5 DIAGNÓSTICO	38
1.5.1 Prueba de la tuberculina (PT)	38
1.5.2 Técnicas <i>in vitro</i> de interferón-gamma (IFN- γ): IGRAs	40
1.5.3 Diagnóstico clínico	41
1.5.4 La TB en niños	42
1.5.5 Microbiología	42
1.5.6 Diagnóstico anatomopatológico	44
1.5.7 Diagnóstico bioquímico	44
1.6 TRATAMIENTO.....	45
1.6.1 Efectos adversos del tratamiento	48

1.6.2 Medidas de aislamiento de los pacientes infectados por TB	49
1.7 PAPEL DE LA VACUNACIÓN CON BCG Y SUS POSIBLES ALTERNATIVAS	49
1.8 DIAGNÓSTICO POR LA IMAGEN DE LA TB	51
1.8.1 Técnicas de imagen	51
1.8.2 Manifestaciones radiológicas	54
1.8.3 Uso de la radiología digital como método de cribado poblacional para detectar la TB torácica	72
1.9 TB EXPERIMENTAL	76
1.9.1 El modelo animal en la investigación biomédica	76
1.9.2 La importancia del modelo animal para el desarrollo de nuevas vacunas	78
1.9.3 Patogénesis de la TB experimental	81
1.9.4 Anatomía Patológica en la TB Experimental	81
1.9.5 Anatomía del aparato respiratorio del <i>minipig</i>	85
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	87
3. MATERIAL Y MÉTODOS	89
3.1 DISEÑO INICIAL DEL EXPERIMENTO	89
3.1.1 Infección con <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	89
3.1.2 Tratamiento con candidatos a vacunas	89
3.1.3 Estudio histopatológico y microbiológico	90
3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO DE DIAGNÓSTICO POR LA IMAGEN CON TCMD. PLAN DE TRABAJO	91
3.3 PRIMERA FASE: ESTUDIO CON TCMD DE LOS 24 PAQUETES PULMONARES	92
3.3.1 Medidas de seguridad del procedimiento	92
3.3.2 Descripción de la realización del TCMD: aspectos técnicos	95
3.3.3 Plan de trabajo y diseño del estudio	97
3.3.4 Métodos estadísticos	108
3.3.5 Segunda fase: correlación entre la semiología radiológica de las imágenes obtenidas y el estudio histopatológico	110
4. RESULTADOS	117

4.1 RESULTADOS MORFORRADIOLÓGICOS DE LOS PULMONES ESTUDIADOS	117
4.2 RESULTADOS DE LAS LESIONES PULMONARES	119
4.2.1 Cuantificación de las lesiones	119
4.2.2 Localización de las lesiones	122
4.2.3 Tamaño de las lesiones	126
4.2.4 Análisis densitométrico de las lesiones	129
4.2.5 Distancia entre las lesiones	132
4.3 RESULTADOS DE CORRELACIÓN ENTRE LA SEMIOLOGÍA RADIOLÓGICA DE LAS IMÁGENES OBTENIDAS Y EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	134
4.3.1 Correlación entre los diferentes tipos histológicos y los hallazgos TC	136
4.3.2 Lesiones detectadas por TC sin correspondencia histopatológica	140
5 DISCUSIÓN	143
5.1 INTRODUCCIÓN	143
5.2 TC MULTIDETECTOR (TCMD). PROCESADO Y POSPROCESADO DE LAS IMÁGENES OBTENIDAS	145
5.3 NORMAS DE SEGURIDAD DURANTE EL PROCEDIMIENTO	149
5.4 HALLAZGOS MORFORRADIOLÓGICOS DE LOS PULMONES DE LOS 24 <i>MINIPIGS</i> ESTUDIADOS	150
5.5 CUANTIFICACIÓN DE LAS LESIONES	155
5.5.1 Enumeración de las lesiones de los <i>minipigs</i>	156
5.5.2 Localización de la infección pulmonar	158
5.5.3 Localización de las lesiones en los lóbulos pulmonares	159
5.5.4 Lesiones agrupadas	160
5.5.5 Lateralidad de las lesiones pulmonares	161
5.5.6 Localización antero-posterior	161
5.5.7 Localización cráneo-caudal	162
5.5.8 Lesiones subpleurales	163
5.6 TAMAÑO DE LAS LESIONES	163
5.7 ANÁLISIS DENSITOMÉTRICO DE LAS LESIONES	165

5.8 DISTANCIA ENTRE LAS LESIONES.....	170
5.9 CORRELACIÓN ENTRE LOS HALLAZGOS TC Y EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	170
5.10 LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS	178
5.10.1 Perspectivas	181
6. CONCLUSIONES.....	183
7. BIBLIOGRAFIA	185

LISTA DE ABREVIACIONES

ADA: Adenosina Desaminasa

ADH: Hormona Anti Diurética (por sus siglas en inglés AntiDiuretic Hormone)

ALA: Advancing Lung Analysis

ALARA: As Low As Reasonably Achievable

AP: Anterior-posterior

AVA: Advanced Vessel Analysis

BAAR: Bacilos Ácido-Alcohol Resistentes

BAG: Punción-Aspiración con Aguja Gruesa

BCG: Bacilo de Calmette-Guérin

CAD: Diseño Asistido por Computadora

CRSA: Centre de Recerca en Sanitat Animal

CRRS: Chest Radiograph Reading and Recording System

DFOV: Campo de visión (por sus siglas en inglés Dual Field of View)

ECDC: Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (por sus siglas en inglés European Center Diseases Control)

EDO: Enfermedades de Declaración Obligatoria

EUA: Estados Unidos de América

FDG: Fluorodesoxiglucosa

H: Isoniacida

ICS: Institut Català de la Salut

IFN- γ : Interferón gamma

ILO: International Labour Organization

ITBL: Infección Tuberculosa Latente

LCR: Líquido Céfal-Raquídeo

LR: Izquierda-Derecha (por sus siglas en inglés Left-Right)

M.africanum: Mycobacterium africanum

M.bovis: Mycobacterium bovis

M.cannetti: Mycobacterium cannetti

M.caprae: Mycobacterium caprae

M.microti: Mycobacterium microti

M. tuberculosis: Mycobacterium tuberculosis

MALT: Tejido linfoide asociado a las mucosas (por sus siglas en inglés Mucosa-associated

MDR-TB: TB Multi-Resistente a los Fármacos (por sus siglas en inglés Multi-Drug Resistant Tuberculosis)

MIP: Maximum Intensity Projection

MOSIMBIO: Discrete Modelling and Simulation of Biological Systems

MPR: Multi-Planar Reformatting, or Multiplanar Reconstruction

MTC: Mycobacterium tuberculosis Complex

OMS: Organización Mundial de la Salud

P: Pirazinamida

PAAF: Punción-Aspiración con Aguja Fina

PACS: Picture Archiving and Communication System

PAS: Ácido ParaAminoSalicílico

PET: Tomografía por Emisión de Positrones

PET-TC: Positron Emission Tomography–Computed Tomography

PPD: Purified Protein Derivative

PT: Prueba de la Tuberculina

R: Rifampicina

RHZ: Isoniacida, Rifampicina y Pirazinamida.

RM: Resonancia Magnética

ROI: Region of Interest

S: Estreptomicina

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Humana Adquirida

SNC: Sistema Nervioso Central

SPF: Specific-pathogen-free

TB: Tuberculosis

TC: Tomografía Computarizada

TCMD: Tomografía Computarizada MultiDetector

TH1: Linfocito T Helper Tipo 1

TNF-*: Factor de necrosis tumoral

UE: Unión Europea

UH: Unidades Houndsfield

UI: Unidades Internacionales

UICC: Unión Internacional Contra el Cáncer

UPC: Universitat Politècnica de Catalunya

UTE: Unitat de Tuberculosi Experimental

V: Valores

VIH: Virus de la Immunodeficiencia Humana

VOI: Volume of Interest

VR: Volume Rendering

WHO: World Health Organization

XDR-TB: Tuberculosis Ultrarresistente

1. INTRODUCCIÓN (ESTADO DEL ARTE)

La tuberculosis (TB) es una infección bacteriana crónica producida por *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). La formación de granulomas es su característica histológica más relevante. Afecta con mayor frecuencia a los pulmones aunque su carácter sistémico hace que pueda localizarse en cualquier órgano. Es una enfermedad todavía muy prevalente a nivel mundial con graves consecuencias sanitarias y económicas. Después del síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA), la TB es la segunda causa mundial de mortalidad de etiología infecciosa.

1.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA

A pesar de que existen teorías que defienden la aparición de la TB más allá de hace trescientos millones de años, el paleontólogo Paul Bartolas en 1907, describió el primer humano infectado a través de los restos de un adulto joven encontrados en un cementerio de Heidelberg que vivió aproximadamente sobre el 5000 a.C (1).

En las representaciones artísticas del Antiguo Egipto y en los escritos de la Grecia clásica existen innumerables referencias de la TB. Galeno describe con precisión los síntomas y signos de esta enfermedad, así como su tratamiento: reposo, dieta abundante y largos viajes por mar (2).

Durante siglos, fue considerada una enfermedad muy virulenta y contagiosa sin un patrón de transmisión definido ni una etiología clara. Así pues, en los siglos XVII y XVIII, seguía siendo una incógnita a pesar del aumento de su incidencia y las ineficaces medidas profilácticas utilizadas.

En plena era del Romanticismo, a mediados del siglo XIX, se desencadenó una alarma social con respecto a los enfermos tuberculosos. Los tísicos eran considerados como apestados contagiosos que provocaban la vergüenza de sus familiares que ocultaban la enfermedad. La idea inicial de que la TB era una enfermedad de ricos, fue desechada con la aparición de estudios estadísticos poblacionales que demostraron que era mucho más frecuente entre los miembros de la clase obrera. Las precarias condiciones de vida de los trabajadores de las fábricas surgidas en la Revolución Industrial promovieron la propagación de la enfermedad que se convirtió en la primera causa de muerte entre 1850 y

1900. La constatación de que la infección presentaba el mismo patrón epidemiológico en todas las ciudades europeas inspiró las primeras políticas de urbanismo destinadas a mejorar las condiciones higiénicas urbanas para evitar su propagación.

1.1.1 Robert Koch

La tarde del 6 de marzo de 1882 el microbiólogo alemán Robert Koch (fig.1), impartió una conferencia en el Instituto de Fisiología de la Universidad de Berlín en la que demostró que había aislado un microorganismo en una muestra de material tuberculoso y su cultivo *in vivo*, así como la producción de la enfermedad cuando inoculó este bacilo a animales de experimentación (cobayas) reproduciendo la enfermedad, de cuyas lesiones pudo extraer de nuevo el germen.



Figura 1. Robert Koch: 1843-1910

El 10 de abril de 1882, Koch publicó en el *Berliner Medizinische Wochenschrift* el artículo cuyo título fue: “*Die Aetiologie der Tuberculose*”

(3). La publicación citada produjo un gran impacto en toda la comunidad científica mundial.

Con posterioridad en otoño del 1890, Koch reportó los resultados provisionales de una investigación sobre una sustancia que inoculada a animales de experimentación los hacía resistentes a la enfermedad. Los resultados del experimento parecían esperanzadores aunque eran provisionales. El gobierno prusiano, promovido por el interés de desbancar en la supremacía de la microbiología de la época a Louis Pasteur, instó a Koch a utilizar dicha sustancia en humanos antes de conocer los resultados definitivos de su investigación. Se decidió promover una investigación para valorar su eficacia incluyendo enfermos de diferentes centros, sin seguir una metodología homogénea y sin grupos controles, en que se incluyeron enfermos con diferentes grados de evolución, y a los que se practicaba una posología totalmente heterogénea (desde 1 a 70 inoculaciones). En este estudio solo se vieron resultados terapéuticos en grupos con tuberculosis incipiente. Lamentablemente hubieron autores que acusaron al producto de provocar tuberculosis diseminada (miliar),

hecho desmentido a posteriori. A partir de entonces el gobierno prusiano forzó a Koch a ser director de su propio Instituto y a ceder la patente al gobierno, que posteriormente licenció a Hoescht. Posteriormente Koch dio a conocer la naturaleza de esta sustancia que era un extracto glicerado de un cultivo puro de bacilos tuberculosos, y la denominó como tuberculina. Si bien siempre se ha relacionado este fracaso de Koch con el fracaso de la tuberculina, lo que es cierto es que posteriormente la tuberculina, y diferentes variantes de cultivos de *M. tuberculosis* se utilizaron masivamente para el control de la enfermedad, hasta el descubrimiento de los quimioterápicos, a finales de los años 40 del siglo XX.

Mejor fortuna tuvo su utilización como test diagnóstico, aprovechando la induración local (una hipersensibilidad retardada) que generaba en el punto de inoculación en aquellos sujetos infectados por el bacilo (4).

1.1.2 La TB después del descubrimiento de Koch

La investigación de la inmunización de la TB se centró en la búsqueda de vacunas con bacilos vivos atenuados de tipo humano o animal (vaca). Calmette en 1919 consiguió un bacilo que no producía la enfermedad al que denominó bacilo de Calmette-Guérin (BCG) que dio el nombre a la vacuna (5).

La primera aplicación de la BCG al ser humano fue en 1921, vacunando a 120 recién nacidos. Tres años después, la vacunación de la TB era oficial en Francia.

En 1889, Brehmer inauguró el primer sanatorio antituberculoso (cura sanatorial de la TB). En 1890, Forlanini ideó la colapsoterapia y Brauer la toracoplastia como formas terapéuticas quirúrgicas. Estas técnicas tenían el objetivo de aislar mediante procedimientos mecánicos la infección pulmonar activa del resto del parénquima pulmonar sano y evitar su fatal diseminación (6).

A mediados del siglo XX, todavía no se había conseguido un tratamiento eficaz. La colapsoterapia y las virtudes atribuidas a los sanatorios antituberculosos no produjeron los efectos terapéuticos deseados.

Una vez conocido el agente etiológico de la TB se realizaron múltiples experimentos *in vivo* e *in vitro* para encontrar su tratamiento y posible erradicación. Pasada la 2ª Guerra Mundial se descubren en paralelo 3 agentes quimioterápicos, con actividad contra el bacilo de la TB: la tiosemicarbazona, el ácido para amino salicílico (PAS) y la estreptomina en la inhibición del crecimiento del bacilo tuberculoso (7,8). Con el tiempo aparecieron

resistencias a la estreptomycin y sus efectos adversos como la toxicidad sobre el nervio auditivo. En 1946 se constató la superioridad de la administración conjunta del PAS y estreptomycin. En 1955, con la aparición de la isoniacida, se dio un paso hacia delante en el control de la TB debido a su eficacia y práctica ausencia de efectos secundarios. La combinación terapéutica de estos tres agentes supuso un avance terapéutico.

Mientras tanto fueron apareciendo otros quimioterápicos y antibióticos hasta la aparición de la rifampicina, descubierta por Piero Sensi en 1965, que todavía sigue siendo uno de los antimicrobianos de primera línea más eficaces.

La combinación de tres fármacos en el tratamiento de la enfermedad tuberculosa disminuyó significativamente la morbi-mortalidad de la TB en la población hasta mediados de los 80, hasta el punto de predecir su erradicación para el año 2000. La aparición del SIDA, la adicción a las drogas por vía parenteral, la inmigración procedente de países en los que la enfermedad es muy prevalente, la creciente pobreza mundial con situaciones de hacinamiento y la disminución progresiva de recursos sanitarios relacionados con las crisis económicas mundiales, han producido una propagación epidémica de la TB en el mundo, con la aparición de cepas resistentes a los medicamentos que condicionará la necesidad de encontrar nuevas líneas de tratamiento.

1.2. ETIOPATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

1.2.1 Etiología

La gran mayoría de los casos de TB están producidos por *M. tuberculosis*, especie de la familia de *Mycobacteriaceae*, orden *Actinomycetales*. El género *Mycobacterium* agrupa a más de 120 especies, la mayoría no patógenas que se conoce como micobacterias no tuberculosas (MNT). Junto con otras especies como el *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. Caprae* y *M. Canetti* forman el complejo *M. tuberculosis* (MTC) (9).

M. bovis es mucho menos frecuente. Se caracteriza por su resistencia uniforme a la pirazinamida, aunque en los últimos años ha sido responsable de una epidemia en España multirresistente asociada a enfermos VIH, pero con transmisión también a pacientes inmunocompetentes. *M. africanum* es una rara causa de TB humana en África.

El *M. tuberculosis* presenta una morfología bacilar característica ligeramente incurvada (fig. 2).

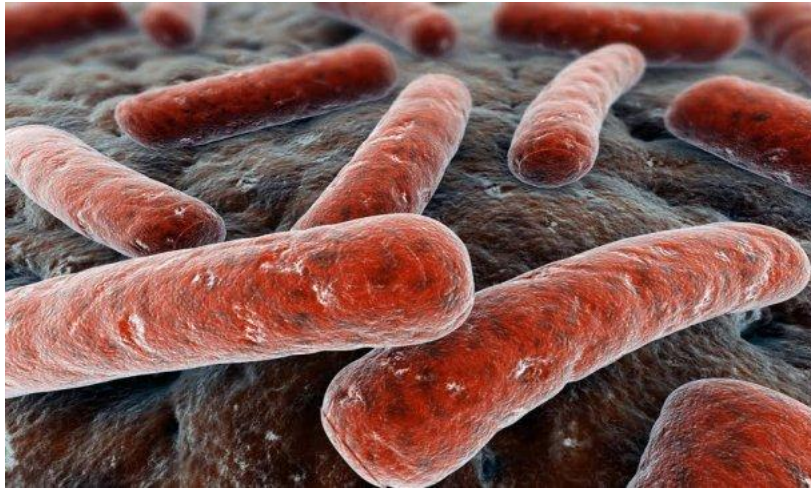


Figura 2. *Mycobacterium tuberculosis*

Las micobacterias son bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR), aerobios estrictos, inmóviles, no esporulados, que son *Gram* (+) aunque la tinción es muy irregular. Se reproducen muy lentamente, son resistentes a los ácidos y álcalis y tienen una gran envoltura de ácidos micólicos, ácidos grasos ramificados, de 60-80 átomos de carbono. Por fuera de la capa de ácidos micólicos existe una serie de fenol glicolípidos y glicolípidos, de entre los que destaca el *cord factor*, importante como veremos para el diagnóstico. Se considera que las características específicas de la pared de este bacilo le otorgan una resistencia a condiciones adversas y le permiten estar en estado latente durante años (10).

Son bacterias intracelulares, capaces de vivir dentro de las células y, más concretamente, de los macrófagos y monocitos, de forma que son capaces de enlentecer su metabolismo de forma indefinida.

1.2.2 Transmisión

La TB se trasmite de persona a persona por vía respiratoria a través de las gotitas de Pflügge que son partículas diminutas expelidas al hablar, toser, estornudar, respirar, que pueden transportar gérmenes infecciosos de un individuo a otro (11). Estas partículas pueden permanecer hasta 30 minutos en el aire en suspensión, lo cual les permite ingresar hasta la vía aérea de pequeño tamaño y sacos alveolares, donde tienen contacto con los macrófagos. Se denomina unidad bacilar a una gota de Pflügge que contiene de uno a tres

bacilos tuberculosos, ésta es suficientemente pequeña (1–5 micras de diámetro) como para evaporarse y permanecer en el aire durante varias horas **(12)**.

Las partículas de mayor tamaño, aunque tengan más bacilos, son menos contagiosas, ya que pueden caer al suelo por la gravedad y, en el caso de ser inhaladas, son más fácilmente expulsadas con la tos o ser eliminadas por el sistema mucociliar del epitelio respiratorio.

La transmisión de la enfermedad depende de cuatro factores **(13-15)**:

1- Las características individuales del enfermo

La capacidad infectiva de un paciente es directamente proporcional a la cantidad de bacilos que expulsa por sus secreciones respiratorias. Este factor viene determinado por la frecuencia de la tos, la diseminación broncogénica y la presencia de lesiones cavitadas. La TB laríngea, cuya incidencia ha aumentado constantemente desde hace 20 años, es especialmente contagiosa.

Los niños infectados rara vez transmiten la enfermedad porque no presentan formas cavitadas pulmonares. A las dos a tres semanas del tratamiento correcto, el esputo se negativiza así como la capacidad de infectar.

2- El ambiente donde se produce la exposición

El hacinamiento es un factor que incrementa el riesgo de contagio. Las medidas destinadas a la ventilación de las habitaciones son muy útiles.

Es muy infrecuente el contagio en el exterior a la luz del día, ya que las micobacterias son sensibles a las radiaciones ultravioletas.

El *M. tuberculosis* no soporta el calor ni la acidez gástrica por lo que es excepcional la infección por vía digestiva.

3- Duración de la exposición

Cuanto más íntimo y duradero es el contacto mayor probabilidad de contagio, por tanto las personas más allegadas al paciente serán las que se infecten con mayor frecuencia. Una inhalación ocasional no determina obligatoriamente una infección, incluso es difícil que ocurra, pues los mecanismos de defensa del aparato respiratorio son capaces de eliminar pequeñas cantidades de micobacterias y esto hace remota la posibilidad de que el bacilo llegue al espacio alveolar.

4- La susceptibilidad individual del receptor

Tradicionalmente se ha observado como la TB se cebaba en determinadas familias, independientemente de la oportunidad de los factores anteriormente mencionados, revelando una cierta susceptibilidad genética en el desarrollo de esta enfermedad. Una susceptibilidad compleja puesto que a pesar del enorme esfuerzo invertido, todavía no se ha podido identificar ningún polimorfismo genético relacionado con un incremento en la posibilidad de generar la enfermedad. Sí que hay factores de comorbilidad, siendo el más claro la coinfección con VIH, o la diabetes mellitus, por poner un ejemplo.

1.2.3 Patogenia

El principal reservorio del *M. tuberculosis* es el ser humano. La respuesta inflamatoria difiere de la respuesta habitual al resto de microorganismos debido a que está modificada por una reacción de hipersensibilidad a componentes del bacilo tuberculoso.

La inmunidad celular tiene un papel relevante en la contención de la infección mientras que el rol de la inmunidad humoral es irrelevante. El deterioro de la inmunidad celular reduce significativamente la resistencia a *M. tuberculosis*.

La infección puede evolucionar a enfermedad rápidamente, al cabo de varios años o nunca. De todos los enfermos infectados sólo el 10% desarrollará la enfermedad en algún momento de su vida, el resto no la sufrirá.

Determinadas patologías médicas incrementan el riesgo de que la infección evolucione a enfermedad pero no todas en la misma medida. Un ejemplo característico es la infección por VIH que aumenta el riesgo de progresión a enfermedad en relación inversa al número de CD4 en fase de SIDA el riesgo aumenta a un 10% anual. Esta mayor incidencia es debida a las alteraciones de la inmunidad celular de estos pacientes. También es necesario destacar la influencia de la TB activa en la progresión de la infección por el VIH.

Otros procesos relacionados con el riesgo de enfermedad son: Diabetes Mellitus, adicción a drogas por vía parenteral, silicosis, tratamiento prolongado con corticoides o inmunosupresores, procesos linfoproliferativos, cáncer de cabeza y cuello, insuficiencia renal crónica, gastrectomía, infección reciente en los últimos dos años y bajo peso corporal.

La edad es un factor asociado al riesgo de progresión a enfermedad. Su incidencia aumenta en los dos primeros años de vida, entre los 15 y 25 años y en la vejez.

Entre el 15 al 20% de los pacientes inmunocompetentes presentan manifestaciones extrapulmonares, producidas por la diseminación hematogena y linfática del bacilo de *M. tuberculosis*.

La linfadenitis tuberculosa es la manifestación extratorácica más frecuente.

La afectación meníngea se produce por vía hematogena. La ruptura de un foco necrótico al espacio subaracnoideo producirá una meningitis.

La presentación musculoesquelética aparece en el 1-13% de los pacientes y la columna se afecta en más del 50% de los casos **(14)**.

El riñón puede afectarse por drenaje de un foco necrótico cortical al sistema colector, con posterior diseminación en las vías urinarias (sistema pielocalicial, uréteres y vejiga).

El concepto clásico de la patogenia de la TB se divide en primoinfección tuberculosa o TB primaria y TB de reactivación o post-primaria. Sin embargo, un estudio relativamente reciente desmiente de manera contundente esta clasificación. En este estudio se valoraba la relación entre el periodo transcurrido entre la infección y la aparición de la TB pulmonar, variables clínicas y demográficas y características radiológicas utilizando técnicas epidemiológicas de biología molecular o convencionales. El estudio demuestra que el único elemento predictor para un patrón radiológico concreto es la integridad de la respuesta inmune del huésped y que no está relacionado con el periodo entre la infección y la aparición de la TB pulmonar **(16)**.

1.2.4 Historia Natural

Cuando los bacilos llegan a los alvéolos comienza la infección en varios estadios. El foco primario suele ser subpleural y localizado en las zonas inferiores de los lóbulos superiores y las superiores de los lóbulos inferiores que corresponden a las zonas mejor ventiladas. Se estima que la cantidad necesaria para iniciar la infección es de 5 a 200 bacilos.

Se desarrolla en el pulmón un proceso inflamatorio inespecífico (alveolitis exudativa) caracterizado por un foco de consolidación periférico que puede estar localizado en la base del lóbulo superior derecho, lóbulo medio derecho y segmento apical del lóbulo inferior

derecho. La lesión primaria puede afectar al campo medio del pulmón izquierdo con mayor frecuencia.

En una primera fase los macrófagos alveolares no activados fagocitan los bacilos, que se multiplican intracelularmente y los destruyen al cabo de 1 semana, debido a la lentitud del crecimiento del bacilo. Los bacilos se diseminan hacia alvéolos vecinos infectando otros macrófagos. Al cabo de una semana el número de macrófagos que son destruidos es suficiente como para generar una producción de quimiocinas para generar un foco inflamatorio importante que atrae monocitos que de nuevo fagocitarán a los bacilos y neutrófilos. Como consecuencia de esta activación se produce una fase de crecimiento logarítmico caracterizada por la acumulación de neutrófilos, monocitos y bacilos intracelulares entre los días 7 y 21 **(17,18)**.

Con la respuesta inflamatoria local se genera un drenaje linfático local que permite la llegada de bacilos a nivel de los ganglios linfáticos, dónde serán fagocitados por células dendríticas que procederán a la presentación de los antígenos a diferentes clones de linfocitos CD4 de tipo Th1 que proliferarán al reconocer los antígenos del bacilo **(19, 20)**.

Los linfocitos CD4 atraídos al foco infeccioso identifican los antígenos presentados por los macrófagos y generan el Interferón-gamma (IFN- γ) que activa a los macrófagos para que destruyan a los bacilos que los infectan y se formen los granulomas característicos de esta infección, como mecanismo de contención.

En el transcurso de dos a cuatro semanas se desarrolla una necrosis en el centro del granuloma (necrosis caseosa). La necrosis tisular y de los macrófagos produce un medio poco favorable al crecimiento de los bacilos.

Una vez la enfermedad está controlada, evolucionará a cicatrización y fibrocalcificación del foco pulmonar y ganglionar (fig. 3).

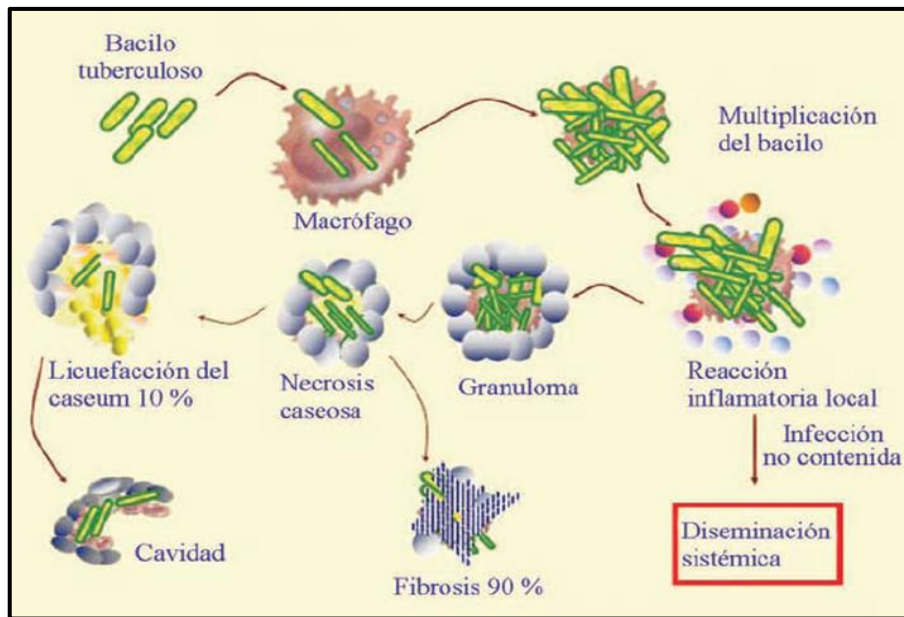


Figura 3. Esquema de la secuencia de la primoinfección tuberculosa

Muy diferente es el curso en individuos inmunodeprimidos, malnutridos o niños que tienen una alteración de su resistencia específica natural y donde no se produce un encapsulamiento eficaz del foco. En estas situaciones se puede producir TB diseminada (miliar o meníngea). En estos pacientes la TB pulmonar tiene una presentación “atípica”, en la que la característica más importante es la presencia de una linfadenopatía muy aparente y una menor afectación de los lóbulos pulmonares superiores y una menor inducción de cavidades pulmonares (16).

Igualmente, los focos pulmonares se pueden propagar y ampliar su extensión a otras áreas pulmonares con diseminación bronquial, produciéndose una bronconeumonía que puede acompañarse de pleuritis por contigüidad.

La neoangiogénesis en las lesiones generadas es la que permite la diseminación extrapulmonar de los bacilos, y pueden transportar la infección a múltiples órganos como el cerebro, aparato genitourinario, médula ósea, glándulas adrenales o el intestino.

1.2.5 TB pulmonar típica

Esta forma, también denominada “del adulto” se caracteriza por generar un infiltrado en los lóbulos superiores que puede acompañarse por su licuefacción y posterior cavitación en más de la mitad de los casos (16). Ello es debido a que el pulmón superior es más susceptible al desarrollo del daño tisular causado por el bacilo. Este hecho parece

explicarse por dos mecanismos, ambos de origen mecánico. Efectivamente, el movimiento respiratorio del pulmón se genera con el desplazamiento del diafragma. Puesto que el pulmón está “fijado” por el ápex, el desplazamiento del parénquima es muy importante en los lóbulos inferior y medio, mientras que es prácticamente nulo en los superiores.

Este menor desplazamiento permite una mayor acumulación local de bacilos en los lóbulos superiores que favorecerían un incremento de la atracción de los neutrófilos.

Ante *M. tuberculosis* los neutrófilos desarrollan *Neutrophilic Extracellular Traps* (NETs), para intentar su destrucción, pero contrariamente lo que hacen es favorecer el crecimiento extracelular del bacilo. Ello produce un incremento importante de las lesiones, y además influye en la inducción de una respuesta inmune de tipo Th17, que perpetúa la atracción de neutrófilos. Con ello se genera un tipo de lesión exudativa, que tiene una capacidad de crecimiento importante, de generar licuefacción (pus) y, con su drenaje la aparición de cavitaciones. Contrariamente, el incremento del drenaje en lóbulos medio e inferior tiende a diseminar mucho más rápidamente a los bacilos, y con ello evitar la entrada de neutrófilos y generar un tipo de lesión controlada basada en la acumulación de macrófagos y linfocitos, primordialmente, que encapsulará. Igualmente, la tensión que sufren los lóbulos superiores, al estar el pulmón “colgado” por su zona, también revierte en una menor capacidad de encapsulación de las lesiones, y por tanto de poder controlar la infección (21).

1.2.6 Infección tuberculosa latente (ITBL)

Diversos autores respaldan que las dos formas principales de presentación de la TB son la enfermedad activa y la ITBL. El Comité del Consejo Médico para la eliminación de la Tuberculosis de Massachussets, EUA, define a la latencia como: un estado asintomático en personas que han sido infectadas con *M. tuberculosis* sin evidencia clínica o radiológica de enfermedad activa (22).

Los pacientes con infección latente no representan un peligro de salud pública ya que no padecen la enfermedad ni pueden ser contagiosos, aunque su riesgo radica en la reactivación de la enfermedad, favorecida por condiciones como el VIH, trastornos metabólicos y estados de inmunodepresión (22).

La latencia es uno de los principales obstáculos para erradicar la TB.

El desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas para diferenciar entre TB activa y latente nos permitiría saber con certeza la población infectada.

Necesitamos conocer con precisión los mecanismos genéticos e inmunológicos que permiten la persistencia de la infección y su posterior reactivación.

1.2.7 Hipótesis dinámica de la reinfección de la ITBL

Esta hipótesis está basada en que la infección producida por el *M. tuberculosis* es un proceso de reinfección endógena constante, contraviniendo a la teoría clásica del foco antiguo de pequeño tamaño latente durante toda la vida reactivado por la inmunodepresión.

La creencia clásica de la inactividad biológica de largo tiempo de evolución es difícil de entender teniendo en cuenta los mecanismos de renovación celular constante observados recientemente en los granulomas.

La idea tradicional de la etiopatogenia de la TB no podría explicar la eficacia del tratamiento a pacientes con ITBL mediante isoniacida durante 6–9 meses, fármaco que sólo es eficaz frente a bacilos en crecimiento activo. Su mecanismo de acción en estos casos sólo puede entenderse si la isoniacida evita el crecimiento constante del bacilo en el parénquima pulmonar.

Con el propósito de dar una respuesta adecuada a estas cuestiones, el grupo de la Unitat de Tuberculosi Experimental (UTE) de la Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, después de la realización de diferentes estudios preliminares en modelos animales, desarrollaron una hipótesis en la que se describe un escenario dinámico en la historia natural de la enfermedad, cuyo fundamento es la reinfección endógena constante (23,24).

Para corroborar esta hipótesis se han desarrollado modelos matemáticos (25,26), estudios sobre la encapsulación de las lesiones y otros puntos de vista sobre el paso de ITBL a TB activa (27).

La hipótesis dinámica de la reinfección de la ITBL se fundamenta del siguiente modo:

En su multiplicación, el bacilo destruye los macrófagos alveolares generándose un tejido extracelular necrótico, que es poco idóneo para el bacilo que deja de crecer y replicarse. Este estado no replicativo le permite ser resistente a los mecanismos bactericidas del macrófago. Transportados por el fluido alveolar dentro de los macrófagos alveolares, los

bacilos alcanzan los campos pulmonares superiores. Estos pueden volver a los alvéolos vía aerosol donde reinfectan a macrófagos inactivos y se genera una nueva infección. Este proceso puede generar diferentes generaciones de granulomas simultáneamente (fig. 4).

Cabe la posibilidad durante este proceso, que un nuevo foco infeccioso se localice en los lóbulos superiores generando lesiones exudativas y formación de cavernas.

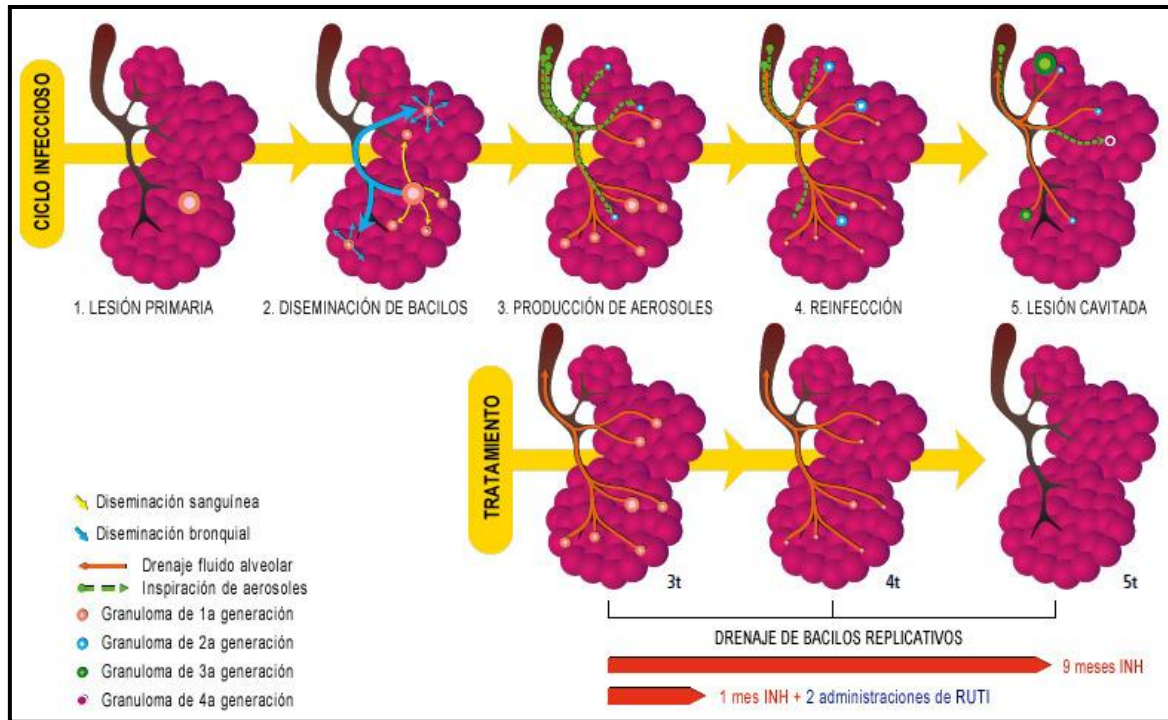


Figura 4. Hipótesis dinámica de la infección tuberculosa: en la infección latente el *M.tuberculosis* no está dormido sino que interacciona repetidamente con el huésped, mediante un proceso de reinfección constante formándose diversas generaciones de granulomas frenadas por el sistema inmunitario. Cuando un nuevo foco infeccioso asienta en los lóbulos superiores donde la respuesta inflamatoria es lenta e intensa, produce destrucción tisular y cavernas, signo histológico patognomónico de actividad de la infección TB.

1.3. EPIDEMIOLOGÍA

1.3.1 TB mundial

Durante el año 2014, 9,6 millones de personas en el mundo contrajeron la TB, que provocó una mortalidad de 1,5 millones de habitantes, de los cuales el 12% eran VIH positivos. El 58% de la población infectada en este período pertenecía a las regiones del Sudeste de Asia y del Pacífico Oeste. La India y la China contabilizan el 23% y 10% respectivamente del total de casos mundiales (28). Globalmente, la prevalencia de la TB mundial en el 2015 fue del 42%, menor que en 1990. El esfuerzo de las instituciones, organismos y gobiernos ha

conseguido un importante progreso en el manejo de esta infección. Entre el año 2000 y 2013, se salvaron 37 millones de vidas debido a las mejoras en el diagnóstico y tratamiento (29).

En el contexto de la TB epidémica el objetivo consiste en un progreso en la prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad con un enfoque global, regional y de cada país o comunidad compartiendo datos epidemiológicos y recursos sanitarios.

En el *Global Tuberculosis Report* del 2015 están incluidos los datos epidemiológicos de la mayoría de países del mundo. Esta información es básica para el conocimiento de la extensión de la enfermedad, así como del impacto global y local de las medidas sanitarias utilizadas, como por ejemplo la proporción de nuevos casos de resistencias múltiples a antimicrobianos, que en el 2013 fue de un 3,5%, similar a años anteriores.

La mortalidad de la TB sin tratamiento es elevada, alrededor del 40% a los 10 años. El 3,5% de los pacientes tratados por primera vez y el 20,5% de los tratados previamente son multirresistentes a los antimicrobianos o *multidrug-resistant tuberculosis* (MDR-TB). Aproximadamente el 9% de enfermos con MDR-TB incrementan su resistencia y son llamados *extensively drug-resistant tuberculosis* (XDR-TB), definida como una resistencia adicional de cómo mínimo a una fluoroquinolona y a un fármaco de segunda línea.

La relación que existe entre la TB y la infección por VIH es un problema de salud mundial muy grave. La intervención más importante para reducir la mortalidad en este grupo de pacientes es la terapia antirretroviral que ha de llegar con mayor facilidad a la población enferma. En el 2013 sólo el 70% de los pacientes VIH positivos con TB recibieron el tratamiento antiviral. La cobertura terapéutica del 100% de estos pacientes ha de ser un objetivo prioritario a corto plazo.

La magnitud de la enfermedad tuberculosa puede ser medida en base a tres parámetros: la incidencia, la prevalencia y la mortalidad (fig. 5).

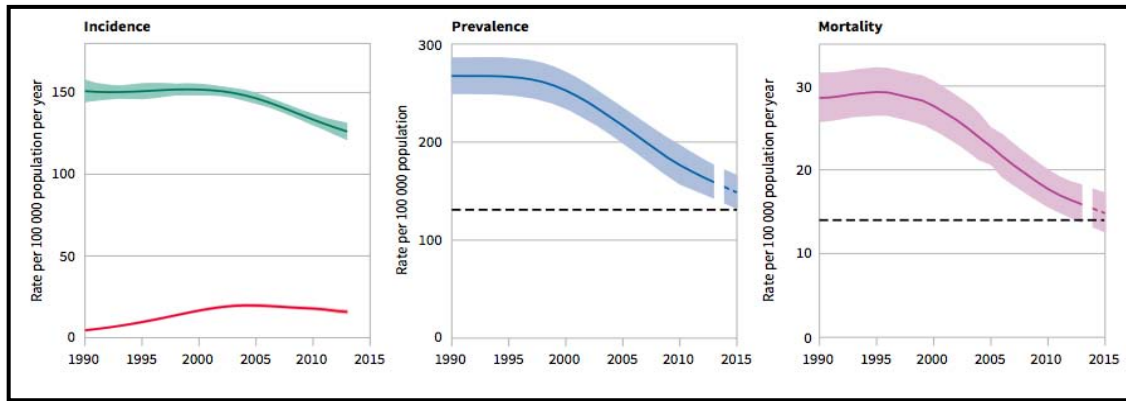


Figura 5. Distribución de la incidencia, prevalencia y mortalidad entre 1990-2015.

Globalmente la tasa de mortalidad estimada comprendida entre los años 1990 y 2013 se ha reducido un 45% (29).

En el 2013 la incidencia de la TB fue de 9 millones de casos (cálculo aproximado entre 8,6 – 9,4 millones estimada). Estas cifras equivalen a 126 casos cada 100.000 habitantes. La mayoría de éstos ocurrieron en Asia (56%) y en África (29%) (fig. 6).

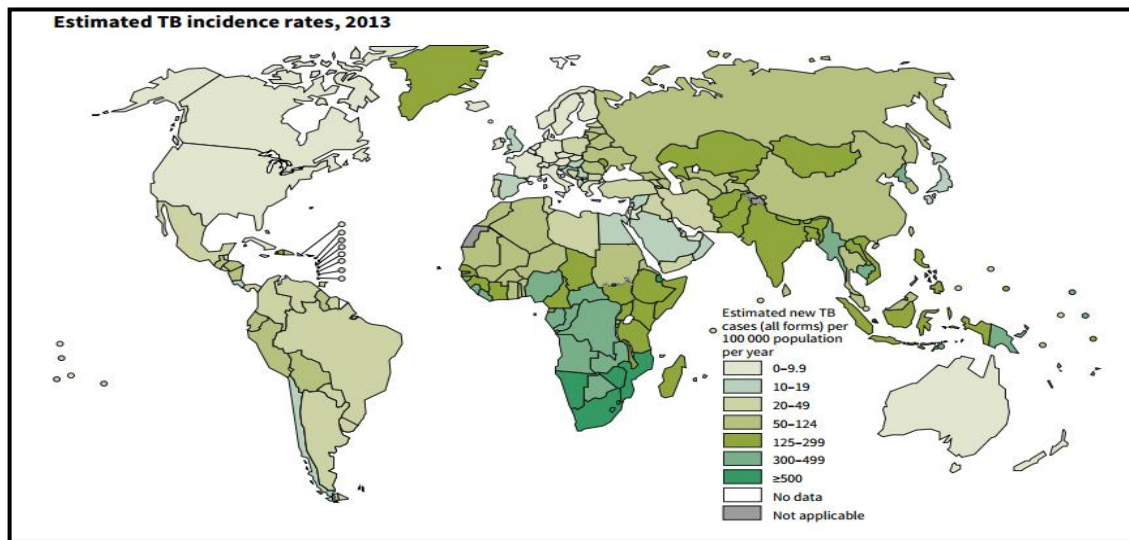


Figura 6. Incidencia mundial de la TB del año 2013.

La prevalencia media estimada en 2013 fue de 11 millones de pacientes (10 – 13 millones), equivalente a 159 casos cada 100.000 habitantes. Desde el año 1990 descendió globalmente un 41%.

La mortalidad estimada durante el 2013 fue de 1,5 millones de pacientes, de los cuales 360.000 corresponden a pacientes infectados conjuntamente con el VIH. La mortalidad

infantil fue de 80.000 casos y entre la población femenina de 510.000 habitantes. Aproximadamente el 78% de estas muertes se produjeron en el continente africano (fig. 7).

Globalmente la mortalidad media de la TB, excluyendo los pacientes coinfectados por el virus del VIH, ha descendido un 45 % desde 1990 hasta el 2013 como refleja la figura 5.

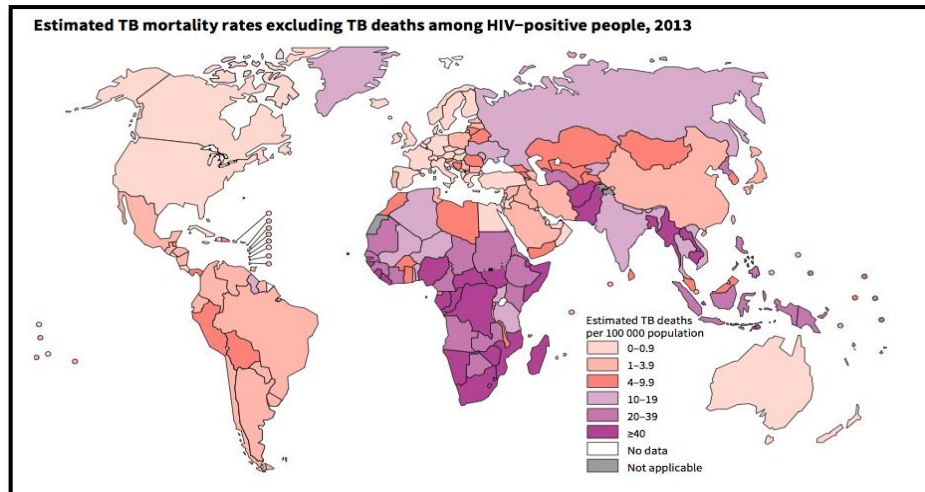


Figura 7. Tasa de mortalidad de la TB en el 2013

1.3.2 TB en España

Desde el año 2004 todas las formas de presentación de la TB son de declaración obligatoria en España. Toda la información recogida se envía anualmente de forma individualizada al sistema conjunto de información de la tuberculosis ECDC-OMS/ Europa (Centro Europeo para la prevención y Control de Enfermedades/ Organización Mundial de la Salud, Oficina Regional Europea).

España es un país considerado de baja incidencia, incluida en aquellos países cuya incidencia es inferior a 20 casos por 100.000 habitantes, según criterios ECDC. Sin embargo, la OMS no considera a España como un país de baja incidencia ya que, a su criterio, un país tiene una baja incidencia de TB si presenta tasas inferiores a 10 casos/100.000 habitantes (30).

Según el informe conjunto ECDC/OMS del año 2012, España es el noveno país de Europa en el ranking de las tasas de notificación de la TB, similar a la tasa media de la Unión Europea (13 casos/100.000) (30). Las tasas de incidencia han ido decreciendo en los últimos años, especialmente en las formas pulmonares y en la meningitis tuberculosa, aunque se observó un mínimo incremento de otras localizaciones (fig. 8).

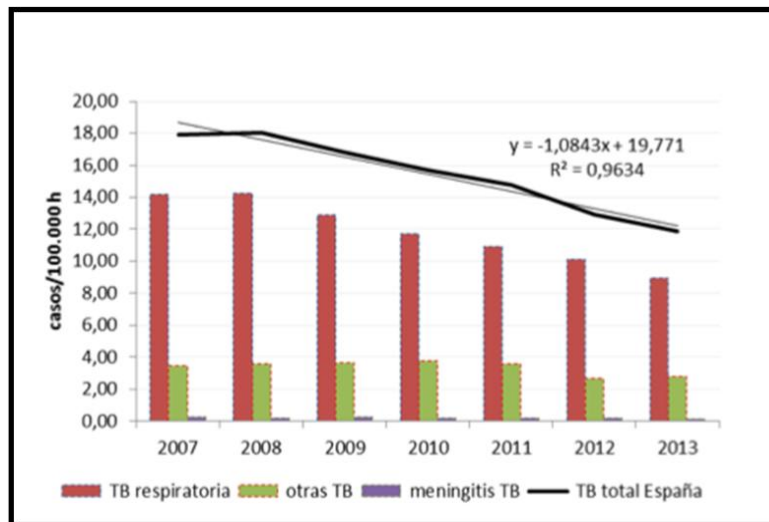


Figura 8. Evolución de las tasas de incidencia de TB en total y por categorías de localización. España, 2007-2013

La incidencia de la TB en España sigue disminuyendo aunque no de forma suficiente para conseguir el objetivo propuesto por la OMS de erradicar la TB en el mundo en 2050.

Los resultados de algunos estudios indican que, a pesar de su descenso en España, la inmigración procedente de áreas endémicas está condicionando el mantenimiento de su incidencia (31). Es importante reseñar que las tasas de incidencia en España no son fidedignas debido a que sólo se registran la mitad de los casos debido a defectos de los programas de control de las Comunidades Autónomas.

La lenta disminución de las formas extrapulmonares está en relación con la dificultad en el diagnóstico y tratamiento así como el aumento de la población inmigrante procedentes de países donde la TB es muy prevalente, donde las formas ganglionares y pleurales son más frecuentes (32).

La TB infantil se mantiene estable con tendencia al descenso pero con oscilaciones. Esto ha producido un ligero empeoramiento de las tasas relativas niños/adultos y en la edad media de los casos. España presenta una tasa de incidencia infantil superior a la media europea. Es probable que esto sea debido a que una parte de estos casos sean hijos de inmigrantes nacidos en España.

No existe un predominio de sexo hasta la edad adulta donde existe un claro predominio masculino debido probablemente al aumento de los factores de riesgo en los hombres adultos (drogodependencias por vía parenteral, VIH, tabaquismo, ámbito laboral, etc).

Con respecto a los resultados positivos tras el tratamiento antituberculoso el porcentaje está por debajo de la media europea. Los niveles de resistencia a los fármacos antituberculosos parece que están dentro de la media de la UE (5% de casos MDR en 2012 y 2% en 2013) muy lejos de algunos países del este de Europa con cifras muy superiores. En España casi la mitad de pacientes con infección por VIH padecen TB a lo largo de su vida.

1.3.3 TB en Cataluña

Durante el año 2014 en Cataluña se registraron 1135 casos, detectados a través del sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) que representan una tasa de 15,1 casos por cada 100.000 habitantes. El 67,5% se concentran en la Región Sanitaria de Barcelona y el 26,6% en la ciudad de Barcelona (33).

En el año 2014, el 46,4% fueron personas recién llegadas en las que la tasa de TB es cuatro veces superior a la de la población autóctona.

El retraso en el diagnóstico de la TB pulmonar y en los enfermos bacilíferos es muy alto, con una mediana de dos meses aproximadamente. Más del 50% de los casos, requirieron ingreso hospitalario con una estancia media de 9 días. Los pacientes coinfectados con el VIH incrementaron sensiblemente este tiempo de hospitalización (16 días).

El año 2014, y por séptimo año consecutivo, se ha conseguido reducir la tasa de incidencia de TB en Cataluña (un 1,9% con respecto al 2013) (fig. 9). Esta reducción sólo se ha producido en los hombres, mientras que en mujeres se ha observado un discreto aumento (33).

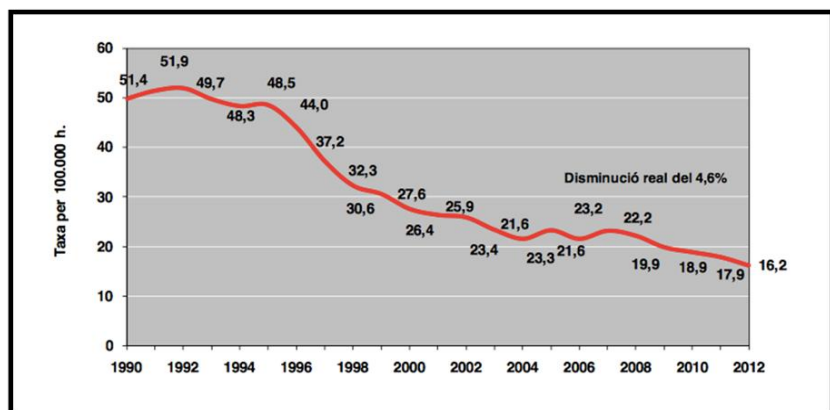


Figura 9. Evolución de la TB en Cataluña. Tasas por 100.000 habitantes (1990-2014)

1.3.4 TB en la ciudad de Barcelona

El informe del 2013 de la *Tuberculosis a Barcelona* dentro del “Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis de Barcelona” realizado por el Àrea de Sanitat, Salut Pública i Medi Ambient del Ayuntamiento de Barcelona refleja los siguientes datos:

En el año 2013 se detectaron 329 casos declarados de TB en Barcelona, con una tasa de incidencia de 20,4 casos/100.000 habitantes, un 4% inferior al 2012 (fig. 10).

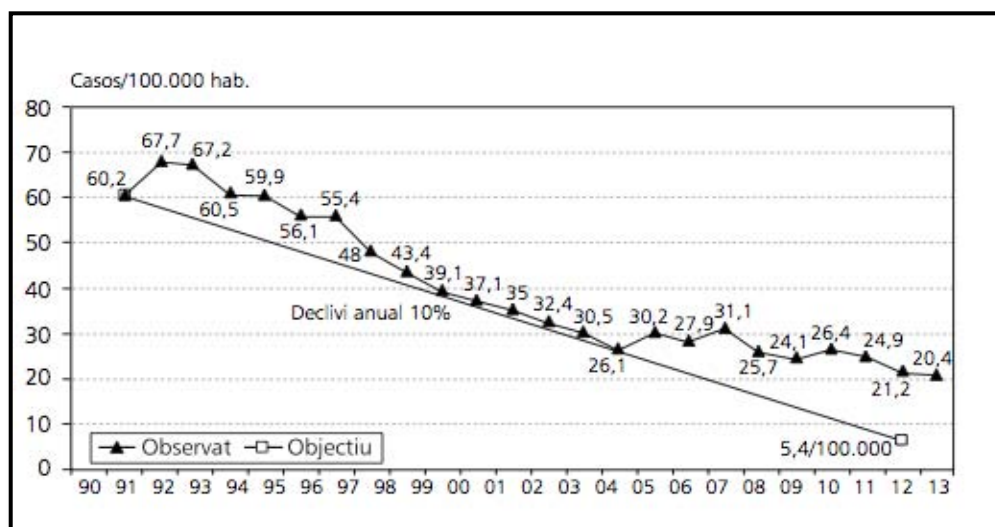


Figura 10. Evolución de la tuberculosis en Barcelona (1990 – 2013)

En la población autóctona la reducción fue del 14% mientras que en los inmigrantes aumentó un 6%. Los casos en la población inmigrante han representado en el 2013, el 58% del total de afectados, la mayoría procedentes de Asia (sobre todo Pakistán) y de América Latina. Este patrón epidemiológico es similar al de muchas ciudades de la Europa occidental. En los países de renta per cápita alta, la TB se presenta en las grandes urbes donde suelen concentrarse las personas en situaciones de riesgo (34).

El distrito de Ciutat Vella de Barcelona es el barrio donde se registra la incidencia más elevada de la TB. Las deficientes condiciones sociales, económicas y demográficas contribuyen a la expansión de la enfermedad (35). La incidencia de TB en Ciutat Vella el año 2013 aumentó un 23% respecto al 2012. Sigue observándose un aumento de las formas extrapulmonares y de las lesiones cavitadas pulmonares. En las formas pulmonares el retraso diagnóstico fue de 41 días, superior al año anterior (35).

1.3.5 Costes económicos que genera la TB

Se considera que se necesitan 8 billones de dólares americanos (US\$) para dar una respuesta adecuada a la TB epidémica global: dos tercios para la detección y el tratamiento; 20% para tratamiento de pacientes MDR-TB; 10% para las pruebas de laboratorio y el 5% restante para actividades de colaboración TB/VIH.

Los datos aportados por WHO (*World Health Organization*) de 123 países que reportan el 95% del total de los casos de TB, notificaron que durante el año 2015 se dedicaron 6,6 billones de US\$ en la prevención, diagnóstico y tratamiento de la TB. Estas inversiones se han visto superadas respecto al año 2014 (6,3 billones de US\$), doblando la inversión realizada en el 2006 (fig. 11).

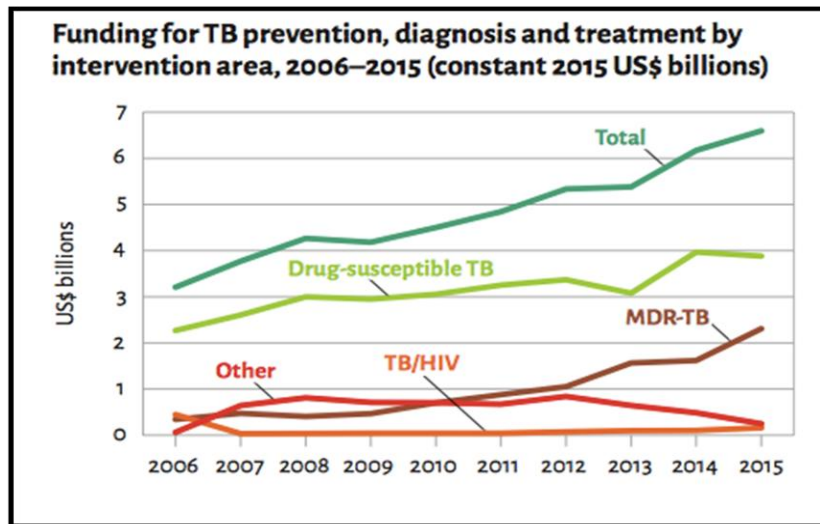


Figura 11. Datos según Global TB report 2015. Costes relacionados con la prevención, diagnóstico y tratamiento de la TB mundial 2006-2015

La aportación económica total de estos países genera un desfase de casi dos billones de US\$ con respecto a los 8 billones que eran necesarios para dar una respuesta adecuada y global a la TB.

En estas cifras no se incluyen los recursos económicos que deberían ser destinados para la investigación y desarrollo de métodos de diagnóstico, nuevas líneas de tratamiento y vacunas que corresponden aproximadamente a 2 billones de US\$.

El coste medio por paciente infectado por el *M. tuberculosis* oscila entre 516 y 558 US\$ (28).

De lo dicho anteriormente se deduce que es imprescindible encontrar recursos financieros para luchar con garantías contra la enfermedad tuberculosa con la implicación de todas las partes involucradas.

En España existen pocos estudios cuyo objetivo sea la evaluación de los costes que genera la TB.

Montes-Santiago y cols., realizaron un análisis comparativo de los costes hospitalarios y globales de las altas por TB del Sistema Nacional de Salud entre los años 1999 y 2006. El

resultado de este trabajo señala que los costes absolutos y el porcentaje del gasto por hospitalizaciones debidas a la TB respecto al gasto total en Atención Especializada se redujeron significativamente (del 0,21 al 0,10%) así como el porcentaje de gastos totales de los pacientes hospitalizados por TB con respecto al gasto sanitario público total (del 0,15% al 0,07%). Los autores concluyen que, a pesar del descenso de los costes derivados de la enfermedad, ésta continua representando una carga económica y sanitaria en nuestro país (36).

Existen algunos estudios económicos que han evaluado los costes directos e indirectos que genera la TB en diferentes países. En la Unión Europea, ocasiona un gasto sanitario anual muy importante. Por este motivo las organizaciones sanitarias europeas se están planteando invertir más de 560 millones de euros en la investigación y desarrollo de nuevas vacunas con el objetivo de erradicar la TB (37). El descubrimiento y desarrollo de vacunas eficaces sigue siendo el reto de mayor importancia para reducir la incidencia, la morbi-mortalidad y los costes generados por la TB en el planeta.

1.4 CLÍNICA

La Sociedad Americana de Enfermedades del Tórax clasifica la clínica de la TB basándose en su patogenia (tabla 1).

CLASE 0	No expuesto, no infectado PDD-
CLASE 1	Expuesto, sin evidencia de infección PPD -
CLASE 2	Infección latente, no enfermo PPD+ Clínica, Rx y bacteriología negativos
CLASE 3	Tuberculosis clínicamente activa PPD+ Cultivos o clínica o Rx evidente
CLASE 4	Tuberculosis clínicamente no activa Rx anormal estable PPD+ Cultivos negativos. No clínica
CLASE 5	Sospecha de Tuberculosis NO DEBE ESTAR EN ESTA FASE MÁS DE TRES MESES

Tabla 1: Clasificación de la clínica de la TB según la Sociedad Americana de Enfermedades del Tórax

La clínica puede variar de intensidad desde cuadros donde es muy llamativa hasta otros en los que apenas es evidente, pudiendo pasar en muchas ocasiones inadvertida.

La TB es una enfermedad cuyas manifestaciones clínicas no permiten diferenciarla de otras entidades patológicas. El inicio de la clínica es insidioso y variable, dependiendo de la virulencia del germen, la edad, el órgano afectado y el estado inmunitario del paciente.

Pueden haber manifestaciones clínicas sistémicas, pulmonares o derivadas de la afectación extratorácica.

En los pacientes infectados por el VIH y con inmunodepresión grave las formas de presentación varían con respecto al resto de afectados. En estos casos la sintomatología de orden sistémico predomina con respecto a las manifestaciones clínicas locales.

Los síntomas sistémicos más frecuentes son: fiebre de predominio vespertino, pérdida de peso, astenia, sudoración nocturna y anorexia. Infrecuentemente la enfermedad puede debutar como un cuadro pseudogripal con fiebre aguda y escalofríos.

La afectación tuberculosa puede dividirse en: Tuberculosis pulmonar o extrapulmonar.

1.4.1 TB pulmonar

No existe una relación directa entre la extensión de la afectación pulmonar y la clínica. El 5% de los adultos están asintomáticos. La primoinfección suele ser subclínica o con síntomas inespecíficos sin relevancia clínica.

El síntoma más frecuente es la tos que puede ser seca o productiva.

El dolor torácico presente es de características pleuríticas.

La hemoptisis es indicativa de enfermedad avanzada y en ocasiones puede ser amenazante. Las hemoptisis producidas por erosiones de la arteria pulmonar (Aneurismas de Rasmussen) relacionadas con cavernas tuberculosas son extremadamente raras en la actualidad. Sin embargo, es más frecuente que la colonización por aspergillus o aspergiloma de una caverna tuberculosa de larga evolución produzca un sangrado.

La disnea aparece cuando la enfermedad está muy extendida y rara vez en la TB miliar.

La llamada neumonía tuberculosa es una forma de presentación rara similar semiológicamente a una neumonía bacteriana.

1.4.2 TB extrapulmonar

Existen muchas formas de TB extrapulmonar, ya que es una enfermedad que puede afectar prácticamente todos los órganos: laringe, sistema nervioso central, aparato génito-urinario, sistema osteo-articular, aparato digestivo y serosas. La TB miliar es una forma de diseminación hematógica que puede ser aguda, críptica o reactiva. Los enfermos VIH positivos presentan más TB pulmonar. A continuación se presentan algunas de las formas más frecuentes de TB extrapulmonar.

Linfadenitis tuberculosa

Es la forma más frecuente de TB extrapulmonar. Puede afectarse cualquier ganglio linfático del organismo.

La afectación adenopática suele ser indolora y bien delimitada. Con frecuencia es unilateral con predilección en la región cervical, sobre todo, en los ganglios del borde superior del músculo esternocleidomastoideo. En ocasiones pueden tener una evolución tórpida con la presencia de supuración crónica y fistulas (38).

Los niños con frecuencia presentan una infección primaria relacionada, pero en adultos no se observan signos de enfermedad extrapulmonar ni sintomatología general. Si hay síntomas sistémicos asociados debe descartarse infección por VIH o inmunodeficiencia grave.

En adultos la linfadenitis granulomatosa es producida mayoritariamente por el *M. tuberculosis*; en niños menores de cinco años, las micobacterias no tuberculosas son más frecuentes.

Las adenopatías hiliares y/o mediastínicas son más frecuentes en la primoinfección de los niños. En enfermos con VIH predomina la afectación adenopática hilar y mediastínica.

TB pleural

Suele ser unilateral. Puede debutar como una pleuritis aguda con fiebre alta y dolor torácico, pero su forma de presentación más frecuente es con dolor torácico inespecífico, febrícula, tos seca y síndrome tóxico. En ocasiones es asintomática.

La elevación de los niveles de adenosin deaminasa (ADA) en el líquido pleural tiene su utilidad diagnóstica. Cifras superiores de 40 UI tienen una sensibilidad y especificidad

muy altas. La baciloscopia y el cultivo raramente son positivos. La biopsia pleural puede evidenciar granulomas en el 75% de las ocasiones.

1.5 DIAGNÓSTICO

El retraso del diagnóstico de la TB supone un problema sanitario muy importante que produce un impacto negativo sobre nuestros sistemas de salud.

En nuestro medio se dice que, en pacientes hospitalizados, en 2 de cada 3 en los que se confirma este diagnóstico, no se sospechaba al ingreso (39).

El paciente infectado no necesariamente desarrolla la enfermedad, sólo en un 10% de los casos. De esto se deduce que una gran parte de la población mundial queda en forma de infección latente, es decir, que existe infección sin enfermedad ni poder de contagio.

El cuadro clínico inicial puede ser poco expresivo y durar meses. En este intervalo de tiempo, el enfermo es capaz de transmitir la infección de 10 a 15 personas hasta que es diagnosticado y tratado. Por estos motivos, es importante conocer la historia natural de la enfermedad y sus síntomas para realizar el diagnóstico precozmente y evitar la dispersión de la enfermedad (40).

El diagnóstico de TB se basa en la clínica, prueba de la tuberculina, bacteriología y exploraciones de diagnóstico por la imagen. La bacteriología proporciona la confirmación diagnóstica mediante el aislamiento, identificación y la sensibilidad de la cepa aislada. En ocasiones, una elevada sospecha clínico-radiológica y epidemiológica, en ausencia de confirmación bacteriológica, permite el diagnóstico.

1.5.1 Prueba de la tuberculina (PT)

Se basa en una reacción de hipersensibilidad retardada frente a un grupo de antígenos del bacilo, obteniéndose a partir de un derivado proteico purificado (PPD). Muchos de estos antígenos son comunes a *M. tuberculosis*, *M. bovis* y numerosas micobacterias no tuberculosas. Por este motivo esta prueba tiene una baja sensibilidad en pacientes vacunados con BCG o expuestos a micobacterias no tuberculosas. Su sensibilidad puede también ser baja en pacientes con formas graves tuberculosas, pacientes inmunodeprimidos y malnutridos.

Se realizará lo antes posible y debe repetirse a las 8 – 12 semanas si la primera ha sido negativa. No se administrará en aquellos pacientes en los que la prueba fue positiva previamente (41).

La PT debe realizarse mediante la técnica de Mantoux en la que el PPD se inyecta en la dermis de la cara anterior del antebrazo con 2 unidades internacionales (UI) de tuberculina PPD RT-23 con Tween-80 (o un bioequivalente contrastado).

La lectura se hace a las 48 y 72 horas de la inoculación y se mide el diámetro de la induración (no el eritema). Siempre debe registrarse en milímetros. Si no existe induración alguna el resultado será de 0 milímetros. La realización y lectura de la prueba debe realizarlo personal experto para evitar falsos negativos.

La PT positiva no es sinónimo de enfermedad tuberculosa, indica que el bacilo tuberculoso ha infectado aquella persona y ha generado una respuesta inmune. Se considera una PT positiva cuando la induración medida es igual o mayor de 5 mm. En pacientes vacunados con BCG se considera positiva una induración mayor a 14 mm. Induraciones de 5- 14 mm en pacientes vacunados con BCG pueden tener origen vacunal y deben ser valoradas individualmente (41).

En determinadas situaciones la respuesta de la hipersensibilidad retardada puede estar disminuida e incluso desaparecer (anergia tuberculínica) dando falsos negativos. Entre el 10 y 25 % de los enfermos de TB tienen un Mantoux negativo. Esta anergia puede observarse en: infección por VIH, tratamiento con corticoides e inmunosupresores, sarcoidosis, TB pulmonar grave, TB miliar, vacunación con virus vivo, linfomas, ancianos y recién nacidos.

Efecto booster: se produce en los vacunados con BCG, infectados por micobacterias no tuberculosas y en las infecciones antiguas. Todos ellos, cuando se les practica una PT, reaccionan por debajo del dintel de positividad y se consideran negativos. Sin embargo, la tuberculina ejerce un estímulo o efecto empuje con la estimulación de la memoria inmunológica por lo que al practicar una segunda prueba, pasados unos 7 días desde la primera, la reacción es positiva y el individuo puede ser catalogado erróneamente como positivo (conversión tuberculínica) por infección reciente (42,43).

La realización de la PT en caso de sospecha de TB tiene interés para conocer la existencia de contacto previo con *M. tuberculosis*. Su negatividad no excluye enfermedad tuberculosa

y su positividad no indica actividad alguna. En niños una PT positiva puede ser de gran ayuda en el diagnóstico de TB ya que, en un contexto clínico adecuado, una PT positiva hace muy probable el diagnóstico de TB.

En la tabla 2 se especifican las indicaciones generales de la PT (43):

INDICACIONES DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA
1. Pacientes con sospecha clínica y /o radiológica de tuberculosis.
2. Contactos con pacientes tuberculosos.
3. Grupos de riesgo: VIH+, drogadictos vía parenteral, diabetes, silicosis, neoplasias, insuficiencia renal, inmunodeprimidos, tratamientos con anticuerpos monoclonales, alcohólicos.
4. Personal sanitario, maestros, personal de guarderías y albergues, reclusos y programas de toxicomanías. Centros de prevención y control de la tuberculosis. Mutuas laborales.
5. Estudios epidemiológicos y control de programas antituberculosos.

Tabla 2: Indicaciones de la prueba de la tuberculina

1.5.2 Técnicas *in vitro* de interferón-gamma (IFN- γ): IGRAs

Se basan en la detección del IFN- γ liberado como respuesta a la estimulación *in vitro* de células T sensibilizadas con antígenos específicos de *M. tuberculosis*. Permiten discriminar los pacientes infectados por la TB de los que han recibido vacuna antituberculosa y de los expuestos a otras micobacterias. Pueden repetirse inmediatamente sin que se vean afectadas por el efecto *booster*.

Esta prueba presenta algunas ventajas con respecto a la PT: se realiza en un laboratorio respetando la privacidad del paciente, fácil estandarización, evita la subjetividad y rápida obtención de resultados. El mayor inconveniente es su coste elevado. No puede diferenciar entre ITBL y enfermedad TB.

Se necesitan más estudios para determinar su eficiencia en el diagnóstico de la TB (41-44).

1.5.3 Diagnóstico clínico

La infección por el bacilo produce una inmunidad celular que puede ponerse en evidencia a través de la reacción de hipersensibilidad causada por la inoculación intradérmica de PPD (PT) ya comentadas en capítulos anteriores.

Se estima que un 5% de pacientes desarrollan la enfermedad durante los primeros 2 años posteriores a la infección, con manifestaciones clínicas inespecíficas difíciles de catalogar dentro del contexto de la infección tuberculosa, a no ser que existan datos epidemiológicos que corroboren esta hipótesis.

En ocasiones la hipersensibilidad inicial puede manifestarse en eritema nodoso en la cara anterior de las piernas o como queratoconjuntivitis flictenular.

El complejo de Ghon es la combinación del foco primario pulmonar con ganglios hiliares y/o mediastínicos. La afectación adenopática citada puede comprimir estructuras mediastínicas y producir sintomatología por compresión extrínseca. Típicamente se observa en población pediátrica o VIH+.

La sintomatología en la primoinfección es irrelevante con síntomas constitucionales (astenia, pérdida de peso, fiebre y sudoración nocturna) y respiratorios donde la tos es el síntoma más común con ocasional expectoración hemoptoica. La disnea se produce cuando la infección produce una importante destrucción del parénquima pulmonar y el dolor torácico suele aparecer cuando hay una afectación pleural concomitante.

Se estima que un 10% de las personas infectadas desarrollarán la enfermedad en el transcurso de su vida.

En nuestro medio debería prestarse atención preferente a aquellos pacientes con tos prolongada de más de tres semanas refractaria al tratamiento convencional, acompañada de síntomas pulmonares y sistémicos.

Ante la sospecha clínica de TB deben ponerse en marcha todos los métodos disponibles para su diagnóstico (PT, radiología y bacteriología). Puede simular otras entidades nosológicas y debe contemplarse en el diagnóstico diferencial en muchos escenarios clínicos.

En el hemograma puede observarse anemia cuando la enfermedad es de larga evolución. La cifra de leucocitos puede ser normal o ligeramente elevada con linfocitosis. Las

alteraciones hematológicas graves (leucopenia, trombopenia, reacciones leucemoides...) acompañan a la TB miliar.

En la analítica puede existir hipoalbuminemia, hipocloremia e hiponatremia (síndrome de secreción inadecuada de ADH por afectación meníngea).

1.5.4 La TB en niños

La TB en la población pediátrica tiene algunas diferencias remarcables con respecto al adulto. La mayoría de niños, al igual que en los adultos, no presentarán la enfermedad después de infectarse. De todas formas si la infección se produce durante los dos primeros años de vida la progresión a enfermedad aumenta hasta un 50% con un predominio de formas extrapulmonares. El riesgo es menor en niños con edades comprendidas entre los 5 y 10 años que pueden permanecer asintomáticos a pesar de presentar alteraciones en la radiografía de tórax (45). A pesar de todo, la TB en la infancia no suele ser contagiosa.

Los síntomas más frecuentes son fiebre, tos, disnea, anorexia y falta de desarrollo.

La PT se considera positiva cuando la induración es igual o superior a 5 mm en niños con riesgo alto de padecer la infección. Una induración igual o superior a 10 mm en pacientes de menor riesgo es considerada como prueba positiva. La PT sigue siendo la prueba más utilizada para el diagnóstico de la TB, ya que las nuevas técnicas diagnósticas todavía no están suficientemente homologadas (46).

Dada la enorme dificultad para conseguir resultados bacteriológicos que confirmen la TB primaria en el niño, en las áreas geográficas de baja incidencia el diagnóstico se fundamenta en una PT positiva y una radiografía de tórax con hallazgos sugestivos.

1.5.5 Microbiología

Es el único método, junto a las técnicas de biología molecular, que confirma la TB activa y debe realizarse, siempre que sea posible, cuando exista sospecha clínica. El objetivo de las técnicas de laboratorio microbiológicas es aislar, identificar el microorganismo causante y realizar pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (44).

Deben recogerse tres muestras de esputo, especialmente por la mañana y antes del tratamiento si es posible.

Si el paciente no expectora espontáneamente puede recurrirse al esputo inducido mediante una inhalación de aerosol con suero fisiológico. El aspirado gástrico puede ser una alternativa especialmente en niños.

La fibrobroncoscopia puede usarse en aquellos casos de imposibilidad de obtener una muestra adecuada, mediante el lavado broncoalveolar, cepillado y biopsia transbronquial.

Pueden ser también útiles para el diagnóstico microbiológico muestras orgánicas de orina, LCR, líquido pleural, aspirado ganglionar, pus, sangre y el material obtenido con punciones percutáneas guiadas mediante métodos de diagnóstico por la imagen.

Examen microscópico - baciloscopia directa:

El diagnóstico rápido se hace con el examen directo o baciloscopia realizada mediante la técnica de fluorocrómica de Auramina que es más sensible que la de Ziehl-Neelsen. Estas técnicas de tinción se basan en la naturaleza ácido-alcohol resistentes (BAAR) de las micobacterias, debido a su envoltura lipídica que impide la acción decolorante alcohol-ácido. La sensibilidad de esta prueba depende significativamente de la experiencia de quien la elabora y varía entre un 60 y 75% para las muestras respiratorias. Esta baja sensibilidad contrasta con su elevada especificidad, por lo que una baciloscopia positiva confirma la infección tuberculosa en el 95% de los casos y es indicación de tratamiento inmediato (44).

Métodos de cultivo de las micobacterias:

Es el único método que puede asegurar la existencia del *M. tuberculosis* si se acompaña de identificación y el único que es completamente válido para evaluar el seguimiento del paciente y garantizar su curación. A partir del cultivo se obtiene la identificación del germen y su sensibilidad a diferentes antimicrobianos.

El cultivo de las muestras se realiza en medios especiales (Lowenstein-Jensen, Coletsos o similares). En estos medios habituales el aislamiento del microorganismo puede tardar de 2 a 8 semanas (44).

En toda muestra se lleva a cabo la tipificación de la cepa aislada con identificación fenotípica tradicional y sondas de ácidos nucleicos que permiten identificar si pertenecen al complejo tuberculosis.

En estos últimos años se han desarrollado algunos métodos alternativos para el diagnóstico de la TB mediante técnicas bioquímicas, inmunocromatográficas, moleculares, serológicas, de detección de antígeno y de amplificación genética que aportan un valor añadido a los métodos tradicionales (47).

1.5.6 Diagnóstico anatomopatológico

El hallazgo histológico característico de la TB es el granuloma necrosante o caseificante con células de Langhans en las muestras de tejido de los órganos afectados. En las formas extrapulmonares es el modo habitual para diagnosticar la TB (44).

En la TB miliar la biopsia hepática tiene mayor rendimiento que la biopsia de la médula ósea y la biopsia transbronquial.

La biopsia de ganglios linfáticos y serosas también tiene un alto rendimiento diagnóstico.

Los tuberculomas son tumores bien circunscritos que corresponden a focos de tuberculosis en los que existe un equilibrio entre actividad y reparación. Pueden ser múltiples y crecer muy lentamente. Pueden tener calcificaciones centrales, laminares o puntiformes en su interior. No cavitan. Por su morfología y captación de FDG en el PET-TC pueden confundirse con procesos neoplásicos.

1.5.7 Diagnóstico bioquímico

La determinación de la enzima adenosina deaminasa (ADA) en líquido pleural, peritoneal y cefalorraquídeo puede ayudar al diagnóstico.

Cifras de ADA en líquido pleural mayores de 40 UI tienen una sensibilidad y especificidad muy altas, mejoradas cuando el cociente ADA1/ADA total es menor de 0,42.

En el líquido peritoneal el ADA presenta una sensibilidad del 86% y una especificidad del 100%.

Niveles elevados de ADA en el LCR permiten diferenciar a la TB del resto de meningitis infecciosas (virus y bacterias). Sin embargo la neurosarcoidosis y la infiltración meníngea por linfoma también presentan niveles elevados de ADA en el LCR.

1.6 TRATAMIENTO

La TB dejada a su libre evolución tiene una altísima morbi-mortalidad (mortalidad del 50% a los cinco años). La curación es total si se aplica el tratamiento adecuado.

El tratamiento de la enfermedad tuberculosa tiene las siguientes premisas fundamentales:

- 1- Para prevenir las resistencias es preciso asociar varios fármacos.
- 2- Ha de ser prolongado para evitar las recaídas.
- 3- El incumplimiento o abandono del tratamiento favorece la aparición de resistencias.

Los fármacos para el tratamiento de la TB se clasifican en función de su eficacia, potencia y efectos tóxicos en: fármacos de primera línea (de elección para el tratamiento en casos iniciales) y de segunda línea.

Fármacos de primera línea:

- Bactericidas: isoniacida (H), rifampicina (R), pirazinamida (P) y estreptomina (S)
- Bacteriostáticos: etambutol (E)

Fármacos de segunda línea:

Menos activos y con más efectos secundarios. Se usan para formas de TB resistentes a los de primera línea o en situaciones clínicas especiales

- Protionamida, etionamida, capreomicina, kanamicina, amikacina, ácido paraaminosalicílico (PAS), cicloserina, rifabutina, claritromicina, rifapentina, ofloxacino, ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino.

La quimioprofilaxis se basa en la administración de medicación para prevenir el riesgo de desarrollar TB en personas con PT negativa que han estado en contacto con un enfermo bacilífero (profilaxis primaria), o para evitar que un individuo con ITBL desarrolle la enfermedad (profilaxis secundaria).

La isoniacida es el fármaco de elección para realizar la quimioprofilaxis.

Se administra vía oral en ayunas en una única dosis diaria. Puede ser:

- Continua (todos los días) a dosis de 5 mg/Kg/día en adultos, sin sobrepasar los 300 mg/día, y 10 mg/Kg/día en los niños, con dosis máxima de 300 mg.

- Dos veces por semana en los tratamientos supervisados: 15mg/Kg en adultos. Dosis máxima 900 mg.

En personas con más de 35 años sin ningún factor de riesgo no estaría indicada la profilaxis. Ello se debe a que el riesgo de hepatitis asociada a la isoniacida, que varía según la edad, sobrepasando su efecto protector sobre el desarrollo de la enfermedad. Aproximadamente, la mitad de los casos de hepatitis asociada a la isoniacida aparecen en los dos primeros meses de tratamiento.

Las indicaciones de la quimioprofilaxis están reflejadas en la tabla 3.

INDICACIONES DE LA QUIMIOPROFILAXIS
Primaria (PPD-): Contacto íntimo con paciente bacilífero
Contactos de riesgo: Tratamiento con corticoides o inmunosupresores, diabetes, IRC, neoplasias de cabeza y cuello, uso de drogas vía parenteral
Niños menores de cinco años
Pacientes con infección por el VIH
Conversores de la prueba de la tuberculina
Personas con silicosis
Pacientes con exploración radiológica sospechosa de lesión residual atribuible a la TB (descartada enfermedad activa)
Pacientes en lista de espera de trasplante

Tabla 3 : Indicaciones de la quimioprofilaxis para evitar el desarrollo de la TB

En España la tasa de resistencias primarias a isoniacida está por debajo del 5%, por lo que se recomienda, de entrada, un esquema de tratamiento de seis meses de duración, los dos primeros meses con tres o cuatro fármacos (fase de inducción) y posteriormente 4 meses más con dos fármacos (fase de consolidación). En la fase de inducción usamos una asociación de fármacos con acción bactericida, eliminando rápidamente un gran número de bacilos de multiplicación rápida. En la fase de consolidación se usan fármacos con poder esterilizante para eliminar los bacilos de crecimiento lento e intermitente.

La pauta de tratamiento recomendada en nuestro país para casos iniciales consiste en la asociación de isoniacida, rifampicina y pirazinamida durante los dos primeros meses (2RHZ) y posteriormente continuar con isoniacida y rifampicina durante cuatro meses más (4RH) hasta completar los seis meses de tratamiento. Esta pauta de tratamiento de seis meses tiene alto poder bactericida y esterilizante, presenta escaso número de recidivas (inferior al 1-2%), tiene pocos efectos secundarios y es más económica que el régimen estándar de 9 meses. Las dosis de los quimioterápicos utilizados deberán ser ajustadas para el peso del paciente, se administraran diariamente, de una sola vez, por la mañana y en ayunas. Habrá que tener en cuenta las frecuentes interacciones de los fármacos antituberculosos con otros fármacos.

La existencia de resistencias a los quimioterápicos de primera línea obligará también a modificar la pauta de tratamiento. Existen dos tipos de resistencias a los fármacos antituberculosos:

- Resistencia primaria: es aquella que presentan los pacientes que nunca han recibido tratamiento previo.
- Resistencia secundaria: se adquiere por la utilización inadecuada de los fármacos antituberculosos.

Antes de iniciar el tratamiento debemos clasificar al paciente dentro de alguna de las siguientes situaciones:

1. Caso inicial: nunca ha recibido tratamiento o lo ha realizado de forma correcta durante menos de un mes. Tratamiento con pauta estándar.

2. Abandono: interrupción del tratamiento por un período superior a siete días en la fase de inducción, o un mes en la fase de consolidación. En caso de abandono se deben realizar nuevos cultivos: si son positivos, se debe reiniciar el tratamiento con la misma pauta; si son negativos, se debe acabar el tratamiento anterior; si ha pasado más de un año desde el abandono del tratamiento y los cultivos son negativos, se debe realizar seguimiento bacteriológico durante un año más, sin tratamiento, reiniciándolo si algún cultivo es positivo.

3. Recaída: Aparecen dos o más cultivos positivos consecutivos en un paciente que había completado el esquema terapéutico establecido y dado de alta por curación en los dos años posteriores al inicio de la terapia. Cuando el paciente ha realizado correctamente el tratamiento no suele haber resistencias y puede reinstaurarse la misma pauta de tratamiento

previa con una duración más prolongada (9-12 meses).

4. Fracaso terapéutico: cultivos positivos hasta el cuarto mes sin descenso significativo del número de colonias, o bien cuando aparecen dos cultivos positivos, tras dos cultivos negativos consecutivos, con número creciente de colonias. Supone resistencia a los fármacos empleados. Realizaremos retratamiento que se realizará con tres fármacos nunca administrados previamente a los que se puede añadir uno o más de los “dudosos” antes administrados hasta recibir las pruebas de sensibilidad.

En la tabla 4 se especifican las pautas de tratamiento de la TB.

SITUACIÓN	FÁRMACOS	DURACIÓN
Pauta de elección	Isoniacida	6 meses
	Rifampicina	6 meses
	Pirazinamida	2 meses
Intolerancia-resistencia Isoniacida	Rifampicina	12 meses
	Etambutol	12 meses
	Pirazinamida	2 meses
Intolerancia-resistencia Rifampicina	Isoniacida	12 meses
	Etambutol	12 meses
	Pirazinamida	2 meses
Intolerancia pirazinamida	Isoniacida	9 meses
	Rifampicina	9 meses
	Etambutol	2 meses

Tabla 4. Pautas de tratamiento de la TB

1.6.1 Efectos adversos del tratamiento

En la mayoría de los pacientes el tratamiento habitual es bien tolerado y no presenta efectos adversos significativos. Pueden aparecer, preferentemente al inicio, síntomas leves e inespecíficos (exantema, urticaria, erupciones cutáneas) que se solucionan fácilmente con tratamiento sintomático o modificando la pauta terapéutica.

Pueden producirse alteraciones hepáticas: elevación de las transaminasas y/o de la fosfatasa alcalina. En estos casos ha de retirarse la medicación si las cifras de transaminasas son 5 veces mayores de las normales en pacientes asintomáticos o 3 veces mayores en sintomáticos.

La aparición de fiebre puede ser un efecto adverso. Si se sospecha fiebre secundaria a fármacos, se ha de comprobar qué medicación es la culpable con el fin de retirarla.

En el caso de que haya una complicación importante (fundamentalmente hepatitis o fiebre), ha de determinarse qué medicamento causa el efecto secundario. Para ello se interrumpirá el tratamiento hasta la desaparición de la fiebre o normalización de las pruebas hepáticas. Luego se reintroducirán los fármacos progresivamente.

Es importante advertir a los pacientes de las posibles alteraciones auditivas (estreptomicina) y oculares (etambutol), así como de las interacciones de la rifampicina con los anticonceptivos hormonales orales.

1.6.2 Medidas de aislamiento de los pacientes infectados por TB

La sospecha clínica, diagnóstico rápido e inicio del tratamiento con las medidas de aislamiento correspondientes, son los fundamentos para evitar la transmisión.

La transmisión de la infección es especialmente importante en las unidades de hospitalización así como en otros lugares residencias, cárceles, hospitalización a domicilio, guarderías, etc.

Cuando al servicio de urgencias de un hospital o centro de atención primaria, llega un paciente con sospecha diagnóstica de TB, debe ser aislado. Se han de evitar ingresos hospitalarios innecesarios. El personal sanitario que entra en contacto con un paciente con TB ha de usar mascarilla de partículas, y éste, si por algún motivo debe salir de su habitación ha de estar debidamente protegido. Tras el ingreso hospitalario en habitación individual, se suspenderá el aislamiento cuando se obtengan baciloscopias negativas o se descarte el diagnóstico de TB (48).

El lugar más adecuado para tratar a los pacientes y evitar la transmisión de la enfermedad es su domicilio, donde deben permanecer hasta que cumplan 2 o 3 semanas de tratamiento, evitando visitas y contactos con nuevas personas.

1.7 PAPEL DE LA VACUNACIÓN CON BCG Y SUS POSIBLES ALTERNATIVAS

Esta vacuna utiliza el bacilo de Calmette Guerin, una cepa viva atenuada del *M. bovis*, introducida por primera vez en 1921. Desde entonces ha sido administrada a varios

billones de habitantes mayoritariamente por vía intradérmica. El grado de protección que dispensa es muy variable. Es conocido su efecto beneficioso en la prevención de la meningitis tuberculosa y las formas diseminadas en niños, aunque es poco eficaz en las formas de presentación pulmonar en adultos. De todo lo expuesto se deduce que la inmunidad provocada con la BCG es poco duradera (49). Las personas vacunadas desarrollan una respuesta inmunitaria entre 8 y 14 semanas después de la vacunación, que se pone de manifiesto con un PPD positivo. Es bien tolerada y con una buena relación coste-beneficio.

Está contraindicada en pacientes inmunodeprimidos.

Su limitado efecto protector, ha promovido la necesidad de crear nuevas vacunas con el objetivo de conseguir una protección más duradera y un mayor porcentaje de eficacia.

El desarrollo de las nuevas estrategias en la prevención de la TB debería dirigirse a la población no infectada (recién nacidos y lactantes) con un sistema inmunitario sin contacto previo con el *M. tuberculosis* y a las personas con formas de ITBL (50).

Los modelos de experimentación animal utilizados en el estudio y desarrollo de los candidatos a vacunas contra la TB son el *minipig*, cabras y primates no humanos, estos últimos con muchas similitudes fisiológicas, anatómicas e inmunológicas con el ser humano.

Hoy en día los esfuerzos se centran en reemplazar la BCG por otras vacunas mejores o reforzar la protección de la BCG.

La eficacia máxima de una vacuna está relacionada con obtener una respuesta inmunológica intensa en el foco primario de la infección tuberculosa para evitar su crecimiento local y posterior diseminación.

Estudios recientes postulan que la ruta de administración de una vacuna determina la localización de las células antígeno-específicas locales que son las responsables de desencadenar una protección regional eficaz. En este aspecto se ha introducido la vía aerosol en las vacunas de la TB con el objetivo de potenciar su efecto protector en las células del epitelio respiratorio. Parece ser que el tejido linfoide de las mucosas o MALT (“*mucosa-associated lymphoid tissue*”) debería ser considerado como un compartimento inmune separado del sistémico que ayudaría a potenciar la protección contra el *M. tuberculosis* (51).

El desarrollo de nuevas vacunas se fundamenta en dos líneas diferentes. En primer lugar, sustituir la BCG para evitar el riesgo de infección asociada con los pacientes coinfectados con el VIH, con una versión mejorada o una nueva vacuna atenuada. Otra opción a considerar sería la administración de una segunda vacuna tras la vacunación con BCG que actuaría como refuerzo inductor (50).

En la actualidad existen innumerables ensayos clínicos, algunos de ellos en fases avanzadas, centrados en obtener una vacuna más inmunogénica.

Entre las líneas de desarrollo para la producción de sistemas vacunales cabe destacar: vacunas vivas recombinantes derivadas de la BCG, vacunas de refuerzo en las que se emplean vectores virales y vacunas terapéuticas.

Un candidato de vacuna terapéutica es RUTI, que está elaborada con un fragmento celular de *M. tuberculosis* inactivado por calor. Esta vacuna descubierta y desarrollada por Pere-Joan Cardona y sus colaboradores de la Unitat de Tuberculosi Experimental, está en fases avanzadas de desarrollo y ha demostrado su efectividad contra los bacilos tuberculosos en crecimiento y en letargo, dato éste de gran importancia para el tratamiento de la ITBL (52).

1.8 DIAGNOSTICO POR LA IMAGEN DE LA TB

El objetivo principal de los métodos de diagnóstico por la imagen, es identificar a los pacientes con enfermedad activa.

La radiología se utiliza habitualmente junto a la PT en el estudio inicial del cribado de la infección por *M. tuberculosis*. En ausencia de los test tuberculínicos, la radiología tiene un papel esencial en el diagnóstico de la TB.

1.8.1 Técnicas de imagen

1. Radiografía de tórax

Es la imagen radiológica en dos dimensiones del tórax. El estudio radiológico completo debería incluir las dos proyecciones estándar: frente (habitualmente pósterio-anterior) y perfil. En determinadas situaciones clínicas puede obviarse la radiografía de perfil.

Debe ser siempre la prueba de imagen inicial ante la sospecha clínica de patología torácica.

Es una prueba ampliamente utilizada, rápida, barata y reproducible. Permite caracterizar y localizar las lesiones visibles del tórax (mínimo de 10 mm de diámetro). En manos de radiólogos expertos es un método fiable para descartar o corroborar la afectación torácica de la TB. La correlación clínico-radiológica es esencial en estos casos.

La radiología digital es un hecho incuestionable y aceptado universalmente. Las principales ventajas son la mejor calidad de las exploraciones con una reducción de las dosis de radiación y la posibilidad de transmitir los datos obtenidos a una estación de trabajo clínico para analizar las imágenes.

La digitalización de la imagen ha permitido el desarrollo del diagnóstico asistido por ordenador (CAD) que se ha convertido en una de las mayores áreas de investigación del diagnóstico por la imagen. Existen estudios preliminares de cribado poblacional para la detección de la TB pulmonar con unos resultados prometedores.

Las imágenes son enviadas y archivadas en un PACS (*picture archiving and communication systems*). Los estudios radiológicos pueden ser consultados de forma inmediata por el personal médico autorizado.

Así pues, la radiografía de tórax debe ser la prueba de imagen inicial cuando se sospecha TB pulmonar y/o pleural. Desempeña un papel esencial en el diagnóstico y control de la enfermedad, ya que permite detectar lesiones pulmonares, pleurales, mediastínicas e hiliares.

Los estudios radiológicos previos pueden ayudarnos para valorar la actividad de la infección.

2. Tomografía computarizada (TC)

Desde la aparición de los primeros tomógrafos, las innovaciones tecnológicas han posibilitado la creación de equipos mucho más potentes capaces de realizar estudios de mayor calidad en un corto espacio de tiempo. La rápida adquisición de datos digitales que se obtienen con los equipos de TCMD permiten la realización de cortes submilimétricos, imágenes de alta resolución y reconstrucciones multiplanares.

La utilización de medios de contraste endovenosos nos permite realzar las estructuras vasculares, el parénquima de determinados órganos y en fase de eliminación renal, las vías urinarias. Con el contraste oral podemos opacificar el tubo digestivo para su estudio.

La TC nunca debe utilizarse como exploración radiológica de primera línea en el diagnóstico de la TB. Debe ajustarse su indicación en aquellas situaciones clínico-radiológicas donde el esclarecimiento de la afectación pulmonar y extrapulmonar es esencial para su diagnóstico y extensión.

Su alta resolución espacial nos permite la evaluación de las áreas poco perceptibles en la radiografía de tórax (ápex pulmonares, región retrocardíaca, área subdiafragmática) así como de las lesiones mediastínicas y de la pared torácica que, en ocasiones, no son visibles en la radiología convencional.

En la TB miliar puede detectar nódulos pulmonares milimétricos que, por su tamaño, no son visibles con la radiología convencional.

La TC está indicada en la TB diseminada, cuando la radiografía de tórax no es concluyente y ante la sospecha clínica de complicaciones torácicas y extratorácicas.

Los hallazgos de la TC permiten la definición de la extensión de la diseminación bronco-pulmonar, criterios de infección activa y extensión extratorácica.

La TC puede ser útil para evaluar la respuesta al tratamiento, en los pacientes con criterios clínicos y bacteriológicos de infección tuberculosa, aunque tiene importantes limitaciones para predecir la actividad o estabilidad de las lesiones residuales producidas después del tratamiento **(53)**.

3. Resonancia Magnética (RM)

Su aportación en el diagnóstico por la imagen de la TB torácica es irrelevante. Es de mayor utilidad en la evaluación de sus manifestaciones extrapulmonares.

En el sistema nervioso central, la RM es superior a la TC, especialmente en el diagnóstico de la meningitis y sus complicaciones asociadas **(54)**.

La espondilodiscitis tuberculosa puede afectar a una o varias vertebrae, el espacio epidural, los tejidos blandos paraespinales y los discos intervertebrales. La RM es la técnica de primera línea para la detección de las anomalías en la médula ósea, previas a la destrucción ósea y el diagnóstico de abscesos intraóseos y paraespinales. Es la modalidad de imagen de elección para la valoración del canal medular en estos casos **(55)**.

El uso de la RM en el diagnóstico de las manifestaciones articulares de la TB puede ser de ayuda para diferenciarlas de otras entidades como la artritis reumatoidea **(56)**. La RM es

más sensible que la radiología convencional en el diagnóstico de la afectación osteo-articular en las fases iniciales, aunque sus hallazgos son inespecíficos (54).

4. Ultrasonidos

La ecografía es una exploración rápida y barata. Su principal inconveniente es ser una técnica operador-dependiente.

Permite detectar con facilidad el derrame pleural y/o pericárdico así como la planificación de la toracentesis o pericardiocentesis.

Es una prueba muy útil en la demostración del líquido peritoneal así como en la valoración de las vísceras abdominales.

Es el método de imagen de elección para el diagnóstico del derrame articular.

La afectación ganglionar periférica tuberculosa no palpable puede ser diagnosticada mediante la ecografía. También pueden realizarse punciones con aguja fina (PAAF) o con aguja gruesa (BAG) mediante control ecográfico de las adenopatías, para su diagnóstico bacteriológico o histológico.

5. PET-TC

Es una modalidad de imagen híbrida que conjuga las imágenes morfo-anatómicas de la TC con las imágenes metabólico-funcionales del PET.

Tiene un alto rendimiento en el diagnóstico, estadificación y seguimiento de los procesos neoplásicos. Puede ser de interés en el diagnóstico de pacientes con fiebre de origen desconocido una vez agotados los métodos convencionales, donde la TB puede ser su causa. En muchas ocasiones el PET-TC no permite diferenciar entre neoplasia e infección ya que ambas entidades pueden tener modelos de captación de la 18F-FDG similares.

No debe utilizarse de rutina en el diagnóstico de la TB.

Estudios recientes han demostrado que en algunas de las lesiones cicatriciales tuberculosas aparentemente inactivas, muestran una captación de 18F-FDG. Esta actividad metabólica podría estar relacionada con un estado inmunológico dinámico de estas lesiones supuestamente inertes (57) corroborando en parte, la teoría dinámica de la reinfección tuberculosa explicada en apartados anteriores.

1.8.2 Manifestaciones radiológicas

Los hallazgos radiológicos dependen más del estado inmunitario del huésped que del tiempo transcurrido desde la infección (58). Esta situación es especialmente notoria en los pacientes coinfectados con el virus del VIH, cuyas manifestaciones radiológicas son atípicas. Muchas veces es prácticamente imposible diferenciar entre la TB primaria y de reactivación, debido a que sus manifestaciones clínico-radiológicas pueden mezclarse. Tanto la forma primaria como de reactivación pueden extenderse a regiones extratorácicas. En estos casos se considera que la puerta de entrada es pulmonar aunque, en muchos casos, no existen indicios radiológicos de enfermedad torácica. La mayoría de los casos de TB laríngea y del tubo digestivo se asocian a manifestaciones radiológicas de enfermedad pulmonar activa.

Por estos motivos, es mucho más importante confirmar el diagnóstico de TB, que identificar su subtipo (54). Nuestro objetivo primordial ha de ser diagnosticar y tratar la TB de una forma rápida y efectiva.

1. TB pulmonar

Patrón atípico

Es más frecuente en la población pediátrica, aunque puede verse en adultos, especialmente en los inmunodeprimidos.

La presencia del bacilo en el pulmón produce un foco de neumonitis inespecífica (foco de Ghon) que puede afectar a cualquier zona del parénquima pulmonar aunque existe un predominio en lóbulos medios e inferiores, donde hay una mayor ventilación. Se manifiesta como un área de afectación de espacio aéreo de aspecto inespecífico. En el 50% de los casos, los focos de consolidación pulmonar no se identifican en la radiografía simple.

El hallazgo radiológico más característico en este patrón es la afectación ganglionar hiliar y mediastínica, presente en más del 96% de los niños y en el 43% de los adultos. (54).

La localización más frecuente es hiliar y paratraqueal homolateral a la lesión pulmonar y, con menor frecuencia, la región subcarinal (fig. 12). En un tercio de los casos la afectación adenopática puede ser bilateral.

La linfadenitis se resuelve más lentamente que el foco pulmonar. Los ganglios afectados disminuyen de tamaño tres meses después del inicio del tratamiento y en ocasiones, pueden aumentar de tamaño en etapas iniciales sin que esto signifique fracaso terapéutico alguno.

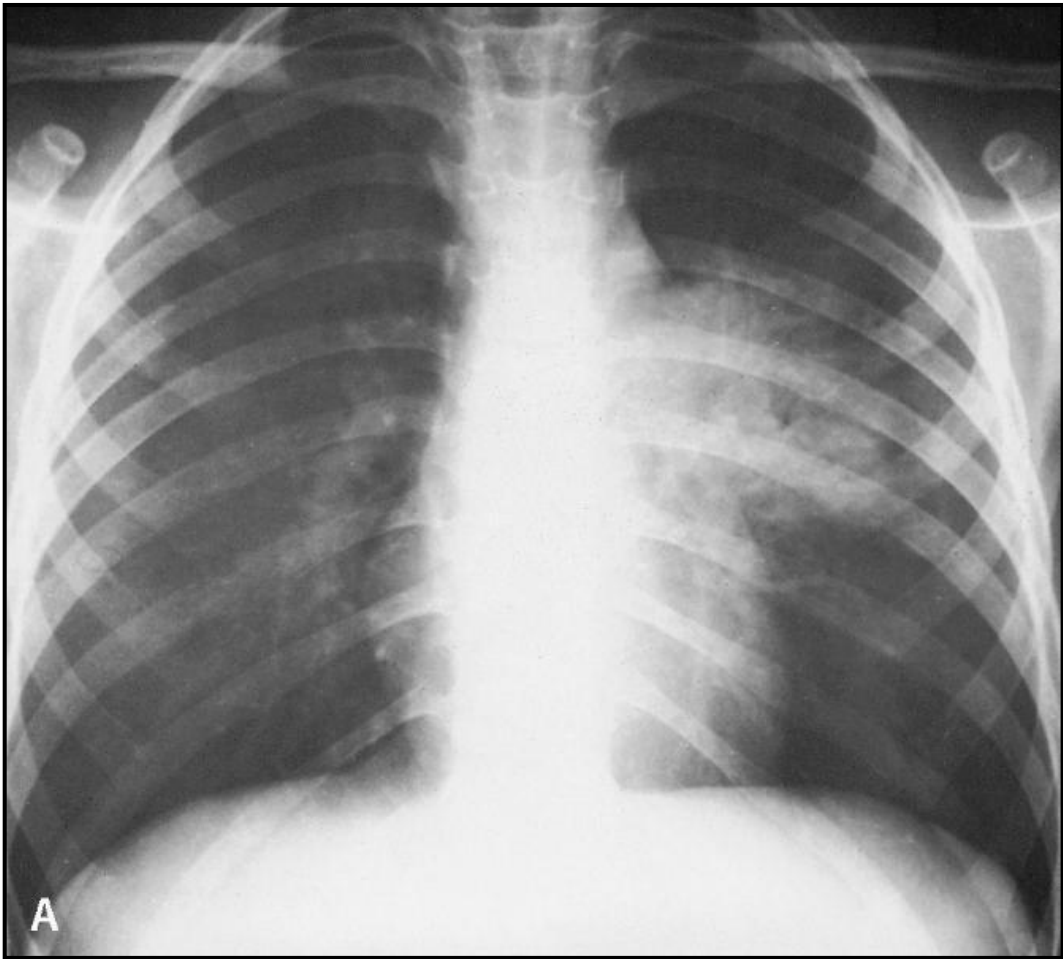


Figura 12. Área de afectación de espacio aéreo en el lóbulo superior izquierdo con adenopatías hiliares homolaterales.

Con cierta frecuencia, la afectación adenopática hilar y mediastínica no es demostrable con la radiología convencional. En estas circunstancias debe realizarse una TC que permitirá detectar las lesiones pulmonares de pequeño tamaño, así como la linfadenitis hilio-mediastínica. En la TC con contraste endovenoso, las adenopatías mayores de 2 cm de diámetro presentan un área central de bajo coeficiente de atenuación debido a la necrosis caseosa y un realce periférico (fig 13.) Estos hallazgos son muy característicos de la TB ganglionar aunque también pueden verse en metástasis, linfoma y otras infecciones (59).

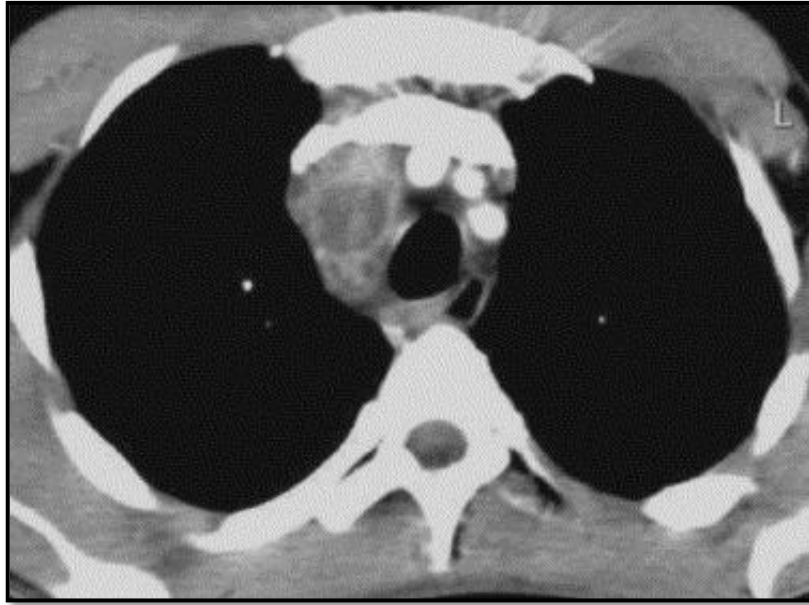


Figura 13. TC con contraste endovenoso. Adenopatías mediastínicas paratraqueales derechas con realce periférico y centro de bajo coeficiente de atenuación.

En los niños, las adenopatías mediastínicas pueden comprimir los bronquios, produciendo atelectasias y neumonitis.

El foco pulmonar de Ghon y los ganglios afectados pueden calcificar formando el llamado complejo de Ranke, que implica cronicidad y es altamente indicativo de TB primaria (54,59).

La TB pulmonar asociada al SIDA y a otros estados de inmunodepresión tiene muchas características clínicas y radiológicas del patrón atípico. Cuando los recuentos de linfocitos CD4 son inferiores de $200/\text{mm}^3$, los hallazgos radiológicos siguen el patrón atípico, aunque más intenso de lo habitual, con adenopatías hiliares y mediastínicas, mayor porcentaje de pleuritis y manifestaciones extrapulmonares, mientras que la cavitación pulmonar es menos frecuente. La forma diseminada está relacionada con inmunodepresión severa.

El derrame pleural puede verse en el 25% de los pacientes con TB primaria y puede ser la única manifestación de la enfermedad. Suele ser unilateral y son infrecuentes las complicaciones (empiema, fistulización o afectación de la pared torácica). El engrosamiento y calcificación pleural residual se observan con frecuencia.

Patrón típico

Se manifiesta como áreas de afectación de espacio aéreo parcheadas subsegmentarias de localización periférica con tendencia a confluir. Se localizan preferentemente en segmentos apicales y posteriores de los lóbulos superiores y en los segmentos apicales de los lóbulos inferiores. La afectación bilateral y multilobar es frecuente. Puede existir participación pleural en etapas iniciales.

El patrón en vidrio deslustrado en la TC representa el llenado incompleto alveolar y/o engrosamiento intersticial. Aparece como unas áreas de aumento de densidad pulmonares que de forma característica no borran las estructuras vasculares adyacentes. En la TB son de distribución parcheada e indican infección activa (fig. 14).



Figura 14. Imagen de TC con áreas parcheadas bilaterales de vidrio deslustrado

La cavitación es la característica más frecuente en esta forma de presentación e indica una alta probabilidad de actividad. Puede ser única o múltiple. Las cavidades pulmonares tienen pared gruesa e irregular y en ocasiones nivel hidroaéreo en su interior (fig. 15). Su involución tras el tratamiento se manifiesta como disminución progresiva del tamaño de la lesión que finalmente se convierte en una cicatriz fibrosa (59).

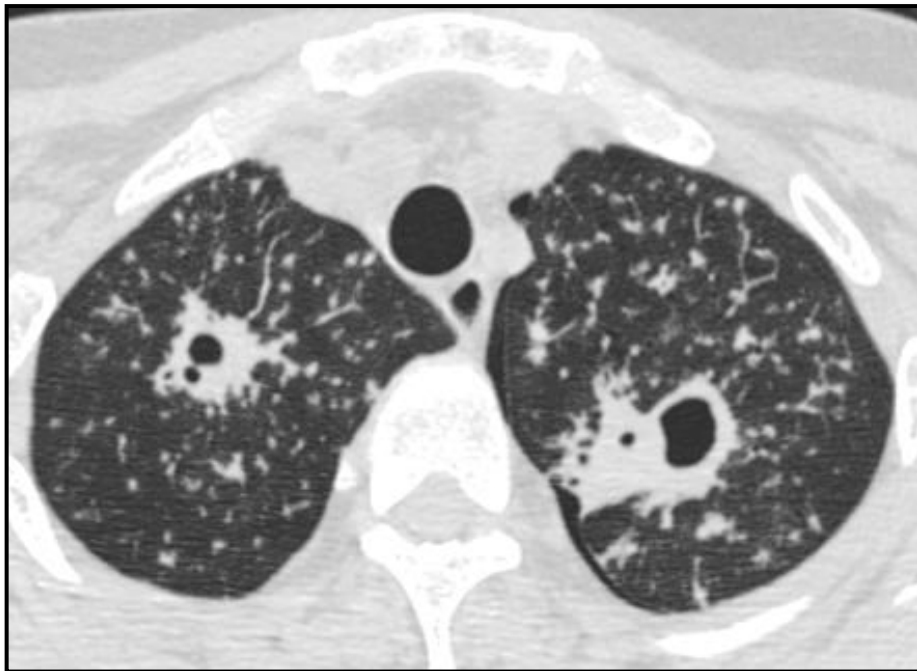


Figura 15. TC en la que se observan dos imágenes cavitadas de pared gruesa e irregular en ambos lóbulos superiores con signos acompañantes de afectación bronquiolar (nódulos centrolobulillares).

La diseminación broncógena de la TB aparece cuando un área de necrosis caseosa comunica con el árbol bronquial. Es un signo de actividad de la infección. En el 20% de los casos la radiografía de tórax muestra múltiples nódulos pulmonares mal definidos de 5-10 mm de diámetro, de distribución segmentaria o lobar (60,61) a distancia de las cavitaciones y en las zonas declives de los campos pulmonares. La mayor resolución espacial de la TCMD permite diagnosticar con precisión la diseminación broncógena en el 95% de las ocasiones. La semiología de la TC es la propia de la afectación bronquiolar (62): nódulos centrolobulillares de 2-4 mm de diámetro y áreas de árbol en brote (*tree in bud*). Estos hallazgos son característicos aunque no patognomónicos ya que también pueden observarse en la aspergilosis invasiva y en otras micobacterias (62).

Los signos TC de diseminación broncógena indican actividad de la enfermedad tuberculosa (60,61,63,64).

Los nódulos centrolobulillares y el árbol en brote, representan a estructuras tubulares ramificadas que corresponden a bronquiolos dilatados de pared engrosada e impactación mucóide (fig.16 y 17). En la TC se observan los nódulos centrolobulillares como imágenes nodulares de densidad de tejidos blandos (estructuras bronquiolares dilatadas en sección)

que conectan con estructuras lineales de calibre similar y que tienen un origen en un tronco común (árbol bronquiolar) (fig. 18).

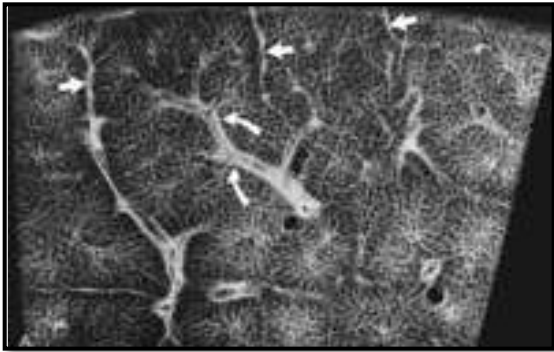


Figura 16. Estructuras bronquiolares normales

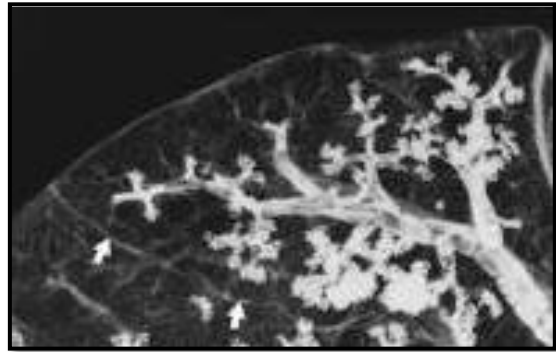


Figura 17. Signo del árbol en brote: bronquios dilatados rellenos de moco o líquido



Figura 18. Diseminación broncogena de TB con nódulos centrolobulillares y signo del árbol en brote.

También pueden observarse nódulos de 5-8 mm de diámetro mal definidos (nódulos acinares). Estos hallazgos se correlacionan con la presencia de la necrosis caseosa en el interior de los bronquiolos respiratorios y terminales. También son indicativos de enfermedad activa (fig. 19 y 20).

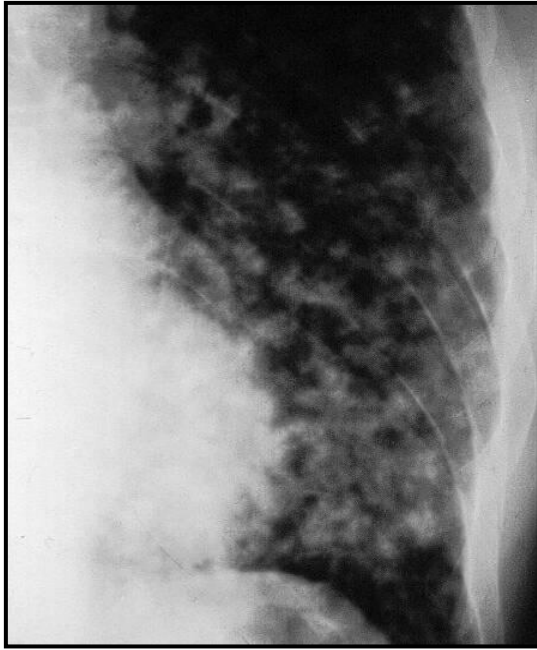


Figura 19. Radiografía de tórax : nódulos acinares en lóbulo inferior izquierdo.



Figura 20. TC : imágenes nodulares de contornos mal definidos en ambos pulmones (nódulos acinares) como manifestación de TB activa

En la TB endobronquial (65) la micobacteria llega a la pared traqueal y a los bronquios principales. Se produce una reacción inflamatoria, con formación de granulomas caseificantes, fibrosis y estenosis por retracción. Aparece en el 2-4% de los casos. En la TC puede verse un engrosamiento de las paredes bronquiales irregular o liso con estenosis de la luz y atelectasia pulmonar.

La afectación ganglionar hiliar y mediastínica en la TB postprimaria es infrecuente (5%).

La neumonía-bronconeumonía tuberculosa se presenta radiológicamente como una afectación de espacio aéreo lobar, habitualmente cavitada. A diferencia de la neumonía bacteriana, su evolución es más tórpida y refractaria al tratamiento antibiótico convencional. La bronconeumonía diseminada se produce en pacientes inmunodeprimidos con extensión a las vías aéreas. El patrón radiológico clásico es la afectación de espacio aéreo parcheada bilateral.

Existen varios estudios que tienen como objetivo la utilización de la TC para determinar los patrones y signos de la TB activa (61,66). En todos ellos existe un consenso de los hallazgos radiológicos relacionados con la actividad de la infección. Las lesiones cavitadas de pared gruesa e irregular, nódulos centrolobulillares, árbol en brote, nódulos acinares, la afectación de espacio aéreo y el patrón en vidrio deslustrado se observan en aquellos pacientes con tuberculosis documentada y no aparecen cuando la enfermedad es inactiva.

La presencia de uno o varios de estos signos TC, nos permitirá determinar la actividad de la infección y poner en marcha las medidas de aislamiento y tratamiento adecuadas.

El patrón radiológico de TB miliar indica enfermedad activa.

El derrame pleural es menos frecuente que en TB primaria (18% de los pacientes). La presencia de hidroneumotórax debe hacernos sospechar en una fístula broncopleurales relacionada con una cavidad tuberculosa abierta a la cavidad pleural.

La pleuritis TB se manifiesta por TC como una cavidad pleural con líquido en su interior, muchas veces loculada, que se acompaña de un engrosamiento de las superficies pleurales (parietal y visceral) que se realzan con el contraste endovenoso. La pleuritis puede producirse en ausencia de foco pulmonar visible y debe considerarse la etiología tuberculosa ante cualquier derrame pleural unilateral de causa desconocida.

Complicaciones torácicas tardías de la TB

– Tuberculomas

Se presentan como nódulos bien definidos localizados con frecuencia en los lóbulos superiores. Pueden aparecer antes o después de sufrir una TB activa. Calcifican en el 20 - 30% de los casos.

– Conglomerados de fibrosis

Su aspecto, en ocasiones, no permite diferenciarlos del carcinoma broncogénico, aunque suelen asociarse a otras manifestaciones radiológicas de la TB crónica.

– Bronquiectasias

Las dilataciones bronquiales relacionadas con las lesiones fibrocicatriciales y destructivas pulmonares tuberculosas son muy frecuentes.

– Broncolitiasis

El material necrótico calcificado de los ganglios mediastínicos puede erosionar la pared bronquial e introducirse en su luz, causando obstrucción y atelectasia pulmonar. La localización intrabronquial del broncolito por TC o broncoscopia confirma su diagnóstico.

– Micetoma

Es la colonización de una cavidad crónica tuberculosa por *Aspergillus* con posterior desarrollo de una tumoración endocavitaria (*fungus ball*). La mayoría de los pacientes presentan síntomas: tos, expectoración y hemoptisis. El diagnóstico puede realizarse con la radiología convencional aunque la TC es más sensible. El signo radiológico más característico consiste en la presencia de una imagen nodular en el interior de la cavidad tuberculosa que se moviliza con los cambios de posición del paciente.

– Mediastinitis fibrosante

Es una reacción fibrosa agresiva mediastínica relacionada con la TB. Se observa una tumoración mediastínica y/o hilar de aspecto infiltrativo que puede calcificar (fig. 21). Puede producir compresión y distorsión de las estructuras mediastínicas. Debe considerarse esta entidad cuando existe un contexto clínico sugestivo de TB aunque muchas veces no puede diferenciarse de otros procesos neoplásicos primarios o secundarios que afectan al mediastino.

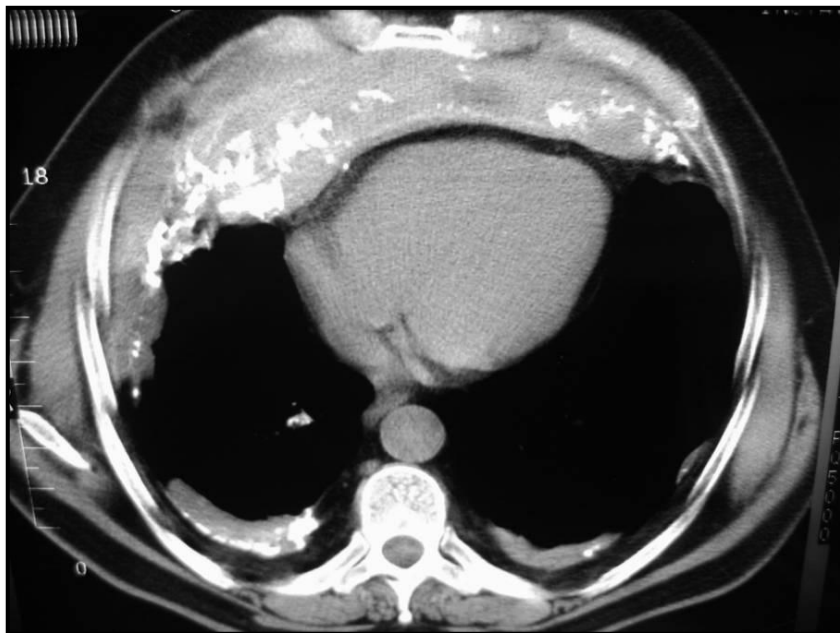


Figura 21. Mediastinitis fibrosante. Masa mediastínica anterior de aspecto infiltrativo con calcificaciones distróficas en su interior

– Aneurisma de Rasmussen

Es un pseudoaneurisma de una arteria pulmonar periférica producido por erosión vascular de lesiones tuberculosas agresivas vecinas (fig. 22).

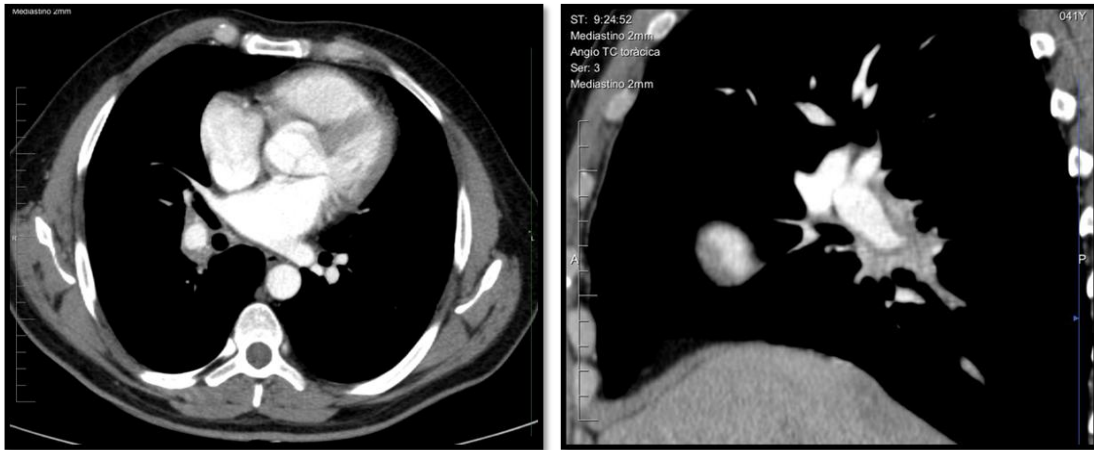


Figura 22. Aneurisma de Rasmussen. TC con contraste endovenoso : dilatación aneurismática de la arteria pulmonar descendente producida por una lesión tuberculosa hilar derecha.

TB miliar

Es una complicación poco frecuente, aunque grave, que se produce por la propagación hematogena de la TB. Puede verse tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes, aunque los niños menores de 2 años y los pacientes inmunodeprimidos presentan un mayor riesgo.

Típicamente sus manifestaciones radiológicas sólo son visibles de tres a seis semanas después de la diseminación hematogena. Siempre indica TB activa.

El patrón radiológico miliar se caracteriza por la presencia de nódulos intersticiales múltiples de 2-3 mm de diámetro, de distribución uniforme y aleatoria (fig. 23 y 24). También puede asociarse a un engrosamiento de los septos intra e interlobulillares (59,60,67,68). Se ha descrito que estos nódulos son mayores en los lóbulos superiores que en el resto del parénquima, ilustrando una vez más la mayor susceptibilidad en la progresión hacia enfermedad en esta localización (69).

Estos hallazgos pueden no ser perceptibles con los estudios radiológicos convencionales. En estas circunstancias, la mejor resolución de la TC nos permitirá su caracterización en las fases iniciales de la enfermedad.

La TB miliar nunca calcifica ni deja lesiones residuales cicatriciales.

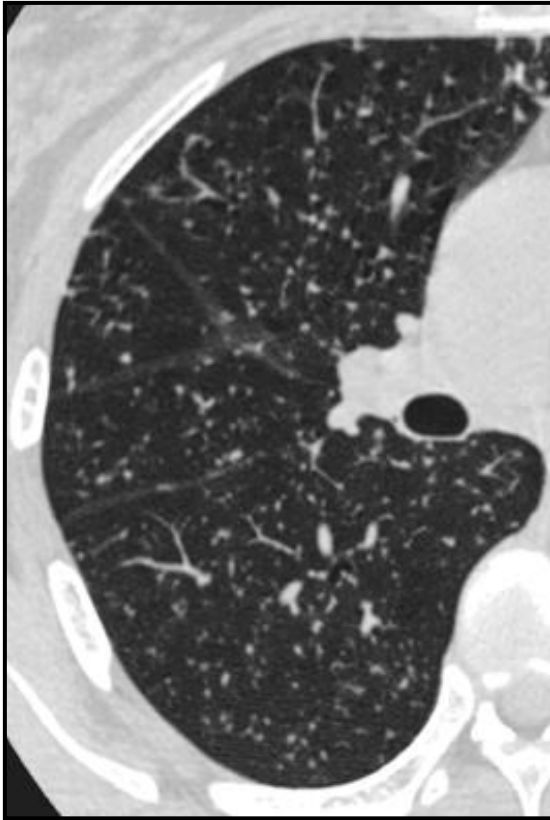


Figura 23. TC. Nódulos pulmonares milimétricos de contornos bien definidos y de distribución aleatoria



Figura 24. Radiografía de tórax localizada: patrón miliar

TB pulmonar en niños

La TB pulmonar en niños presenta algunas diferencias sustanciales con respecto a la población adulta. El bajo porcentaje de baciloscopias positivas, la negatividad de la PT en pacientes infectados menores de 3 meses, así como una mayor frecuencia de complicaciones (meningitis, TB miliar) en la población pediátrica, nos obligan a dar un gran protagonismo a la historia clínica y a la radiología en el diagnóstico de la TB infantil.

El radiólogo debe estar familiarizado con los aspectos semiológicos característicos de la TB pediátrica y tutelar la correcta indicación de las pruebas de imagen adecuadas para evitar la radiación innecesaria.

La afectación ganglionar hiliar o mediastínica aislada o asociada a alteraciones pulmonares es el signo guía (70,71).

Los niños menores de tres años tienen una alta prevalencia de afectación ganglionar (casi del 100% según algunos estudios) y baja de presentar anomalías pulmonares (50%) con respecto a los pacientes con edades comprendidas entre 4 y 15 años (72).

En los niños con sospecha clínica, el primer estudio de imagen debe ser una radiografía de tórax con las proyecciones frente y lateral.

La TC torácica no debe utilizarse de rutina y sus indicaciones quedan restringidas en casos de TB diseminada, la evaluación y control de las complicaciones y cuando la radiografía de tórax no sea concluyente.

2. TB extrapulmonar

TB cardíaca

En nuestro medio es muy rara y suele presentarse como pericarditis en pacientes inmunodeprimidos. El engrosamiento pericárdico mayor de 2 mm visible por TC puede ayudar a su diagnóstico. El derrame pericárdico aparece en menos del 20% de los casos pudiendo dejar como secuela una calcificación pericárdica.

TB del aparato digestivo

Las adenopatías abdominales representan la forma más frecuente de presentación de la TB abdominal. Las cadenas ganglionares mesentéricas, peripancreáticas, periportales, paracavales y paraaórticas se afectan con frecuencia. Suelen ser múltiples y por TC poseen una característica típica pero no patognomónica. Tras la administración del contraste endovenoso las adenopatías afectadas presentan un realce periférico con un área central de bajo coeficiente de atenuación por la necrosis caseosa.

La afectación hepatoesplénica es frecuente en las formas diseminadas que suele manifestarse como múltiples nódulos de pequeño tamaño no detectables mediante la TC.

La presentación macronodular hepatoesplénica es infrecuente y se manifiesta como nódulos de bajo coeficiente de atenuación con captación periférica del contraste endovenoso. Estas lesiones por RM son hipointensas en las imágenes potenciadas en T1 e hiperintensas en T2.

La peritonitis tuberculosa puede originarse desde un foco abdominal o por diseminación hematogena. Los hallazgos por TC incluyen: ascitis libre o loculada con valores de atenuación elevados (20-45 UH) debido a su alto contenido de células y proteínas **(54,73)** y engrosamiento omental nodular e irregular similar a la carcinomatosis peritoneal y al mesotelioma.

La afectación pancreática se presenta como una lesión nodular de bajo coeficiente de atenuación con realce periférico con el contraste endovenoso. La afectación ganglionar peripancreática es frecuente. Los hallazgos TC descritos son similares a los observados en el adenocarcinoma de páncreas.

La región ileocecal es la localización más frecuente de la TB gastrointestinal. Las características radiológicas más frecuentes son el engrosamiento mural concéntrico del íleon terminal y del ciego con adenopatías loco-regionales.

La afectación tuberculosa del esófago y región gastroduodenal es rara.

El engrosamiento mural concéntrico con *skip areas* y estenosis de la luz puede afectar a cualquier segmento del intestino delgado. En estadios avanzados de la enfermedad puede observarse estenosis de la luz intestinal con retracciones del ciego por afectación fibrociatrical del mesocolon.

TB adrenal

Se descubre en más del 6% de los pacientes con infección activa aunque es un hallazgo muy frecuente en las necropsias. Suele ser bilateral.

En la TC se observa un aumento del tamaño de la glándula adrenal con captación de contraste endovenoso periférica y hipotenuación central por la necrosis caseosa.

La calcificación adrenal puede observarse como secuela de la infección tuberculosa.

TB genitourinaria

El aparato genitourinario se afecta del 15 al 20 % de los pacientes con TB extrapulmonar. El intervalo de tiempo transcurrido entre la infección pulmonar inicial y las manifestaciones genitourinarias es muy variable (de 5 a 40 años). Su diagnóstico es difícil debido a que la mayoría de los pacientes presentan una sintomatología muy vaga e inespecífica con urocultivos negativos. El 20% de estos pacientes presentan un PPD negativo (74,75).

Tuberculosis renal y de las vías urinarias

La afectación renal por el *M. tuberculosis* se produce por vía hematógena. La alta concentración de oxígeno unida al flujo sanguíneo del lecho capilar glomerular y peritubular proporciona las condiciones ideales para su colonización. En la fase inicial se forman granulomas en las zonas adyacentes de los glomérulos del córtex renal. Si el

sistema inmune está intacto evita la replicación bacteriana y la enfermedad queda en forma latente durante décadas. En esta etapa no hay destrucción parenquimatosa, las lesiones cicatrizan espontáneamente y pueden calcificar.

En estados de depresión inmunológica los granulomas crecen y se fusionan. La ruptura capilar permite que la bacteria alcance los túbulos proximales y el asa de Henle con producción de granulomas caseificantes y necrosis papilar. La formación y crecimiento de los granulomas, la necrosis caseosa y la cavitación pueden producir la destrucción del parénquima renal.

La comunicación de los granulomas con el sistema colector a través de la papila, puede diseminar la infección a las vías urinarias (pelvis renal, uréteres, vejiga y órganos genitales).

En la urografía endovenosa el hallazgo más precoz es la irregularidad en el extremo papilar y del cáliz subyacente (patrón moteado) (74). En fases más avanzadas la confluencia de varios granulomas puede originar abscesos, que cuando comunican con el sistema colector pueden verse como unas cavidades que se rellenan con el contraste, observándose en ocasiones el trayecto fistuloso. Cuando aparece la fibrosis se estrechan los infundíbulos con ectasia calicial. La pelvis renal aparece estenosada, con dilatación generalizada del sistema calicial. En la fase terminal, la obstrucción total produce un riñón atrófico con anulación funcional y calcificaciones globulosas llamado riñón *mastic*.

La afectación ureteral y de la vejiga urinaria casi siempre procede del riñón.

La formación de granulomas en el epitelio ureteral produce fibrosis y calcificaciones murales. Las estenosis originadas suelen localizarse en el uréter distal en zonas donde existen estrecheces anatómicas (unión pieloureteral, uréter yuxtavesical) (75).

Las ulceraciones mucosas y engrosamiento mural son las manifestaciones radiológicas iniciales de la TB vesical. En estadios avanzados pueden observarse defectos de repleción intravesicales por acumulación de material granulomatoso. La progresión fibrocicatrizal produce una marcada disminución del volumen vesical con calcificaciones parietales.

TB genital

En las mujeres, produce una salpingitis bilateral que involucra con frecuencia a las trompas de Falopio (94% de los casos).

La histerosalpingografía muestra obstrucción y/o estenosis tubáricas así como adherencias y deformidades de la cavidad endometrial.

La afectación genital en el varón puede presentarse como calcificaciones de las vesículas seminales y de la próstata. La ecografía prostática muestra áreas hipoeoicas focales o difusas, que reflejan la inflamación y/o necrosis caseosa.

TB osteoarticular

La demora en el diagnóstico de la TB osteoarticular es una constante en todas las publicaciones. En un estudio publicado por L. Mateo en el año 2007 que analizaba 53 casos de TB osteoarticular atendidos en un Hospital Universitario, el tiempo medio para llegar al diagnóstico fue de 8 meses (76).

Sin embargo en la mayoría de las series demuestran un retraso mayor (de 16 a 19 meses) (54,73). Este retraso diagnóstico y sus complicaciones condicionan que más de la tercera parte de los pacientes precisen de tratamiento quirúrgico.

Se produce por diseminación hematógena o linfática de un foco tuberculoso pulmonar, que sólo puede demostrarse radiológicamente en el 50% de los casos. La PT puede ser negativa en el 14% de los casos.

Con frecuencia es multifocal en las zonas donde la enfermedad es endémica. La destrucción ósea y articular presente en la TB provoca una alta morbilidad. La afectación medular secundaria a la espondilitis ocasiona importantes secuelas neurológicas.

El diagnóstico suele realizarse mediante cultivo bacteriológico positivo de las muestras osteoarticulares.

Espondilitis o enfermedad de Pott

La TB osteoarticular se localiza con mayor frecuencia en la columna (50-70%) especialmente en la porción baja del raquis dorsal y en el raquis lumbar.

El proceso se inicia en el margen anterior de un cuerpo vertebral, adyacente a la zona subcondral del platillo. La infección puede propagarse al disco intervertebral, ligamentos longitudinales anteriores y posteriores, con destrucción del hueso subcondral y herniación discal en el cuerpo vertebral que provoca una disminución del espacio discal. La destrucción vertebral típicamente presenta unos márgenes bien definidos, sin esclerosis

ósea ni reacción perióstica (hallazgo característico de la espondilodiscitis TB). El colapso vertebral resultante produce una cifosis angular.

La extensión de la infección hacia los ligamentos longitudinales y partes blandas es frecuente y suele ocurrir en el margen anterolateral.

Los abscesos paravertebrales pueden extenderse a gran distancia descendiendo a lo largo del músculo psoas. La calcificación residual de los abscesos está relacionada con su curación. La PAAF o BAG de los abscesos paraespinales guiadas por TC, en manos de un radiólogo experto, tiene una sensibilidad diagnóstica superior al 90% (76).

La TC es una herramienta muy útil para la valoración de la afectación vertebral y paravertebral. Sin embargo, la modalidad de imagen de elección en el diagnóstico de la espondilodiscitis TB es la RM, debido a su mayor sensibilidad en la detección de las anomalías de las partes blandas así como la valoración de las complicaciones neurológicas relacionadas con la afectación medular y radicular. El foco vertebral se presenta como un área de baja intensidad en las imágenes potenciadas en T1 e hiperintensas en T2. La hiperintensidad discal es una manifestación frecuente por RM.

La espondilitis TB raramente afecta a los elementos posteriores vertebrales a diferencia de las metástasis óseas o linfoma.

Los hallazgos radiológicos que favorecen el diagnóstico de TB son: afectación de uno o más segmentos del raquis con destrucción del disco intervertebral, ausencia de esclerosis ósea y reacción perióstica, así como la presencia de masas paravertebrales calcificadas.

Linfadenitis tuberculosa cervical

Es una manifestación muy frecuente de la TB extrapulmonar. Clínicamente se presenta como dolor laterocervical bilateral con signos inflamatorios.

El diagnóstico bacteriológico debe realizarse del material obtenido mediante punción de los ganglios palpables y accesibles.

La ecografía de partes blandas es muy útil para la valoración adenopática laterocervical, supraclavicular y axilar. En ganglios no palpables, la PAAF o BAG guiada por ecografía tienen una rentabilidad diagnóstica muy alta.

Por TC las adenopatías tuberculosas presentan un centro de bajo coeficiente de atenuación con un realce periférico tras la administración de contraste endovenoso.

TB faríngea y laríngea

La TB faríngea se presenta como nódulos orofaríngeos con ulceraciones y abscesos para y retrofaríngeos. Las lesiones de la mucosa faríngea son indistinguibles de los procesos malignos (77).

Se manifiesta como engrosamiento e infiltración de los espacios preepiglóticos y paraepiglóticos sin presencia de una clara masa focal ni afectación de los cartílagos (54).

La afectación laringo-traqueal puede ser causa de estenosis y obstrucción por edema o fibrosis crónica.

Afectación de la TB en el sistema nervioso central

En la mayoría de las ocasiones se produce por diseminación hematógena y puede afectar a las meninges, parénquima cerebral y médula espinal.

Meningitis

Es la manifestación más frecuente de la TB del SNC. Cuando el *M. tuberculosis* llega al espacio subaracnoideo produce un exudado inflamatorio que afecta preferentemente a las cisternas basales, cisterna silviana y raramente a las leptomeninges. El exudado en las cisternas basales puede desencadenar una obstrucción del flujo del LCR con hidrocefalia que puede comprimir los nervios craneales y una inflamación obliterativa de los vasos de la base del cráneo. Los granulomas pueden fusionarse formando tuberculomas y raramente abscesos. Estas características anatomopatológicas se corresponden con los hallazgos en neuroimagen: realce anormal de las meninges en regiones basales del cerebro asociadas a hidrocefalia e infartos. Esta triada es característica de la meningitis TB (78).

La RM es el método de imagen de elección para el diagnóstico de la meningitis TB y sus complicaciones.

La RM con contraste permite detectar una captación meníngea anormal del gadolinio, especialmente en las cisternas basales, cisterna silviana y en los surcos de la convexidad.

La hidrocefalia normalmente es comunicada en el 80% de los casos.

La vasculitis puede producir infartos cerebrales. Su incidencia varía desde el 20,5 % al 38% de los casos. La RM detecta un mayor número de infartos cerebrales y su transformación hemorrágica con respecto a la TC (78). La mayoría de ellos se localizan en el tálamo, ganglios basales y en la cápsula interna.

Parénquima cerebral

Los tuberculomas son las lesiones más frecuentes de la afectación del parénquima cerebral. Pueden ser únicos o múltiples. Son lesiones ocupantes de espacio de tejido granulomatoso que pueden tener una localización cerebral hemisférica, en ganglios basales, cerebelo y tronco cerebral. Raramente en el sistema ventricular y meninges.

Los hallazgos RM dependen de si los granulomas son no caseificantes, caseificantes con centro sólido o caseificantes con centro necrótico.

Los tuberculomas no caseificantes son lesiones menores de 15 mm de diámetro, hiperintensas en T2 e isointensas o hipointensas en T1 (55).

Los caseificantes con centro sólido suelen ser iso o hipointensos en T1 y en T2. Están asociados a edema circundante que se manifiesta como un anillo de grosor variable hipointenso en T1 e hiperintenso en T2.

Los tuberculomas caseificantes con centro necrótico muestran una hiperintensidad central en T2.

En la TC los tuberculomas se presentan como masas esféricas o lobuladas de alto o bajo coeficiente de atenuación. Pueden tener un realce periférico con el contraste endovenoso y calcificar.

Meningitis espinal

La RM con contraste es el método de imagen de elección en estos casos.

En la aracnoiditis se observa una loculación del LCR y obliteración del espacio subaracnoideo con pérdida de definición del canal medular y *clumping* de las raíces nerviosas lumbares. El contraste endovenoso pone de manifiesto un realce intradural nodular o lineal. En estadios crónicos de la enfermedad no se observa realce alguno.

La siringomielia puede ser una complicación de la aracnoiditis y se presenta como una cavitación medular que típicamente tiene la misma señal por RM que el LCR y no se realza con el gadolinio (55,68).

1.8.3 Uso de la radiológica digital como método de cribado poblacional para detectar la TB torácica

En determinadas circunstancias la radiografía simple de tórax es el único método para el diagnóstico de la TB. Los estudios bacteriológicos del esputo tienen una sensibilidad

inferior al 50% en pacientes con enfermedad activa coinfectados con el virus del VIH. En los países donde la TB es endémica, más del 70% de estos pacientes están coinfectados con el virus del VIH. Esta asociación todavía complica más el diagnóstico bacteriológico de estos pacientes.

En este contexto clínico, la radiología simple se constituye como un elemento esencial en el diagnóstico de la TB (79).

La radiología digital es un hecho incuestionable y aceptado universalmente. Sus principales ventajas radican en una mejor calidad de las exploraciones radiológicas que nos permite reducir la dosis de irradiación y la posibilidad de transmitir los datos radiológicos a cualquier lugar del mundo para ser evaluados y archivados en un PACS.

Las imágenes obtenidas, habitualmente son interpretadas por facultativos especializados en el diagnóstico por la imagen o bien, como ocurre en muchos países del tercer mundo, por personal no médico sin experiencia radiológica alguna. Esta situación conduce irremediablemente a importantes errores diagnósticos.

También debe tenerse en cuenta que la radiografía de tórax realizada en óptimas condiciones y evaluada por personal facultativo capacitado, tiene limitaciones de interpretación con significativas variaciones intra e interobservador. Estas diferencias interpretativas, agravadas por la precariedad de recursos en los países subdesarrollados, nos obligan a desarrollar programas que permitan una lectura estandarizada de las imágenes para evitar discrepancias de lectura e interpretación.

Muchos estudios retrospectivos realizados para valorar la variabilidad de los resultados en el diagnóstico radiológico y en el cribado poblacional (especialmente en el cáncer de mama) demuestran un alto porcentaje de errores de detección y de interpretación de los estudios de imagen. Para intentar subsanar estas limitaciones han surgido diferentes métodos de lectura radiológica.

Los **sistemas de lectura asistida por ordenador (CAD)** se han convertido en una de las mayores áreas de investigación y de soporte del diagnóstico radiológico. El sistema CAD se define como el diagnóstico que realiza un radiólogo ayudado por los resultados de un análisis cuantitativo verificado por un ordenador que señala algunas zonas sospechosas de la radiografía de tórax. Este concepto es totalmente diferente al llamado *diagnóstico*

automático que consiste en sustituir al radiólogo por un ordenador. Este método fracasó estrepitosamente cuando fue utilizado en la década de los setenta.

El sistema CAD necesita del desarrollo de un software de algoritmos que pueda ser aplicado a la práctica clínica habitual con un objetivo claro: marcar áreas de atención al radiólogo para mejorar la lectura de las imágenes. Sin embargo el número de puntos de atención no puede ser excesivo ya que provocaría cansancio y distracciones. El diseño previo a la aplicación del sistema CAD en el cribado poblacional debe incluir los aspectos cuantitativos y cualitativos de los hallazgos radiológicos a evaluar, el tipo de personal sanitario necesario para llevar a buen término el programa de cribado así como su entrenamiento idóneo para dar una respuesta adecuada al proyecto.

Históricamente el CAD se ha centrado en el cribado del cáncer de mama aunque también ha sido utilizado en la detección de nódulos pulmonares en radiografías de tórax. Varios trabajos demuestran que la lectura de cribado y el CAD aumenta la detección hasta un 21% de lo que se deduce que puede ser una herramienta muy útil para reducir el número de falsos negativos del radiólogo. Esto supondría una mejora de la sensibilidad y un más que probable incremento de la especificidad **(80)**.

En la actualidad, con el desarrollo de nuevas modalidades de imagen (TCMD, RM, PET-TC) han surgido aplicaciones para la detección y caracterización de distintos tipos de lesiones en el ámbito de la imagen médica 3D.

En los diez últimos años se han publicado muchos trabajos en los que se utilizan los sistemas CAD con el fin de encontrar un método de lectura estándar destinado a minimizar las variaciones intra e interobservador, en los pacientes con sospecha clínica de enfermedad pulmonar, incluida la TB.

En el año 2005 Den Boon y colaboradores **(81)** utilizaron un sistema llamado CRRS (*chest radiograph reading and recording system*) similar en su concepción a los utilizados en el International Union against Cancer and the International Organization (UICC/ILO).

En este trabajo, dos lectores independientes evaluaban cada radiografía de tórax divididas en cuatro categorías (sin hallazgos, lesiones en el parénquima pulmonar, derrame pleural y presencia de adenopatías hiliares y/o mediastínicas). El resultado del análisis radiológico de cada categoría era binario: Un resultado era positivo (+) si el lector observaba alteraciones, independientemente del número y su tipología. Un resultado era considerado

negativo (-) si no se detectaban anomalías. Una vez realizado el análisis estadístico de los resultados, los autores del estudio concluyeron que, con este método tan simple, mejoraron la concordancia inter e intraobservador de forma significativa.

En artículos publicados con posterioridad **(82)** realizados en países con una alta prevalencia de pacientes tuberculosos coinfectados por el virus del VIH, donde el diagnóstico radiológico es difícil debido a que los hallazgos suelen ser muy atípicos, se confrontaron los resultados con respuesta binaria del CRRS con los hallazgos semiológicos de 2 lectores. También en este grupo de pacientes el CRRS proporcionó un alto grado de concordancia intra e interobservador.

Los sistemas CAD pueden tener un papel importante para minimizar las diferencias de interpretación entre lectores expertos e inexpertos **(83)** en la evaluación de las imágenes radiológicas de los pacientes con infección tuberculosa.

Maduskar en su trabajo publicado el 2013 **(84)** realizó un estudio retrospectivo de 161 pacientes evaluados usando un sistema CAD complejo denominado CAD4TB en el que se calificaba cada alteración radiológica en una escala del 0 al 100. Estos datos fueron comparados con los hallazgos radiológicos observados por cuatro oficiales clínicos independientes. Los resultados de este estudio no demostraron diferencias significativas entre ambos métodos de lectura.

En el año 2013, Pinto **(79)** y colaboradores analizaron las radiografías de 473 pacientes mediante el método CRRS.

Se analizaron múltiples variables clínicas, bacteriológicas y radiológicas en pacientes con sospecha clínica de TB. Los hallazgos radiológicos considerados como indicativos de actividad fueron: opacidades parenquimatosas, adenopatías, cavitación y derrame pleural. La conclusión final estableció que los sistemas CRRS tenían una alta reproductibilidad interobservador en la detección de las anomalías torácicas con una peor concordancia en la interpretación de las imágenes radiológicas, es decir, el método ayuda a descubrir y localizar las lesiones pero no aporta un valor añadido en el diagnóstico semiológico. Para estos autores, el sistema CRRS tiene un alto valor predictivo negativo para descartar la TB activa en aquellos pacientes con cultivos de esputo negativos, especialmente en aquellos no coinfectados con el virus del VIH.

El sistema de cribado radiológico automático usado en países endémicos como Kenia puede tener un valioso papel en un futuro próximo como método de asistencia radiológico en los programas de sanidad en los países del tercer mundo. En el momento actual no existe ninguna evidencia científica de su eficacia en el diagnóstico de la TB torácica activa (85).

En conclusión, podemos decir que a pesar de los avances tecnológicos de la imagen digital y su impacto poblacional, es necesario avanzar en este campo, con la realización de más estudios que nos permitan conocer el beneficio a largo plazo del uso de los sistemas CAD en el cribado de la TB activa, especialmente en aquellos países con importantes limitaciones en sus infraestructuras sanitarias.

1.9 TB EXPERIMENTAL

1.9.1 El modelo animal en la investigación biomédica

La experimentación animal es una actividad esencial de la ciencia médica que ha contribuido al desarrollo del conocimiento científico y médico.

La utilización de animales con fines científicos conlleva una serie de responsabilidades. Existe un marco legal internacional de obligado cumplimiento para todos los grupos investigadores que tiene como objetivo primordial, el uso humanitario de los animales de laboratorio.

El respeto y cumplimiento de la legislación sobre el cuidado de los animales de laboratorio, permite alcanzar resultados efectivos y reproducibles así como adoptar una postura ética y moral en la experimentación científica.

En 1959 William Russell y Rex Burch en su famoso libro *The principles of humane animal experimental techniques*, exponen que la excelencia científica va ligada al uso digno de los animales de laboratorio. Estos autores definen tres propuestas que se conocen como las 3R: reemplazar, reducir y refinar.

Reemplazar: pretende sustituir a los animales por equivalentes no animales cuando sea posible.

Reducir: Disminuir el número de animales utilizados.

Refinar: Engloba a todos los procedimientos destinados a disminuir el sufrimiento o ansiedad de los animales.

El perfeccionamiento del diseño de los estudios de experimentación y la selección del modelo más adecuado contribuyen al cumplimiento de estos principios.

En igualdad de condiciones es preferible el método *in vitro*. Tecnologías alternativas como modelos matemáticos, simulación por computador, test serológicos, cultivos celulares y sistemas biológicos *in vitro*, deben utilizarse de forma prioritaria en estas situaciones.

El refinamiento incluye: escoger la especie animal, la vía de inóculo, el periodo de estudio y los parámetros que interesa estudiar, para resolver un problema en concreto relacionado con la curación o diagnóstico de una enfermedad.

El éxito en el diseño del experimento depende de las condiciones de vida del animal y de la calidad de los recursos humanos.

En primer lugar el investigador ha de profundizar en la etiopatogenia del proceso en el ser humano y sólo entonces podrá proponer un modelo animal concreto para reproducir la enfermedad **(86)**.

Por otro lado, en todo proyecto de investigación en el que se utilicen animales, hay que señalar los métodos alternativos rechazados y justificar la causa.

Todo proyecto de investigación en el que se van a utilizar animales como reactivo biológico, ha de seguir las siguientes directrices generales: **(87,88)**.

- 1- Seleccionar el modelo animal adecuado : especie, cepa, sexo, edad, etc.
- 2- Justificar el número de animales seleccionados, la selección del inóculo (dosis, vía de administración, frecuencia) y la determinación del punto final del experimento.
- 3- Realizar los procedimientos experimentales adecuados mediante personal humano experto capaz de reconocer el sufrimiento y dolor en los animales, para tratar de minimizarlo sin afectar al objetivo del experimento.
- 4- Realización de protocolos para el registro pormenorizado de las observaciones y de los datos obtenidos durante las diferentes fases del estudio.
- 5- Definir el método de eutanasia y la forma en la que el centro se va a deshacer de los cadáveres generados en el experimento.

El sacrificio del animal debe hacerse con el menor sufrimiento físico y psíquico posible.

El reactivo biológico

El uso de animales con un estado de salud deficiente en un estudio de experimentación, conduce inexorablemente a su fracaso.

El reactivo biológico son animales estandarizados con una composición genética y/o sanitaria definida. Están criados en un ambiente controlado que cumple los requisitos específicos para cada especie, con criterios de bienestar.

Con este objetivo se han diseñado animales libres de gérmenes (axénicos); con flora bacteriana o vírica conocida (gnotobióticos) y libres de gérmenes patógenos específicos (SPF).

La homogeneidad genética de estos animales permite que la composición genética no pueda ser considerada como una interferencia en los resultados de la investigación.

Las adecuadas condiciones de vida y el manejo de los animales de laboratorio deben ser las apropiadas para cada especie. Los animales deben vivir en un entorno ideal (iluminación, temperatura, espacio físico del habitáculo, ventilación, ausencia de ruido y polvo, alimentación, etc.) para satisfacer sus necesidades fisiológicas y de conducta entre individuos de la misma especie.

1.9.2 La importancia del modelo animal para el desarrollo de nuevas vacunas para prevenir la tuberculosis

La utilización de las nuevas tecnologías ha permitido el desarrollo de nuevas vacunas destinadas a la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas y no infecciosas.

La investigación de los nuevos modelos de vacunas presenta más dificultades con respecto a la investigación farmacológica, debido a la complejidad de los antígenos y sus procesos de producción (89).

Los animales de experimentación han sido y serán unos de los pilares de la investigación de las enfermedades en humanos, ya que los hallazgos encontrados en el modelo animal son extrapolables al ser humano. Desde los tiempos de R. Koch existen dos aspectos negativos que todavía son vigentes: en ocasiones el modelo animal no nos proporciona la información adecuada sobre el mecanismo general que subyace a la resistencia natural y a

la respuesta inmune protectora frente al *M. tuberculosis*. Por otro lado, la evaluación cuantitativa de los mecanismos de adaptación del huésped en la TB es diferente entre los animales de experimentación y humanos.

En el caso de las vacunas destinadas a los humanos, la elección del tipo de modelo animal es esencial. El animal de experimentación escogido en cualquier ensayo debería tener muchas similitudes inmunológicas y anatómicas con el humano para poder extrapolar los hallazgos a la práctica médica **(90)**.

La definición de eficacia en la protección inmunológica de una vacuna en los animales de experimentación se estipula cuando existe una significativa mejoría estadística de los indicadores seleccionados (carga bacteriológica, magnitud de la afectación pulmonar y ganglionar, etc.) con respecto al grupo control **(91)**. En humanos la eficacia de una vacuna se define como la prevención de la enfermedad tuberculosa usando indicadores clínicos.

De todo lo dicho anteriormente, puede decirse que algunos modelos de vacunas utilizados en animales pueden inducir a la esterilización bacteriana completa, aunque este nivel de protección absoluta es poco frecuente y no se considera esencial para la selección de una vacuna.

Por motivos económicos y de accesibilidad algunas especies han sido ampliamente utilizada en los proyectos de investigación.

Los animales utilizados con mayor frecuencia en la TB experimental incluyen: ratones, ratas, cobayas, conejos, *minipigs* y primates no humanos.

El modelo roedor

En los últimos 20 años ha sido el más utilizado en la experimentación clínica relacionada con el tratamiento, así como en el conocimiento de los efectos producidos con el uso combinado de los antimicrobianos **(92,93)**.

La mayor importancia de este modelo radica en su bajo coste, aunque presenta desventajas sustanciales, ya que no reproduce de una forma exacta los mecanismos de protección en humanos. Los granulomas tuberculosos del ratón presentan una organización diferente en varios aspectos respecto a los humanos. A pesar de estas desventajas, el modelo ratón continua siendo el primer eslabón de los candidatos a vacunas **(89)**.

El modelo cobaya

Koch usó el modelo cobaya para demostrar sus hipótesis sobre el conocimiento del agente bacteriano responsable de la TB. Debido a que estos animales no podían contraer la enfermedad de forma natural, se les inoculó con cultivos puros de un patógeno que rápidamente desarrollaba la TB activa con signos clínicos característicos observados previamente en pacientes humanos (92).

La cobaya ha facilitado nuestro conocimiento de la resistencia natural a la TB. Es mucho más barata que los primates y con menores condicionantes éticos. Las lesiones granulomatosas son similares a los humanos (90).

Debido a la alta susceptibilidad al *M. tuberculosis*, son usadas con frecuencia en los estudios preclínicos de las vacunas.

El modelo conejo

La principal característica de este modelo animal es que los granulomas pulmonares siguen las mismas etapas que en el hombre, es decir caseificación, licuefacción y la cavitación. (94). Este modelo se utiliza para la evaluación de la patogénesis y las nuevas líneas de tratamiento.

El modelo minipig

Las analogías en la arquitectura del parénquima pulmonar y del árbol traqueobronquial entre el *minipig* y los seres humanos, permiten considerar este modelo experimental como de gran importancia para el estudio de la TB.

La arquitectura básica del parénquima pulmonar en humanos está subdividida por septos de tejido conjuntivo (interlobulillares e intralobulillares) que proporcionan una estructura lobular poliédrica en la que discurren vasos y bronquios. Los cerdos, cabras, caballos y primates comparten este patrón estructural pulmonar a diferencia del resto de modelos de experimentación animal (95).

Primates no humanos

En 1996 Walsh y colaboradores demostraron que la inoculación a bajas dosis de *M. tuberculosis* en los monos no producía necesariamente una infección fulminante por lo que podría ser un modelo animal adecuado en la tuberculosis experimental. En este artículo se

demuestra que el modelo primate puede reproducir la infección tuberculosa en todas las fases evolutivas observadas en humanos (96).

Las lesiones hipóxicas pudieron ser confirmadas con este modelo animal.

La capacidad de los monos de desarrollar ITBL es un dato esencial para escoger este modelo para estudiar la infección latente en humanos (90,96).

La respuesta inmune y la anatomía patológica es similar en humanos y primates. Los estudios deben ceñirse a criterios estrictos de bioética. Por lo tanto, los experimentos realizados con primates no humanos deberían estar restringidos a aquellos diseñados en las fases finales de la investigación, precediendo a los ensayos clínicos de las vacunas y de la eficacia terapéutica de los antimicrobianos en humanos.

1.9.3 Patogénesis de la TB Experimental

La respuesta inflamatoria es similar en humanos y animales, mientras que las diferencias están relacionadas con la tasa progresión y la formación de los tipos de lesiones.

Las lesiones en todas las especies corresponden a una mezcla de macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y granulocitos que invaden el parénquima pulmonar. El predominio de macrófagos que difieren morfológicamente (células gigantes multinucleadas o mono nucleadas) al igual que su activación y diferenciación son característicos de la infección por micobacterias (97).

La dificultad principal en el modelo humano está en relación con sus múltiples formas de presentación influenciadas por múltiples factores (nutricionales, coinfección con el virus del VIH, diabetes, etc.)

Está ampliamente aceptado que la formación de granulomas tuberculosos indica una respuesta favorable del huésped para contener al bacilo y a su vez prevenir su progresión y propagación. Sin embargo, los granulomas especialmente cuando se acompañan de necrosis pueden representar una barrera para el tratamiento.

1.9.4 Anatomía Patológica en la TB Experimental

Lesiones sólidas o no necróticas

Corresponden a una respuesta inflamatoria granulomatosa no supurativa que precede a la formación del granuloma clásico.

Son muy características de las lesiones secundarias bien caracterizadas con el modelo cobaya. En este modelo las lesiones secundarias se originan por una reinfección vía hematológica durante la fase de bacteriemia. La ausencia de necrosis y calcificación en este modelo animal está íntimamente ligada a una respuesta inmune adaptativa que coincide en el momento de la bacteriemia (97). Las lesiones secundarias de los individuos tratados se resuelven y previenen la progresión de la enfermedad. Sin embargo, en ocasiones algunas lesiones quedan sin resolver pero curan mediante fibrosis y calcificación. La respuesta beneficiosa de las cobayas tratados mediante BCG se atribuye a esta inmunidad adaptativa. En el modelo cobaya la BCG previene de la necrosis y calcificación de las lesiones primarias cambiando las lesiones necróticas a sólidas.

La necrosis caseosa o granuloma

Se define como la respuesta del huésped humano y de algunos animales a la infección.

La necrosis produce daño tisular irreversible que puede curarse mediante fibrosis, calcificación y osificación. Los bacilos secuestrados en su interior son más tolerantes (transigentes) al tratamiento.

Los animales que desarrollan necrosis con mayor frecuencia son: primates no humanos, conejos, cobayas, ratas y algunas cepas de ratón.

La etiopatogenia de las lesiones necróticas es desconocida.

El papel esencial de los neutrófilos en la necrosis caseosa se explica por el hecho de que los tejidos infectados por *M. tuberculosis* se comportan como zonas preparadas de manera que las células contenidas son especialmente sensibles al TNF-*, sintetizado por los macrófagos infectados, provocando una necrosis local. Los neutrófilos son esenciales para el desarrollo de esta necrosis caracterizada por la presencia de trombos en los pequeños vasos, infiltración de neutrófilos y posterior infiltración de macrófagos y linfocitos (95).

Fases evolutivas de los granulomas pulmonares

La caracterización histopatológica de 235 lesiones pulmonares en 37 minipigs infectados por *M. tuberculosis* realizada por Gil y cols., (95) permitió observar diferentes tipos de granulomas cuya diferencia estaba relacionada con el tiempo de evolución de los mismos. Es el primer trabajo en la literatura en el que se describe la evolución de las lesiones

tuberculosas en el animal de gran tamaño, que podría ajustarse a la visión tradicional del control de la infección en humanos.

Los granulomas en fases iniciales se parecían a las lesiones vistas en ratones con una mezcla desorganizada de macrófagos, neutrófilos y linfocitos, mientras que en estadios más avanzados las lesiones estarían mucho más organizadas, con un aspecto simétrico y encapsuladas. En estas fases tardías, la reducción de la celularidad periférica y el incremento de la mineralización son frecuentes.

En relación con lo dicho anteriormente, estos autores clasificaron a los granulomas tuberculosos en cuatro fases acorde con sus características estructurales más reconocibles:

Fase I: Granulomas caracterizados por la presencia de una infiltración irregular sin necrosis intragranulomatosa.

Fase II: Aparecen los primeros signos de necrosis que se manifiestan como una área opaca en el interior de la infiltración.

Fase III: Ocurre cuando la mineralización domina en la lesión, dando la apariencia de una área brillante opaca que se convierte en compacta y tiene consistencia cartilaginosa. Este signo está relacionado directamente con la fibrosis y no se demuestra en las lesiones precoces.

Fase IV: Se aprecia un claro predominio de la mineralización con una fina infiltración periférica.

Es sabido que tanto la fibrosis como la respuesta antiinflamatoria restringen la llegada de nuevos macrófagos que deberían fagocitar los cuerpos apoptóticos, lo que permite su acumulación favoreciendo la mineralización.

La calcificación o mineralización puede estar promovida por la destrucción de macrófagos espumosos mediante dos vías diferenciadas: la necrosis intragranulomatosa y la fosfatidilserina, fosfolípido que promueve la acumulación de calcio. Ambos factores contribuyen al control de carga bacilar, demostrado en el modelo cobaya.

Lesiones hipóxicas

La hipoxia producida por la alteración estructural del parénquima pulmonar tras la inflamación y necrosis es un factor determinante en la patogénesis de la enfermedad tuberculosa. El crecimiento y los índices de replicación del *M. tuberculosis* (aerobio

estricto) en medios con hipoxia están muy limitados por lo que es menos susceptible al tratamiento antimicrobiano.

Cuando la TB progresa y destruye extensas áreas pulmonares produce hipoxemia e insuficiencia respiratoria.

Lesiones mineralizadas y calcificadas

La mineralización y/o calcificación distrófica aparece por el depósito de sales de calcio mixtas en los tejidos necrosados. Los depósitos de hidroxapatita encontrados tienen la misma composición que los huesos y dientes.

Su presencia corresponde a un proceso progresivo que es considerado como respuesta favorable a la curación.

El grado de calcificación está influenciado por factores endógenos inhibidores de la calcificación.

Si la calcificación es parcial, algunos bacilos viables pueden reactivarse o ser tolerantes al tratamiento.

La calcificación completa corresponde a una respuesta favorable a la curación.

Lesiones residuales necrosadas con persistencia del *M. tuberculosis*.

La persistencia de las lesiones necróticas parcialmente calcificadas en lesiones primarias se puede comparar a la estructura biofilm (Comunidades de microorganismos que crecen adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo, embebidas en una matriz que ellas mismas han creado). Este hallazgo se asocia habitualmente en lesiones fibrocicatriciales crónicas observadas en cobayas y ratones (97).

La bacteria asociada a biofilm suele ser resistente a los antimicrobianos e inaccesible a la inmunidad humoral.

El hierro puede tener un papel destacado en la patogénesis de la formación del biofilm. Puede estar relacionado con la etiopatogenia de la necrosis de la lesión primaria (97).

Lesiones cavitadas

Consideradas como las lesiones más destructivas y de peor pronóstico de la TB en humanos. Las lesiones necróticas en relación con las vías aéreas son el prelude de la cavitación. El contenido de las lesiones progresa de necrosis caseosa a licuefactiva con la

consecuente creación de grandes espacios inertes que sustituyen al parénquima pulmonar normal.

Los primates no humanos y conejos desarrollan con mayor frecuencia las cavitaciones pulmonares.

La comunicación entre las lesiones cavitadas y la vía aérea es un importante factor de riesgo para la transmisión de la enfermedad.

La formación de cavidades en el modelo animal con frecuencia aparece a continuación de la infección primaria a diferencia del humano.

Las lesiones cavitadas permiten la expectoración de los bacilos a través del árbol tráqueo-bronquial mediante la formación de aerosoles y el consiguiente contagio a nuevos pacientes. La respuesta inflamatoria contra el *M. tuberculosis* sería el resultado de una coadaptación entre huésped y el germen. Esto explica que aquellos huéspedes que desarrollan una respuesta inmune normal presentan lesiones muy destructivas, mientras que los pacientes inmunodeprimidos desarrollan una respuesta inflamatoria menos intensa que produce menor cavitación. Esta menor respuesta inflamatoria genera una mayor diseminación y por tanto, peor pronóstico (98).

1.9.5 Anatomía del aparato respiratorio del minipig

El tracto respiratorio del cerdo está dividido anatómicamente en dos partes : las vías aéreas superiores e inferiores, ambas separadas por la faringe. Las vías respiratorias superiores contienen la cavidad nasal y la nasofaringe. El tracto respiratorio inferior se inicia en la laringe y se prolonga en el interior del tórax con la tráquea, bronquios, bronquiolos y los pulmones.

La laringe contiene la epiglotis y las cuerdas vocales con una mucosa similar a los humanos. Forma un ángulo obtuso con la tráquea y presenta ventrículos laterales; ambas circunstancias representan un obstáculo a la intubación traqueal (99).

La tráquea del cerdo tiene de 32 a 36 anillos cartilagosos incompletos (en el humano el número de cartílagos traqueales es muy inferior) y se extiende desde la laringe hasta la carina donde se bifurca en los bronquios principales derecho e izquierdo. De su pared lateral derecha, a nivel del tercer espacio intercostal, se origina un bronquio para el lóbulo craneal derecho llamado bronquio traqueal (100) (fig. 25).

Las vías aéreas porcinas tienen una estructura más cartilaginosa que en los humanos aunque con un número similar de bifurcaciones bronquiales.

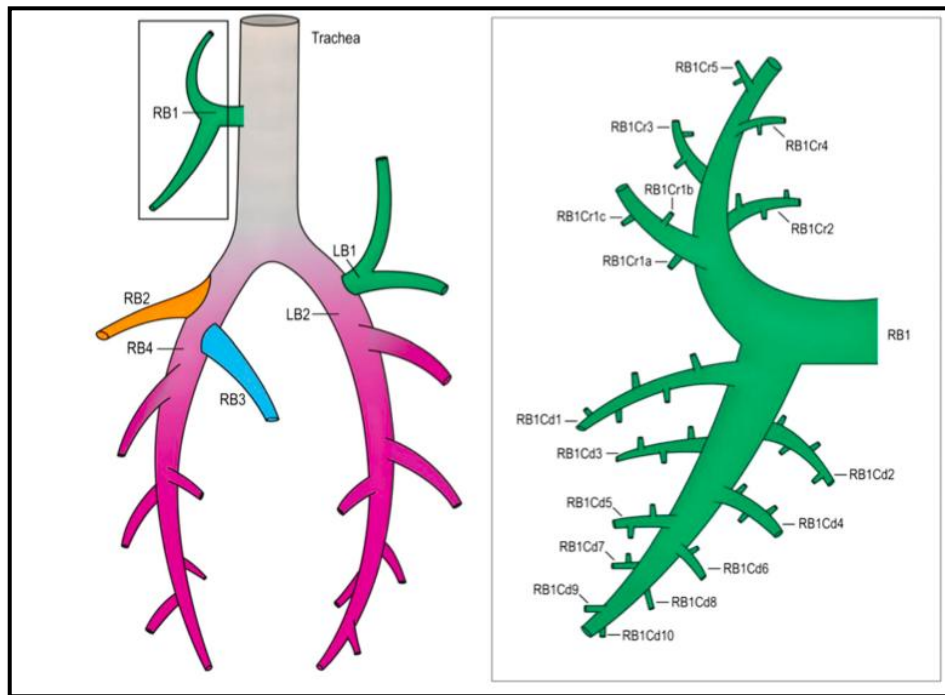


Figura 25. Esquema del árbol traqueobronquial del *minipig*

Ambos pulmones ocupan la mayor parte de la cavidad torácica, quedando entre ambos las estructuras mediastínicas. El pulmón derecho está dividido por cisuras en cuatro lóbulos: craneal (apical), medio (paracardíaco), caudal (diafragmático) y accesorio situado medialmente. El pulmón izquierdo se divide en lóbulo craneal, medio y caudal (**101**).

Los pulmones están envueltos por la pleura visceral que se refleja medialmente (ligamento pulmonar) entorno a la raíz del pulmón (región hiliar) hasta los órganos mediastínicos, paredes de la cavidad torácica y región diafragmática (pleura parietal). Entre ambas superficies pleurales se forma la cavidad pleural.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La evaluación mediante TC multidetector (TCMD) es útil para describir el curso de la TB en un modelo experimental de *minipig* y evaluar el efecto de las vacunas sobre este curso.

Con la finalidad de poder confirmar esta hipótesis, se ha elaborado esta tesis doctoral, planteando los siguientes objetivos:

1. Definir un protocolo técnico adecuado para el estudio del pulmón y árbol traqueobronquial del cadáver del *minipig* carente de aire en su interior.
2. Determinar las características radiológicas mediante TCMD de las lesiones derivadas de la infección tuberculosa en un modelo experimental de *minipig*.
3. Evaluar mediante TCMD el efecto de nuevas vacunas en el curso de la tuberculosis en el modelo experimental de infección tuberculosa en el *minipig*.

Estudio de la tuberculosis pulmonar mediante Tomografía Computarizada Multidetector en un modelo experimental de minipig

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO INICIAL DEL EXPERIMENTO

Se han utilizado 24 muestras (paquetes broncopulmonares) extraídas durante un experimento con *minipigs* conducido por la Unitat de Tuberculosi Experimental (UTE) en el Centre de Recerca en Salut Animal (CReSA) en el contexto de un proyecto europeo (NEWTBVAC) con el objetivo de evaluar la eficacia terapéutica en la protección contra la TB de tres nuevos candidatos a vacunas en un modelo experimental de ITBL. A todas las muestras pulmonares se les realizó una TCMD.

A continuación se detallan los materiales y métodos.

3.1.1 Infección con *Mycobacterium tuberculosis*

Veinticuatro hembras de *minipigs* libres de enfermedad fueron recluidas en corrales de experimentación siguiendo estrictas normas de alimentación y control veterinario desde el 9.07.2013 hasta el 10.12.2013.

En el día 0, a todos los animales se les inoculó la infección por vía intratraqueal con la cepa H37Rv Pasteur de *M. tuberculosis*. Esta maniobra fue realizada por personal experto que realizó una intubación con sedación. Se usó una cánula de 2 mm de diámetro que permitió inyectar en la luz traqueal 0,5 ml de *M. tuberculosis* seguido de suero salino al 0,9%. Esta operación permitió que cada *minipig* recibiera aproximadamente una dosis equivalente a 1×10^3 CFU de *M. tuberculosis*. Durante el procedimiento los experimentadores reportaron reflujo.

3.1.2 Tratamiento con candidatos a vacunas.

Los 24 animales fueron subdivididos en cuatro grupos de seis elementos cada uno. El tratamiento se administró de forma aleatorizada y a doble ciego en los cuatro grupos resultantes. El procedimiento se realizó dos veces en las semanas 6 y 9 después de la infección. Todos los productos fueron administrados por vía intramuscular.

Los animales fueron observados a diario con el fin de controlar la tolerancia y seguridad de la vacunación. Se siguieron todos los requerimientos éticos según la Directiva 86/609/EEC (sustituida en el año 2013 por 201/63/EU), relativa a la protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos. Todo el procedimiento experimental de nuestro estudio fue aprobado por el Comité Ético de Bienestar Animal de

la Universitat Autònoma de Barcelona y la Generalitat de Cataluña (Permiso número: 5796).

Durante este periodo de tiempo no se objetivaron reacciones adversas en los *minipigs* derivadas de la utilización de las vacunas ni tampoco se observaron signos clínicos de enfermedad infecciosa.

Los grupos generados fueron los siguientes: Grupo A (control). Grupo B (RUTI®). Grupo C (Candidato a vacuna 1). Grupo D (Candidato a vacuna 2).

En la tabla 5 se especifican los detalles del tratamiento realizado en los cuatro grupos de *minipigs*.

	TRATAMIENTO	DOSIS	VOLUMEN	VIA	DOSIS 1	DOSIS 2	ANIMALES TRATADOS
A	Suero salino	-	500 µl	i.m.	26.08.13	16.09.13	6
B	RUTI®	25 µl	500 µl	i.m.	26.08.13	16.09.13	6
C	Candidato a vacuna 1	82 µl	500 µl	i.m.	26.08.13	16.09.13	6
D	Candidato a vacuna 2	160 µl	500 µl	i.m.	26.08.13	16.09.13	6

Tabla 5. Detalles del tratamiento realizado a los cuatro grupos de *minipigs*.

3.1.3 Estudio histopatológico y microbiológico

Todos los animales fueron sacrificados a las 12 semanas de iniciar el estudio con una inyección endovenosa de pentobarbital sódico.

Durante la necropsia se extirpó el paquete broncopulmonar con los ganglios traqueo bronquiales y cervicales para su análisis patológico y bacteriológico. Los paquetes broncopulmonares fueron fijados con formol al 10% para su posterior estudio mediante el TCMD y examen histopatológico. El material restante fue destruido mediante incineración.

Posteriormente se realizó una evaluación exhaustiva de la afectación broncopulmonar así como de los ganglios linfáticos torácicos y cervicales.

Las lesiones macroscópicas visibles durante la necropsia fueron fotografiadas, registradas y archivadas.

Los paquetes broncopulmonares fueron fijados con formol al 10% durante un mínimo de 1 mes para su estudio mediante el TCMD y posterior examen histopatológico.

Se enumeraron los ganglios hiliares, mediastínicos y cervicales aumentados de tamaño y se midió el diámetro de cada adenopatía para establecer un cálculo aproximado de su volumen.

El procesamiento bacteriológico de los ganglios torácicos y cervicales se hizo por separado. El mismo patólogo realizó todas las mediciones para evitar sesgos.

La eficacia de la vacuna se evaluó en base al aumento del volumen ganglionar y a la carga bacteriológica. El estudio volumétrico ganglionar se hizo mediante la fórmula de cálculo del volumen de una esfera descubierto por Arquímedes ($\frac{4}{3} \times \mu \times r^3$) en base a la morfología esférica de la mayoría de las adenopatías afectas.

Todos los ganglios fueron procesados con cultivos bacteriológicos. El conteo de las colonias se realizó 28 días después de su incubación a $37^\circ \text{C} \pm 1,5^\circ \text{C}$. Los datos obtenidos fueron registrados y analizados.

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO DE DIAGNÓSTICO POR LA IMAGEN CON TCMD. PLAN DE TRABAJO.

Nuestro experimento se realizó en dos fases: La primera destinada a la realización de la exploración de diagnóstico por la imagen mediante TCMD de los 24 paquetes pulmonares previo al examen histológico. Caracterizadas y registradas las imágenes obtenidas en esta primera fase, procedimos a contrastar los hallazgos radiológicos e histopatológicos. En la necropsia se hicieron cortes transversales de aproximadamente un centímetro de grosor en todo el parénquima pulmonar. Cada sección fue analizada exhaustivamente por dos miembros de la UTE para su correcta caracterización. Se determinaron cuatro tipos de lesiones pulmonares que fueron registradas y fotografiadas.

La segunda fase de nuestro experimento se fundamentó en la correlación entre la semiología de los hallazgos radiológicos y la histología.

Se seleccionaron varios lóbulos pulmonares que presentaban múltiples lesiones y se les realizó un TCMD con las mismas características técnicas que en la primera etapa para conocer si las imágenes eran concordantes con los datos patológicos. Se procedió al estudio individualizado por TC de cada sección lobar y se procesaron las imágenes obtenidas para su posterior confrontación con los hallazgos patológicos.

3.3 PRIMERA FASE: ESTUDIO CON TCMD DE LOS 24 PAQUETES PULMONARES

3.3.1 Medidas de seguridad del procedimiento

Debido a la ausencia de antecedentes en la manipulación y traslado de material biológico en las instalaciones del Hospital, el Servicio de Radiología y la UTE solicitaron los pertinentes permisos a la Dirección Gerencia y Dirección Médica del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol para poder utilizar a tiempo parcial la sala de exploraciones donde está ubicada la TC en las instalaciones del Servicio de Radiología, lugar donde transitan múltiples personas a diario.

La Dirección del Hospital nos requirió una serie de documentos para poder iniciar el estudio:

- 1- Documento de compromiso del grupo investigador conforme el procedimiento se realizaría con todas las garantías de asepsia y seguridad.
- 2- Documento realizado por el Servicio de Radiología donde debería acreditarse toda la secuencia de acciones antes, durante y después del estudio, con el fin de proteger a los pacientes y al personal sanitario. El Servicio debería aportar un calendario de las actividades incluyendo el número de exploraciones, horario y tiempo aproximado del uso de la sala.
- 3- Escrito de pronunciamiento del Coordinador de la Patología Infecciosa en el que expresara si podría existir riesgo nosocomial así como su aprobación a las medidas operativas propuestas.
- 4- Comunicación a los servicios jurídicos del Institut Català de la Salut (ICS) conforme no existía ninguna limitación para el uso ocasional de las instalaciones de radiología en un proyecto de investigación con órganos de animales de elevado interés para el centro.

Una vez conseguida la documentación requerida, ésta fue presentada a la Dirección Médica, que autorizó la investigación de inmediato.

Aislamiento de las muestras

Los animales sujeto del estudio estaban libres de enfermedades infecciosas (*specific pathogen free*) y estuvieron confinados en un estabulario de alta seguridad durante la realización del experimento. Una vez infectados con el *M. tuberculosis* y sacrificados según el protocolo de actuación habitual, se extrajo el paquete pulmonar en condiciones de estricta asepsia. Inmediatamente después, el material obtenido se mantuvo durante dos meses en formol manteniendo su esterilidad.

El día anterior a la realización de la TC, el formol de los pulmones fue sustituido por agua durante toda la noche para evitar las molestias que pudieran aparecer con su uso (irritación ocular, olor desagradable, etc.).

Los pulmones sólo estuvieron fuera del recipiente que los contenía durante pocos minutos y una vez finalizada la prueba volvieron a ser inundados en formol.

Para mayor seguridad para el personal manipulador, todas las muestras pulmonares fueron introducidas en doble bolsa transparente de auto cierre tipo Zip que fueron debidamente selladas (fig. 26).

De esta forma se aseguró la esterilidad de la actuación durante todo el proceso.

El paquete pulmonar precintado y debidamente identificado se trasladó al Servicio de Radiodiagnóstico en una bandeja con la estricta supervisión del personal médico de la UTE.

Una vez las bolsas selladas con las muestras en su interior fueron retiradas del Servicio de Radiodiagnóstico, el equipo y el material utilizado, así como las instalaciones del Servicio fueron limpiadas con alcohol de 70° C y posteriormente desinfectadas siguiendo el protocolo de limpieza del hospital ante situaciones de peligro de contaminación.



Figura 26. Paquete pulmonar precintado mediante dos bolsas transparentes selladas herméticamente

Traslado de las muestras al Servicio de Radiología

Con el fin de no interferir con la actividad asistencial diaria, el Servicio de Radiología y la UTE, elaboraron un calendario conjunto para la realización de las exploraciones.

Acordamos que el primer día del experimento sólo realizaríamos un paquete pulmonar para poder tener tiempo para analizar los aspectos técnicos del estudio y hacer las pruebas necesarias para optimizar las imágenes obtenidas. El calendario de los estudios realizados se expone a continuación en la tabla 6.

FECHA	IDENTIFICACIÓN <i>MINIPIG</i>	NUMERO
30.01.2014	P218542	1
31.01.2014	P218552 / P218562	2
04.02.2014	P215379 / P218508 P218527 / P218551	4
10.02.2014	P218492 / P210510 P218543	3
11.02.2014	P218494 / P218528 P315404/P315427/P315428	5
12.02.2014	P218522 / P315371 P315402/P315405/P218529	5
14.02.2014	P218493 / P218561 P218563 / P315439	4

Tabla 6. Calendario y número de *minipigs* realizados en cada sesión

Los especímenes sellados fueron transportados por el personal médico de la UTE a la sala de exploraciones de la TC, ubicada en la planta baja del Hospital. En el interior de la sala, el personal sanitario del servicio con la supervisión de los miembros de la UTE, se hicieron responsables de todos los pasos a seguir para la correcta ejecución y seguridad de las exploraciones.

3.3.2 Descripción de la realización del TCMD: aspectos técnicos

El equipo de imagen utilizado en todos los paquetes pulmonares ha sido la TC multidetector GE LightSpeed VCT 64 Slice CT, con una consola del operador GOC5 donde se realizó el preprocesado y procesado de las imágenes y dos estaciones de trabajo clínico Advantage AW 4.3 – 07 para el análisis de las imágenes obtenidas (pos procesado).

GE LightSpeed VCT Slice CT

A continuación se describen las características técnicas del equipo utilizado para la realización del estudio (tablas 7-12).

TIPO	CAPACIDAD TÉRMICA ANODO	VELOCIDAD DE ENFRIAMIENTO	VIDA MEDIA
Performix Pro VCT 100	8 MHU	1782 KHU/min	6000 disparos

Tabla 7. Tubo de rayos X y colimador

MATERIAL	CANALES	COBERTURA	DATOS SIMULTANEOS	DETECTORES POR FILA
Hilight	64	64 x 0,625 mm	64	888

Tabla 8. Detectores/Sistema de adquisición de datos

TIPO	POTENCIA	REFRIGERACION
Alta frecuencia	100,2 kW	Por aire

Tabla 9. Generador de rayos X de alta frecuencia

MATERIAL	LIMITE DE PESO	MEDIDAS Largo/Ancho	RANGO VERTICAL
Fibra de Carbono	227 Kg	285 x 42 cm.	43-99 cm

Tabla 10. Mesa de LightSpeed VCT

kV	FOV	MAX. mA	CORTE MÁS FINO	PITCH
80,100,120,140	32,36,50 cm	80kV-675mA	0,625 mm	0,516 / 0,513
		100kV-700mA		0,984 / 0,969
		140kV-700mA		1,375

Tabla 11. Parámetros de adquisición

MATRIZ	MAXIMO/MINIMO FOV	IMÁGENES x SEGUNDO
512 X 512	50 / 9,6 cm.	16

Tabla 12. Reconstrucción de la imagen

El equipo LightSpeed VCT utiliza una consola GOC5 que permite la identificación, manipulación y realización de la exploración. El posprocesado de todas las imágenes obtenidas se realizó en las estaciones de trabajo Advantage AW 4.3-07.

3.3.3 Plan de trabajo y diseño del estudio

Preprocesado y procesado de las imágenes

Una vez analizados los problemas potenciales que podríamos encontrarnos decidimos empezar nuestro experimento con un único paquete pulmonar (P218542) el día 30.01.2014 que usamos como punto de referencia para el resto del estudio.

La ausencia de aire pulmonar dificultaba la evaluación de las imágenes de los especímenes con los métodos de imagen TC habituales. Consideramos que los pulmones inundados en formol de los *minipigs* deberían tener una densidad similar al hígado de los humanos. Inicialmente aplicamos los parámetros técnicos como si el sujeto a estudio fuera un hígado de pequeño tamaño.

Decidimos que cada paquete pulmonar sería escaneado en dos posiciones : decúbito prono o ventral (cara diafragmática en contacto con la camilla o *down*) y decúbito supino o dorsal (cara diafragmática *up*).

Colocación de los paquetes pulmonares

Inicialmente las ejemplares fueron correctamente alineados y centrados mediante el uso de tallas, soportes o cojines con el objetivo de mantener los paquetes pulmonares totalmente horizontales y en el centro de la mesa para conservar la simetría de la imagen.

Antes de iniciar el estudio el operador del equipo inspeccionó la mesa y accesorios con el fin de detectar objetos metálicos que pudieran producir artefactos durante el examen.

La mesa se ajustó a la altura adecuada para colocar el espécimen en el centro del campo de exploración. El siguiente paso consistió en utilizar el marcador luminoso láser para centrar el objeto e introducirlo en el gantry, desplazando la mesa hasta la posición de inicio del estudio.

Posición en decúbito prono: las muestras precintadas fueron colocadas estiradas siguiendo su eje craneocaudal con la cara diafragmática en contacto con la mesa de TC. La posición de la tráquea era *out* y lóbulos pulmonares caudales en *in* según muestra la figura 27.



Figura 27. Posición en decúbito prono del paquete pulmonar sobre la camilla situada en el interior del gantry del equipo de TCMD

Posición en decúbito supino: Igual que en decúbito prono pero con la cara diafragmática “up”. (fig. 28)

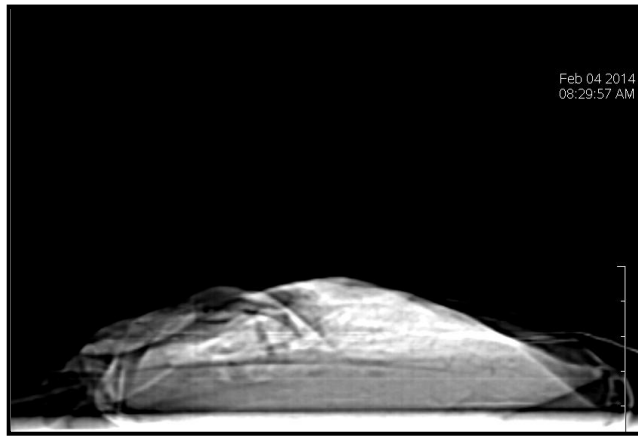
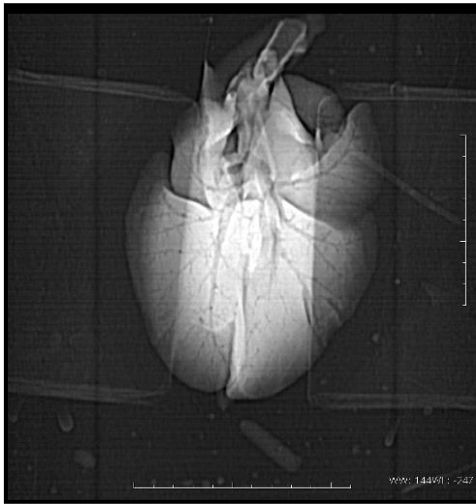


Figura 28. Posición del paquete pulmonar en decúbito supino

Realización del topograma o Scout View

El tubo de rayos X está estático y con un haz colimado, avanza la camilla y se genera una radiografía digital de baja calidad que nos permite planificar la exploración.

En nuestro experimento, realizamos el scout en dos proyecciones (frente y perfil) para poder delimitar con precisión el área anatómica a estudio (fig 29 y 30).



Figuras 29 y 30: Scout View frente y perfil

El protocolo técnico del *Scout View* utilizado está detallado en la tabla 13.

RECORRIDO DE MESA	Kv	mA	PLANO SCOUT	WINDOW LEVEL
27 cm.	100	10	90 perfil 0 frente	500/50

Tabla 13. Protocolo técnico del Scout View

Ajustes de los parámetros de adquisición

Acordamos iniciar la primera prueba utilizando el algoritmo técnico estándar para el estudio rutinario de la cavidad abdominal ajustando los valores al volumen de los paquetes pulmonares. Se realizaron los estudios en decúbito prono y en supino con los siguientes datos técnicos (Tabla 14).

TIPO DE EXPLORACION	Hélice
LONGITUD DE ROTACION	Full
TIEMPO DE ROTACION	0,8 segundos.
PITCH	0,9
ANGULACION DEL GANTRY	0
POSICION Y ORIENTACION	Decúbito supino y decúbito prono
TECNICA DE EXPOSICION	100 Kv / 350 mA
GROSOR E INTERVALO DE CORTE	0,625 x 0,625 mm.
SFOV	Tipo small body
MATRIZ	512 x 512
ALGORITMO DE RECONSTRUCCION	Estándar (partes blandas)
ANCHO Y NIVEL DE VENTANA	W : 350 L : 50

Tabla 14. Parámetros técnicos de las exploraciones TC realizadas a los 24 *minipigs*

Inicio de la adquisición, registro de los datos y producción de las imágenes obtenidas

Una vez decididos los fundamentos técnicos, el primer objetivo consistió en identificar correctamente el estudio con los datos del paquete pulmonar y de la propia exploración TC para evitar la pérdida de la información.

Con los parámetros técnicos citados la TCMD adquiere el volumen de interés y los datos detectados son recogidos y procesados en la estación del operador. Si el estudio se ajusta a los parámetros de calidad referidos, las imágenes obtenidas se transmiten al PACS y a las estaciones de trabajo clínico para su posterior análisis.

Todas las imágenes fueron examinadas por el propio operador que valoró las características técnicas de la exploración (calibración, endurecimiento del haz de rayos X o artefactos) y por tres médicos radiólogos que valoraron la calidad de las imágenes en base a parámetros resolución espacial, resolución de contraste, resolución temporal, relación señal-ruido y resolución isotrópica.

Analizado el estudio en su totalidad se decidió hacer varios ensayos cambiando la corriente del tubo (mA) y el voltaje (Kv) para intentar optimizar las imágenes sin tener en cuenta la dosis de radiación que es el objetivo esencial en las exploraciones TCMD diagnósticas en humanos e irrelevante en nuestro experimento. El resto de parámetros usados se consideraron óptimos para la realización de nuestro trabajo.

Las pruebas realizadas están especificadas en la tabla 15:

	1	2	3	4	5
Kv	100	100	120	120	120
mA	350	250	40	350	250

Tabla 15. Combinación de los parámetros de Kv y mA utilizados en las pruebas técnicas previas al estudio.

Los datos obtenidos de las cinco pruebas fueron procesados, identificados y enviados al PACS así como a las estaciones de trabajo clínico para su estudio comparativo en base a los criterios de calidad anteriormente citados.

Convenimos que la combinación de técnica y exposición que nos aportaba mejor calidad y resolución espacial era la opción 1 (100Kv y 350mA). Se decidió proseguir el resto de estudios con estos parámetros técnicos siguiendo el calendario estipulado.

Los 23 paquetes pulmonares restantes fueron realizados con una técnica idéntica al diseño piloto descrito sin observarse incidencias remarcables.

Durante este proceso, todas las imágenes fueron identificadas con los datos de filiación correctos de cada espécimen, día y hora así como las características técnicas de cada exploración.

Cada paquete pulmonar tenía dos códigos de identificación según la posición del estudio. Al número de identidad de cada *minipig* le precedía una P (ej. P218527) cuando la exploración se efectuó en decúbito prono y PDP en la posición de decúbito supino (ej. PDP218527).

Posprocesado. Análisis de las imágenes

Consideraciones previas:

Uno de los objetivos de nuestro experimento estaba basado en caracterizar la afectación de la TB pulmonar de los *minipigs* infectados. Durante el transcurso del experimento, ninguno de ellos mostró signos clínicos de infección activa. Por tanto, los hallazgos TC encontrados, podrían formar parte de las manifestaciones radiológicas de la ITBL.

Definimos que la lesión tuberculosa correspondería a cualquier imagen nodular visible en el interior del parénquima pulmonar de los especímenes. Dicha imagen nodular no debería confundirse con una estructura broncovascular normal vista en sección ni tampoco con las

imágenes de composición creadas por el contacto de estructuras parenquimatosas normales ni tampoco por artefactos.

Cada nódulo caracterizado debía tener una densidad superior al parénquima pulmonar adyacente, una morfología nodular u ovoidea en los tres planos del espacio. Las lesiones analizadas podían tener cualquier contorno, densidad y localización.

Después de evaluar las imágenes con las múltiples alternativas que nos ofrecen nuestros sistemas de visualización, resolvimos que la mejor opción de posprocesado era utilizar las imágenes de corte ultrafino (0,6 mm) en formato multiplanar (MPR) sin modificar su grosor. Otras técnicas de posprocesado (MIP, MiniMIP, VR) fueron utilizadas para completar el estudio en determinadas situaciones.

Se decidió valorar los siguientes hallazgos TC:

- 1- Número total de imágenes nodulares en los pulmones de los 24 *minipigs*.
- 2- Suma de las lesiones pulmonares en cada *minipig*.
- 3- Número de lesiones en cada pulmón por separado (derecho e izquierdo).
- 4- Cuantificación de la afectación nodular de cada lóbulo pulmonar en cada cerdo.
- 5- Diámetro en milímetros de cada una de las lesiones nodulares.
- 6- Valores de pixel (Unidades Hounsfield) de los nódulos.
- 7- Localización de cada nódulo en los tres ejes del espacio.
- 8- Distancia de los nódulos a la pleura más cercana

Las imágenes de los 24 paquetes pulmonares fueron examinadas utilizando el mismo algoritmo técnico y método de lectura.

El primer paso consistía en transferir todas las imágenes de cada estudio desde el PACS a la estación de trabajo y comprobar que toda la información trasladada era la correcta.

Estudio anatómico

Antes de cuantificar y caracterizar las lesiones pulmonares, decidimos realizar el estudio morfo-anatómico global de cada espécimen con la aplicación de Volume Rendering (VR). La información 3D de esta técnica nos permitió detectar las variantes individuales de tamaño, aspecto y disposición de las estructuras broncopulmonares.

El ajuste de la opacidad y color del VR son esenciales para que las imágenes obtenidas recuerden al modelo anatómico real. Dichos ajustes se hicieron manualmente intentando reproducir la textura, densidad y color de los paquetes pulmonares (fig. 31 y 32).

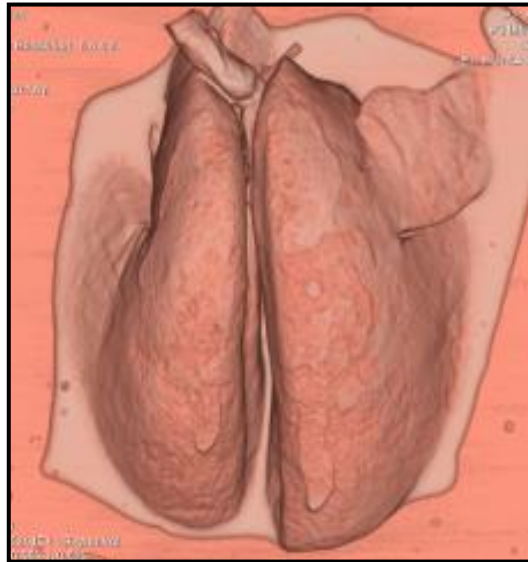


Figura 31. VR en posición decúbito prono

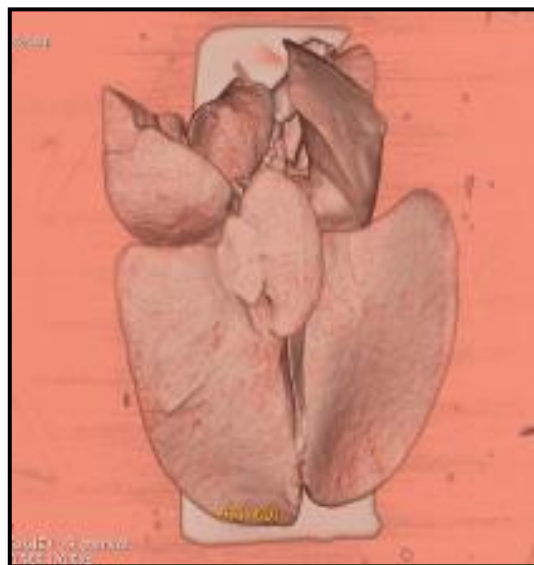


Figura 32. VR en posición decúbito supino

De cada posición (decúbito prono y supino) se realizaron dos proyecciones: frente y lateral. Las imágenes obtenidas fueron grabadas en un archivo de película electrónica con el resto de datos del estudio (fig. 33).

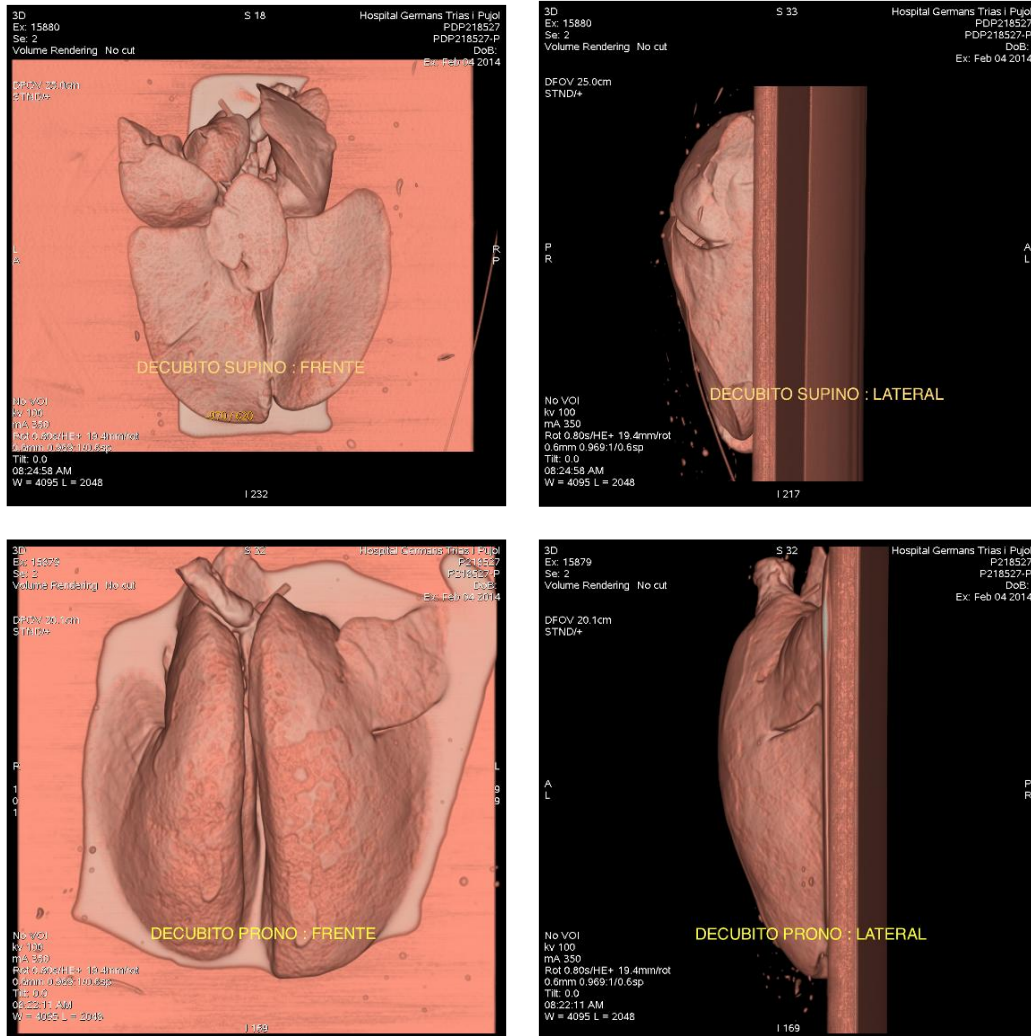


Figura 33. Diferentes proyecciones frente y perfil en cada una de las posiciones del estudio anatómico mediante VR

Estudio de las lesiones pulmonares

Previo a la caracterización de la afectación pulmonar se visualizaron todas las imágenes con reconstrucciones multiplanares y MIP. El método de examen consistía en hacer un barrido sistemático en los tres planos del espacio de ambos pulmones siguiendo su eje craneocaudal. Esta observación previa optimizó la planificación de nuestro análisis cuantitativo (fig. 34).

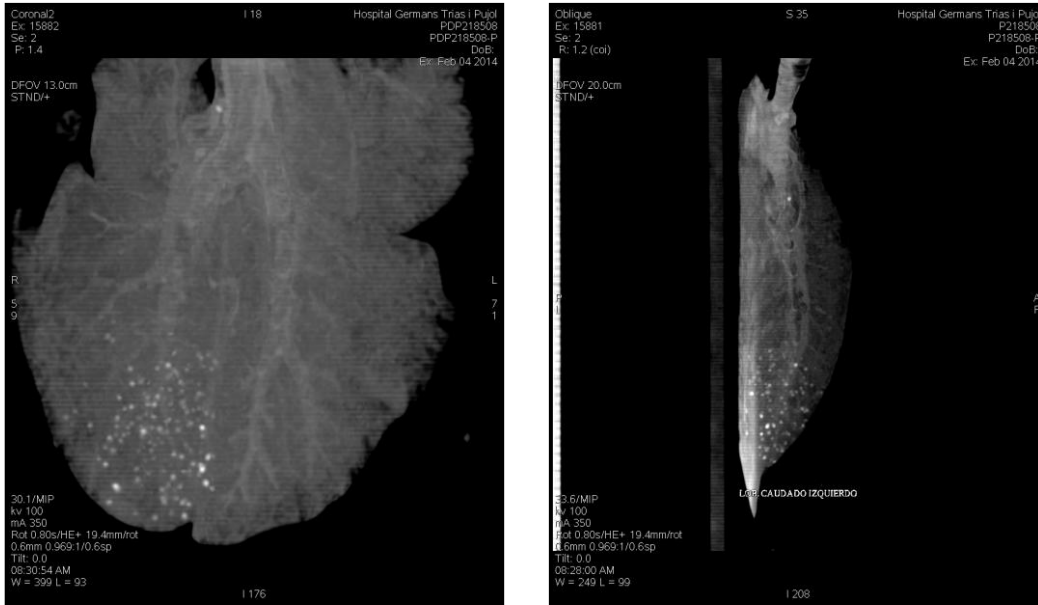


Figura 34. Estudio MIP en planos coronal y sagital previo a la caracterización individual de las lesiones

La caracterización individualizada de cada nódulo pulmonar se realizó exclusivamente en la posición de decúbito prono o ventral. La posición en decúbito supino o dorsal se utilizó exclusivamente como ayuda técnica en algunas situaciones.

Las imágenes nodulares pulmonares consideradas como patológicas fueron evaluadas, caracterizadas y registradas en el MPR con los mismos parámetros técnicos (Tabla 16).

Grosor de corte	Window / Level	DFOV
0,6 mm	400 / 40	13 centímetros

Tabla 16. Parámetros técnicos de grosor de corte, window level y DFOV

El área de visualización de la pantalla se dividió en cuatro para registrar simultáneamente la localización de cada nódulo en el plano axial (2), coronal y sagital. En uno de los dos registros en el plano axial se midió el diámetro de cada nódulo en milímetros con un DFOV de 5.0 cm. Los planos coronales y sagitales fueron analizados con un DFOV de 20,5 cm, mientras que la reconstrucción en el eje axial fue de 13 cm. En este plano axial se realizaron las coordenadas de localización, enumeración y medición de las unidades Hounsfield de cada nódulo.

La distancia entre los nódulos y la superficie pleural más cercana fue examinada en los tres ejes del espacio. Una vez decidida la longitud más corta y el plano adecuado, se midió esta

distancia en milímetros. Los datos adquiridos fueron registrados en una única imagen con un DFOV de 20.0 cm.

De todo lo expuesto anteriormente se deduce que cada nódulo pulmonar fue caracterizado y registrado en cinco imágenes diferentes para su investigación (fig. 35).

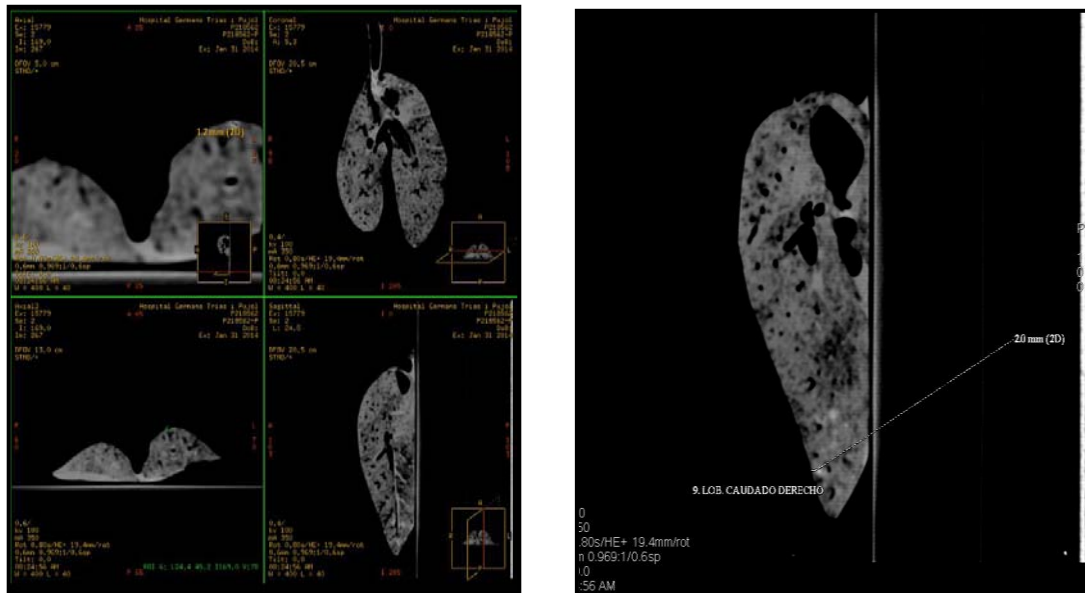


Figura 35. Formato y división de las áreas de visualización de las imágenes multiplanares

En ningún caso se formalizó la evaluación múltiple de varios nódulos en una misma imagen para evitar confusiones en la identificación de las lesiones estudiadas.

El software del posprocesado que disponemos en nuestras estaciones de trabajo, posee una aplicación que nos permite enumerar e identificar cualquier punto de un objeto de una forma sencilla y rápida. Podemos seleccionar cada uno de los nódulos pulmonares de cada *minipig* haciendo un clic con el cursor de posición (3D). Cuando se marca el primer nódulo de un estudio, el programa le asigna de forma automática el número uno. La imagen nodular seleccionada queda marcada en la imagen con su número identificativo permitiendo su individualización durante todo el proceso de análisis. Al siguiente nódulo seleccionado el programa le ordenará como número dos y así sucesivamente hasta concluir el estudio. Con este método podemos saber con precisión el número total de nódulos caracterizados evitándose los errores propios del análisis manual.

El cursor de posición no sólo ordena y enumera las lesiones seleccionadas sino que nos proporciona las coordenadas anatómicas (Izquierda-derecha, craneal-caudal, anterior-posterior) y los valores de pixel en Unidades Hounsfield (V) de los nódulos examinados.

El centro exacto del campo de visualización de las imágenes procesadas corresponde al punto cero de las coordenadas de localización. Si el punto elegido se emplaza 23,7 mm a la derecha y 13,4 mm anterior al centro de la imagen, éste será registrado como R23,7. A13,4. El eje cráneo-caudal viene determinado por la posición exacta de la posición de la mesa precedido por la letra I (Ej. I123,6).

Este método localiza exactamente cualquier punto en los tres ejes del espacio de campo de visualización del estudio que engloba los paquetes pulmonares y su entorno. Si queremos localizar cada punto en el interior del volumen de los pulmones es imprescindible acotar el campo del estudio mediante unas nuevas coordenadas que reflejen las dimensiones de volumen de los paquetes así como algún punto guía anatómico de referencia.

Se decidió establecer unas nuevas coordenadas con el fin de caracterizar el volumen pulmonar marcando 7 puntos característicos: 1 Carina. 2. Límite derecho pulmonar. 3. Límite izquierdo pulmonar. 4. Límite posterior pulmonar. 5. Límite anterior pulmonar. 6. Límite craneal. 7. Límite caudal (fig. 36). Estos siete puntos nos permitieron conocer el volumen total de ambos pulmones y la posición exacta de cada lesión pulmonar.

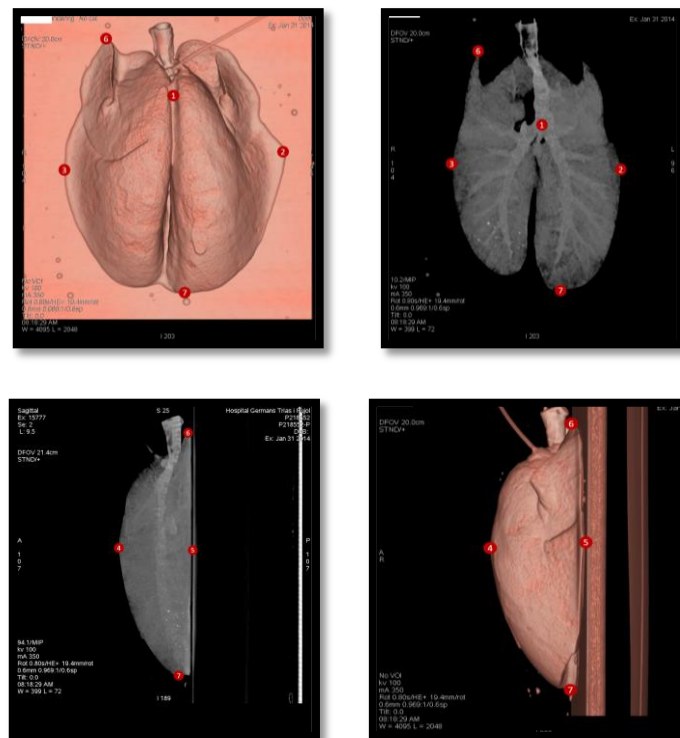


Figura 36. Registro TC multiplanar de las 7 coordenadas anatómicas

Los datos sincronizados de los ejes de los nódulos observados con las coordenadas del volumen global de los pulmones nos permitió hacer un estudio topográfico de la localización de la afectación pulmonar tuberculosa. Los datos adquiridos nos ayudaron a desarrollar hipótesis de algunos de los mecanismos que podrían intervenir en el patrón de diseminación broncopulmonar de la TB.

Los valores de pixel (V) en unidades Hounsfield de las lesiones eran registrados automáticamente al marcar cada nódulo con el cursor de posición 3D. El valor V corresponde a la media de las UH en el punto seleccionado. El tamaño, muchas veces subcentimétrico, de las imágenes nodulares observadas, constituyó un inconveniente técnico en la exactitud de los valores del coeficiente de atenuación registrados ya que medíamos un punto y no toda el área de la lesión. De todas formas, las limitaciones tecnológicas reseñadas no representaron ningún sesgo en nuestro experimento. El proceso de análisis manual sistemático de la afectación pulmonar incrementó la seguridad y fiabilidad en la caracterización de las lesiones.

Todas las imágenes y los datos de cada nódulo fueron grabados en formato de película electrónica.

Al acabar el estudio TC de todos los nódulos de cada paquete pulmonar se revisaron las imágenes. Todas las imágenes y medidas adquiridas fueron etiquetadas y grabadas para su posterior examen estadístico.

3.3.4 Métodos estadísticos

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se ha realizado en una primera fase de lectura y validación de la base de datos. Con posterioridad se ha procedido el análisis estadístico.

La organización, administración y análisis inicial de los datos de nuestro estudio fue realizado con el software de hoja de cálculo Axel: mac 2011.

Se ha trabajado conjuntamente con el grupo de investigación MOSIMBIO de la Universitat Politècnica de Catalunya, integrado por físicos, matemáticos e ingenieros agrónomos y también con la colaboración de un estudiante de cuarto año de grado de ingeniería física que realizó el estudio matemático de nuestro experimento como trabajo de fin de grado.

El cálculo numérico, el análisis y visualización de los datos así como la creación de interfaces gráficas se realizó mediante el entorno de cálculo técnico MATLAB.

Para comparar la localización de las lesiones pulmonares entre un *minipig* y el resto fue necesario encontrar un sistema común de referencia expresado en las coordenadas LR (izquierda-derecha), AP (anterior-posterior) y Z (eje longitudinal o cráneo-caudal) con respecto a la carina.

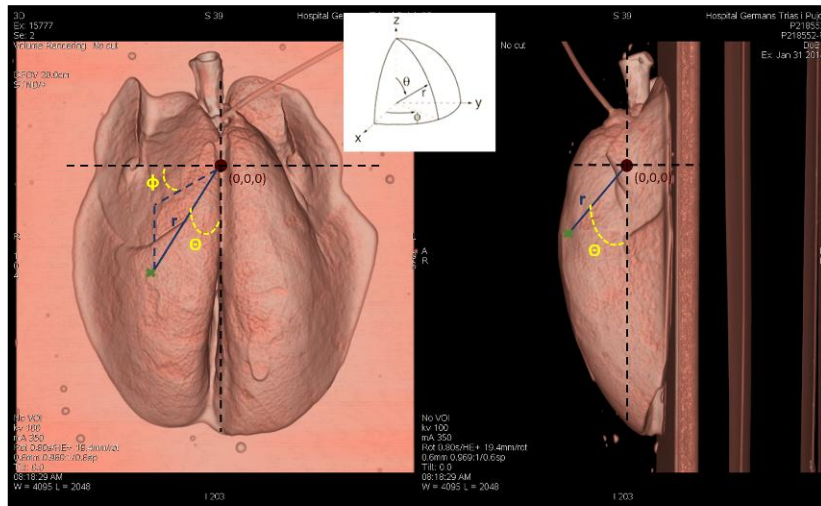


Figura 37. Coordenadas LR,AP y Z.

En el sistema cartesiano las coordenadas cambian su nombre: LR corresponde a “x”, la coordenada AP es equivalente a “y”. La coordenada vertical está representada por “z”.

Para un mejor análisis consideramos la carina como el origen de las coordenadas cartesianas y esféricas (fig. 37 y 38).

Las nuevas coordenadas esféricas fueron:

$$(LR, AP, Z) \square (r, \theta, \phi)$$

$$r = \sqrt{LR^2 + AP^2 + Z^2}$$

$$\theta = \arcsin \frac{Z}{r} \square \theta \in [0, \pi)$$

$$\phi = \arctan \frac{LR}{AP} \square \phi \in (-\pi, \pi.]$$

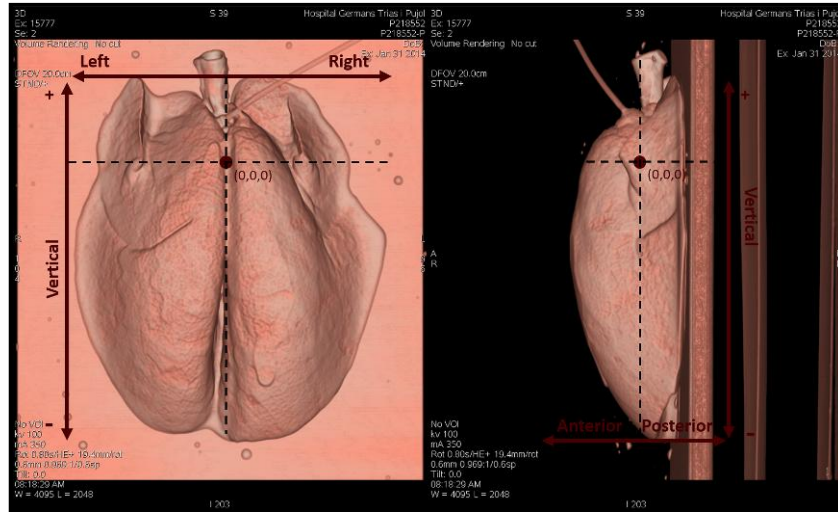


Figura 38. Coordenadas r , θ y ϕ

3.3.5 Segunda fase: correlación entre la semiología radiológica de las imágenes obtenidas y el estudio histopatológico

La primera fase de nuestro experimento concluyó con el análisis de todas las imágenes obtenidas del volumen total de los 24 paquetes pulmonares. Posteriormente se realizó la evaluación histopatológica mediante secciones axiales de aproximadamente un centímetro de grosor de todos los pulmones. Cada bloque fue analizado por miembros de la UTE. Todas las lesiones fueron localizadas, caracterizadas y fotografiadas (fig.39).

La identificación mediante TCMD de las lesiones atribuibles a la infección tuberculosa se basó en la hipótesis de que toda imagen nodular pulmonar con un alto coeficiente de atenuación debía considerarse como patológica. Creíamos que la densidad de las imágenes identificadas podría tener una relación directa con la presencia de calcio en su interior. De esto podría deducirse que las lesiones de menor densidad estarían parcialmente calcificadas y que probablemente podríamos establecer la equivalencia entre los diferentes patrones histológicos de calcificación de las lesiones y los hallazgos semiológicos radiológicos. Un aspecto relevante de nuestro estudio consistía en saber si el TCMD presentaba una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de las lesiones milimétricas pulmonares y podría ser una alternativa eficaz en el diagnóstico de la ITBL.

Decidimos comparar los hallazgos radiológicos e histopatológicos de algunos de los pulmones seccionados. El estudio TC fue realizado con las mismas características técnicas

que en la primera fase. Se procedió al análisis de las imágenes siguiendo los mismos modelos de lectura (fig. 39 y 40).



Figura 39. Diferentes secciones axiales de 10 mm de grosor de un lóbulo pulmonar

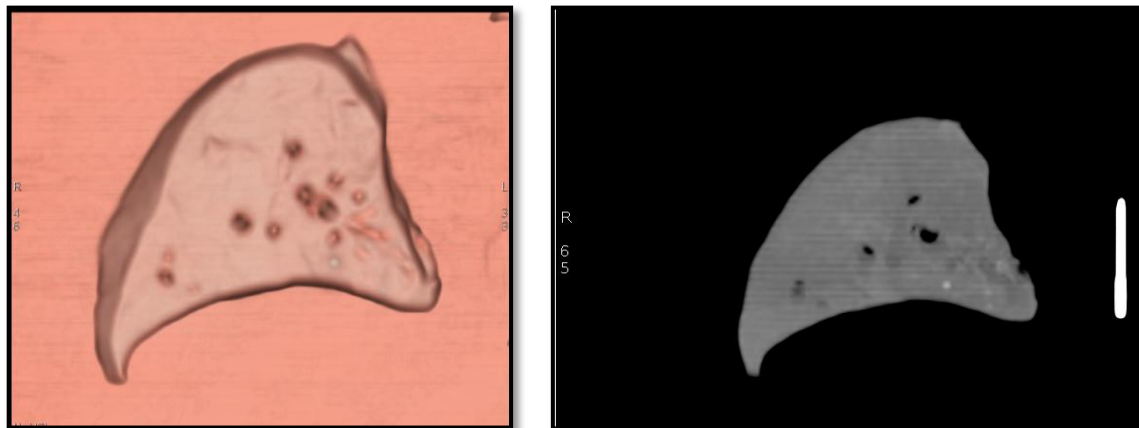


Figura 40. Imagen VR (izquierda) y TC coronal (derecha) de una muestra pulmonar

Para establecer la correlación entre los hallazgos TC de las imágenes pulmonares detectadas y su histopatología, se escogieron algunas muestras con un reducido número de lesiones para evitar sesgos en la identificación de las lesiones.

Antes de realizar el estudio, se decidió colocar la muestra en la camilla del TC en una posición concreta y poner unos objetos radiopacos (aguja y bola metálica) a su alrededor

con el fin de establecer referencias perimetrales que nos serían de gran utilidad para optimizar la concordancia entre las imágenes obtenidas y su histología (fig. 41).



Figura 41. Colocación de la muestra pulmonar en la camilla de TC

Las piezas histológicas correctamente precintadas fueron examinadas mediante el TCMD con los mismos parámetros técnicos realizados en la primera fase de nuestro experimento. El procesado y posprocesado de las imágenes se ajustó al modelo establecido previamente (fig. 42).

Todas las imágenes nodulares pulmonares detectadas por TC fueron localizadas en los tres planos del espacio, identificadas y numeradas, como paso previo para establecer su correlación histológica. En todas, se cuantificaron sus unidades Hounsfield y diámetro máximo.

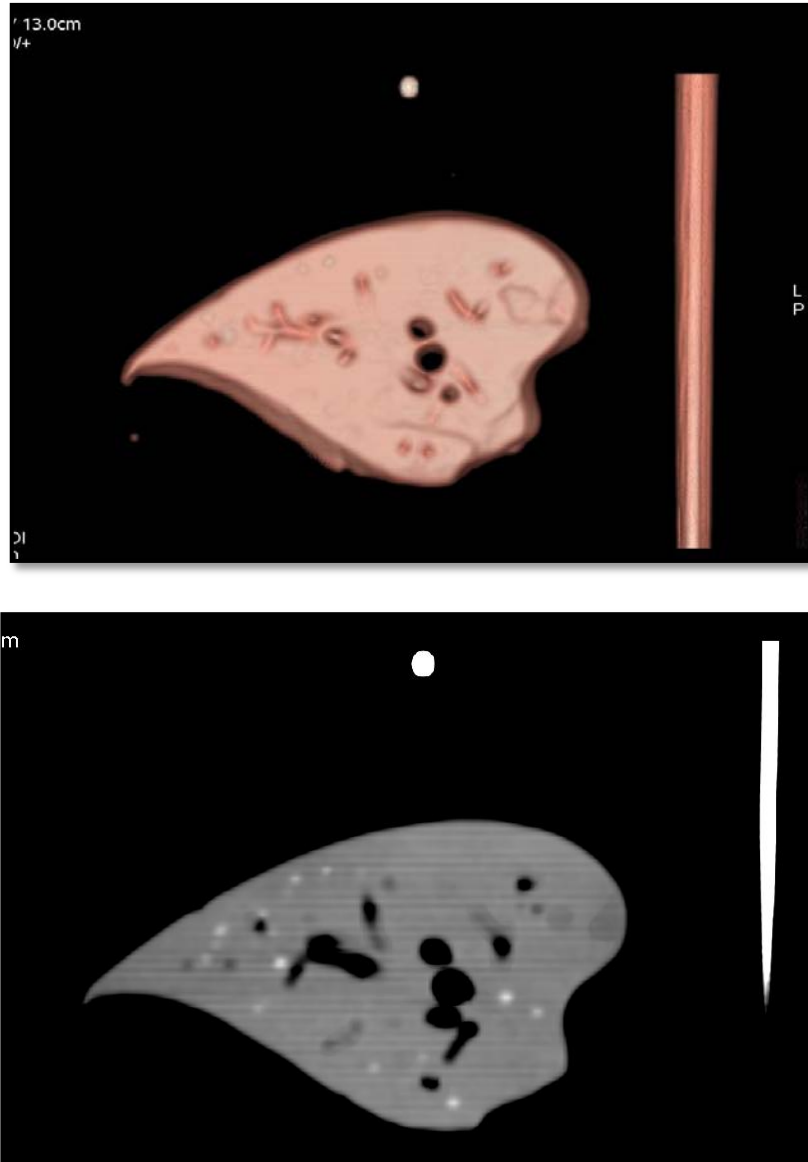


Figura 42. Imágenes VR y MPR de una muestra pulmonar con diferentes lesiones

Los cortes seleccionados incluidos en parafina fueron examinados macroscópicamente (observaciones a simple vista del tejido pulmonar normal y de las lesiones) y con el microscopio, para detallar su estructura (fig. 43).

El estudio histopatológico inicial consistió en cuantificar y localizar los granulomas pulmonares en la muestra tisular escogida. En una segunda fase se realizó la caracterización patológica de todas las lesiones detectadas, siguiendo los parámetros estructurales reportados por Gil y cols (95) en los que se especifican cuatro fases evolutivas en el desarrollo de los granulomas acorde con sus características más reconocibles (Tabla 17).

FASE	Márgenes irregulares	Necrosis	Calcificación	Consistencia cartilaginosa	Relación corona/necrosis
I	+	-	-	-	-
II	-	+	+ / -	-	+++
III	-	++	++	+	++
IV	-	+++	+++	+	+

Tabla 17. Características estructurales de las cuatro fases evolutivas de los granulomas tuberculosos

Una vez finalizada la fase de la detección y caracterización general de los granulomas pulmonares encontrados en el estudio macroscópico y con el TCMD, procedimos a localizar de forma individualizada cada imagen patológica siguiendo algunos puntos de referencia anatómicos que nos permitieron situarlas en los tres planos del espacio para su posterior identificación por TC.

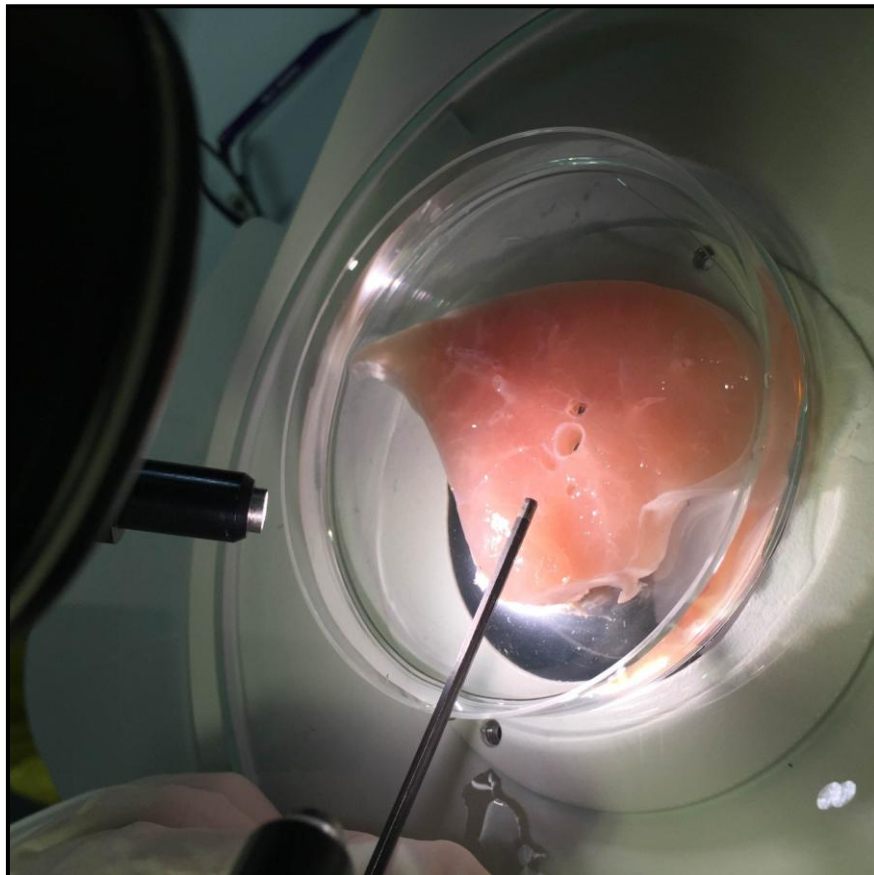


Figura 43. Examen macroscópico de las lesiones pulmonares.

El microbiólogo realizó una primera estimación macroscópica de las lesiones e informó al radiólogo de la localización tridimensional de cada una de ellas, para que pudieran ser aparejadas con las imágenes TC. Una vez decidida la equivalencia entre ambos métodos de examen, procedimos a su análisis y clasificación histopatológica así como su caracterización por TC, con el objetivo de buscar paralelismos entre la imagen radiológica y los hallazgos anatomopatológicos.

La observación específica de los granulomas pulmonares fue minuciosa, con las pequeñas limitaciones que conlleva un proceso realizado exclusivamente de forma manual, que a nuestro criterio, no ha condicionado los resultados de nuestro experimento.

Estudio de la tuberculosis pulmonar mediante Tomografía Computarizada Multidetector en un modelo experimental de minipig

4. RESULTADOS

Una vez validados todos los datos obtenidos en nuestro experimento procedimos al análisis de los parámetros técnicos del preprocesado, procesado y posprocesado de las imágenes obtenidas mediante el TCMD.

Posteriormente examinamos el tamaño y morfología de los 24 paquetes pulmonares estudiados así como la caracterización y localización de las lesiones halladas.

4.1 RESULTADOS MORFORRADIOLÓGICOS DE LOS PULMONES ESTUDIADOS

El tamaño pulmonar de los diferentes *minipigs* estudiados se calculó mediante la distancia en milímetros existente entre la carina y las seis puntos específicos restantes (Tabla 18).

La longitud media del eje transversal (derecha-izquierda) fue de 123,5 mm con una desviación estándar de 9,5 mm (8%).

No existieron diferencias significativas entre el tamaño del pulmón derecho e izquierdo de todos los *minipigs* estudiados. En 9 casos el pulmón derecho era el más voluminoso mientras que en 15 el pulmón izquierdo era mayor que el contralateral.

El diámetro transversal medio de cada pulmón fue de 61,8 mm con una desviación estándar de 5,4 mm (9%).

La distancia media del eje anteroposterior fue de 51,2 mm con una desviación estándar de 5,2 mm (10%).

La longitud craneocaudal media fue de 156,1 mm con una desviación estándar de 11,6 mm (7%).

El 68% del volumen pulmonar de todos los *minipigs* se localizó por debajo del nivel de la carina, mientras que el 32% restante pertenecía al pulmón supracarinal. Esta desproporción anatómica es debida al aumento del tamaño relativo de los lóbulos caudales con respecto al resto.

No se observaron diferencias significativas en la morfología y la anatomía broncopulmonar de todos los especímenes estudiados.

<i>Minipig</i>	Límite derecho (mm)	Límite izquierdo (mm)	Límite Anterior (mm)	Límite Posterior (mm)	Límite Craneal (mm)	Límite Caudal (mm)
218552	53,5	61,3	26,7	24,2	60,0	110,3
218562	61,2	61,6	22,7	27,3	45,2	97,4
218551	52,8	59,0	27,4	28,5	51,3	92
315427	64,8	66,6	29,3	15,6	56,7	101,8
315371	65,6	70,5	29,0	31,9	56,6	105,2
218493	64,0	56,5	29,6	26,2	48,3	111
218542	59,9	61,2	27,0	24,0	47,8	102,1
218508	54,0	55,0	22,6	18,6	56,4	102,5
218494	69,4	64,0	29,4	22,4	53,8	109,8
315404	69,5	66,8	28,7	22,1	58,0	115
315402	64,2	73,7	31,0	21,5	53,5	116,6
218563	61,7	56,9	26,9	20,7	58,7	98,0
215379	58,3	69,1	25,8	19,0	45,4	111,9
218510	54,0	55,2	25,0	22,3	39,7	95,1
218528	54,3	62,3	24,4	19,3	52,9	99,4
218522	54,2	61,2	30,1	31,6	67,4	106,0
218529	68,3	69,1	29,7	27,5	60,0	118,6
218561	53,0	54,6	29,1	26,0	38,2	107,2
218527	67,6	63,6	25,0	25,5	36,0	108,0
218492	66,1	60,9	24,9	22,4	49,4	109,5
218543	59,4	59,2	25,6	23,6	48,7	106,3
315428	64,2	65,0	22,6	33,4	42,0	104,3
315405	65,3	62,5	27,1	22,9	47,2	96,0
315439	65,3	57,7	23,6	28,7	40,6	106,3
MEDIA	61,3	62,2	26,8	24,4	50,6	105,5
Desv.STD	5,2	5,7	2,6	4,5	8,0	6,9

Tabla 18. Distancias utilizadas para calcular el tamaño de los pulmones de los *minipigs*.

4.2 RESULTADOS DE LAS LESIONES PULMONARES

4.2.1 Cuantificación de las lesiones

1. Número de minipigs con lesiones

El 100% de los *minipigs* del grupo B presentaron lesiones visibles.

El resto de grupos del experimento mostraron una afectación del 83,3% debido a que un *minipig* por grupo no presentó alteraciones atribuibles a la infección tuberculosa (Tabla 19).

En un espécimen del grupo C (218522) se observó una única lesión, por lo que podríamos considerar que en este grupo, la infección sólo afectó a 4 *minipigs* (67%).

El hecho de que 3 *minipigs* no mostraran imágenes patológicas lo atribuimos a un defecto técnico en el mecanismo de la inoculación del *M. tuberculosis*. Por este motivo excluimos a estos tres *minipigs* (315427, 218561 y 218527) del análisis estadístico.

2. Localización de la infección pulmonar

La afectación pulmonar bilateral sólo se objetivó en un *minipig* del grupo C (218528). En este caso el número total de lesiones fue de 15 (8 en el pulmón derecho con una distribución multilobar: 1 en lóbulo caudado, 2 en lóbulo medio y 5 en lóbulo caudado y 7 en el pulmón izquierdo afectando exclusivamente al lóbulo caudado izquierdo).

En el resto de las muestras de nuestro experimento las imágenes radiológicas patológicas fueron unilaterales (11 derechas y 9 izquierdas).

La mayoría de las lesiones detectadas en el grupo C se observaron en el pulmón izquierdo mientras que en el grupo D la afectación fue predominantemente derecha.

Consideramos que la lateralidad de las lesiones en estos grupos está condicionada por la infección inicial y no por pertenecer a un grupo determinado del experimento.

3. Número de lesiones en cada grupo experimental

Los grupos A y D mostraron menos lesiones que la media, mientras que en el grupo B fue superior.

La efectividad del tratamiento no parece estar relacionada con el número de imágenes patológicas encontradas, sin embargo la gravedad de la enfermedad es directamente proporcional al número de lesiones detectadas.

El número total de imágenes anómalas atribuibles a la tuberculosis en los grupos A (171) y D (163) fueron menores seguidos del grupo C (223) y B (388) (Tabla 19).

Estos datos corroboran que el tratamiento previo no está relacionado con la reducción del número de lesiones ya que los *minipigs* del grupo A (grupo control) no recibieron ningún tipo de vacuna y sin embargo la infección pulmonar fue menor.

	TOTAL	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Número de <i>Minipigs</i>	24	6	6	6	6
<i>Minipigs</i> con lesiones	21	5	6	5	5
% de <i>minipigs</i> con lesiones	87,5	83,3	100	83,3	83,3
Nº total de lesiones	945	171	388	223	163
Nº de lesiones por <i>minipig</i>	45	34	65	45	33
Afectación pulmón derecho	12	3	3	2	4
Afectación pulmón izquierdo	10	2	3	4	1

Tabla 19. Localización y número de imágenes patológicas en cada grupo de *minipigs*

4. Número de lesiones en cada lóbulo pulmonar

La tabla 20 refleja la afectación lobular de cada *minipig*. El 96,2% (909) de las lesiones halladas se localizaron en los lóbulos caudados (474 en el lóbulo caudado izquierdo y 435 en el derecho).

La afectación multilobar se observó en cinco *minipigs* y de éstos, sólo en un caso fue bilateral (218528). En el resto, tres presentaron lesiones en dos lóbulos y sólo uno en tres (218542).

Minipig	LCr.D	LCr.I	LMD	LMI	L. Inter	LCD	LCI	TOTAL
218552							11	11
218562						13		13
218551							60	60
315371						30		30
218493	6					51		57
218542		16		5			87	108
218508							79	79
218494						47		47
315404	2					42		44
315402							38	
218563	4					68		72
215379							102	102
218510						20		20
218528	1		2			5	7	15
218522							1	1
218529							85	85
218492						80		80
218543						4		4
315428						62		62
315405							4	4
315439						13		13

Tabla 20. Afectación lobular de cada minipig

En ningún caso se percibió la infección limitada exclusivamente a los lóbulos craneales y/o medios. En todos los casos, cuando la infección afectaba a estos lóbulos, también lo hacía al lóbulo caudado homolateral. En los especímenes con infección multilobar, el número relativo de nódulos pulmonares detectados fue significativamente superior a favor de los lóbulos caudados.

No se detectaron lesiones en el lóbulo intermedio.

Tampoco se observó un patrón de distribución intralobar definido ni una clara relación entre las lesiones con las vías aéreas visibles.

5. Lesiones agrupadas (*clusters*)

El íntimo contacto de dos o más imágenes nodulares puede simular una lesión de mayor tamaño. En ocasiones es difícil conseguir la individualización de cada uno de los elementos que la componen.

En nuestro experimento, hemos detectado 23 *clusters* formadas por dos o más nódulos sólidos, que corresponden a 47 lesiones. Esto significa que el 5% de todas las imágenes encontradas están en contacto con otra de las mismas características.

Este dato tiene una cierta relevancia debido a que la teórica distribución aleatoria de la infección tuberculosa en los pulmones no debería estar relacionada con un número tan alto de lesiones agrupadas.

4.2.2 Localización de las lesiones

1. Localización derecha – izquierda (LR)

La mayoría de las imágenes nodulares identificadas se sitúan a la derecha o izquierda pero no en la línea media.

No existen diferencias significativas entre la afectación derecha (447) e izquierda (498). Sin embargo las lesiones en el pulmón derecho tienen tendencia a estar más agrupadas mientras que la afectación izquierda es más dispersa.

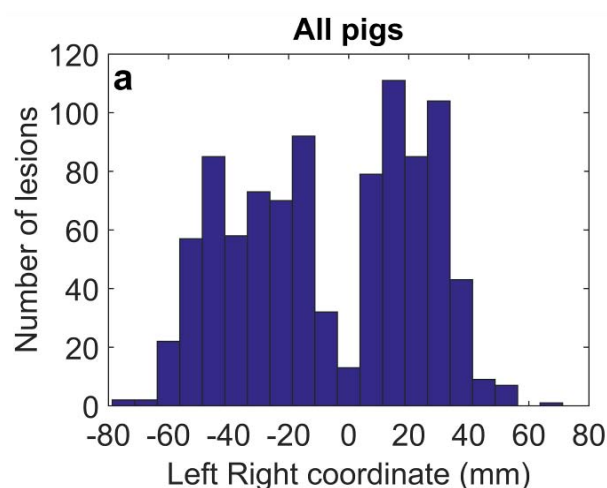


Figura 44. Diagrama de barras de la localización derecha-izquierda de las lesiones respecto a la carina. Las lesiones izquierdas tienen valores negativos mientras que las derechas son positivos

Como puede verse en la Figura 44, a unos 50 mm a la derecha de la línea media se visualizan menos de 10 lesiones a diferencia de 50 mm a la izquierda donde podemos observar 60. Desgraciadamente estos datos no son determinantes ni concluyentes debido a que pertenecen solamente a dos *minipigs* del grupo B (218542 y 315402).

La distribución de la afectación pulmonar en los grupos A y B fue muy similar.

Sin embargo en el grupo C la afectación fue de predominio izquierdo y en el grupo D derecho. Este patrón probablemente está relacionado con el lugar donde se inició el proceso infeccioso. Sólo en un caso (218528) la infección fue bilateral.

2. Localización anterior-posterior (AP)

Consideramos que la cara posterior de los *minipigs* era la que estaba en contacto con la mesa del equipo de TCMD. El 81,2% (767) de las lesiones detectadas fueron posteriores mientras que las anteriores sólo el 18,8% (178) (fig. 45).

El predominio posterior debería estar relacionado con la implantación de la infección inicial favorecida por factores gravitacionales, de la concentración de oxígeno o de la biomecánica de la deambulación de los *minipigs*.

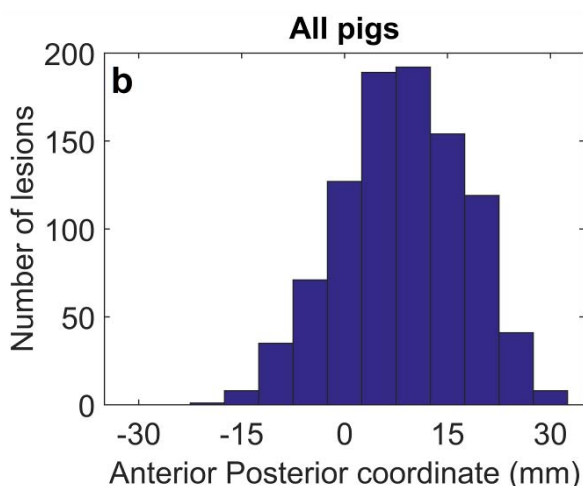


Figura 45. Localización anteroposterior de las lesiones medidas desde la carina. Anteriores con valores negativos y las posteriores con guarismos positivos.

3. Localización craneocaudal o vertical (Z)

La mayoría de las lesiones (96%) estaban localizadas por debajo de la carina. Muchas de éstas (86%), se encontraron en un segmento concreto situado entre 40 y 100 mm por debajo del nivel carinal con un pico de incidencia que coincidía con el valor -65mm (fig. 46).

Sólo 4 *minipigs* (315404, 218563, 218493 y 218528) presentaron afectación pulmonar supracarinal. El tamaño relativo de estas lesiones fue mayor que el de las localizadas por debajo de la carina. Este hecho puede deberse a que durante la inoculación de la infección algunos animales presentaron tos y ésta podría haber condicionado la diseminación craneal de la infección.

No se encontraron diferencias significativas en la distribución vertical entre los diferentes grupos del experimento con un pico de incidencia entre -60 y -80 mm. (Tabla 21)

La distribución de las lesiones debe estar en concordancia con la anatomía y disposición espacial del árbol traqueobronquial y de las bases morfológicas y funcionales respiratorias del *minipig*.

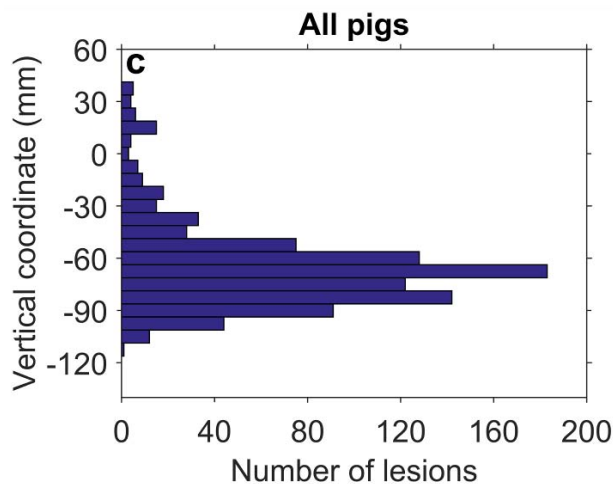


Figura 46. Localización vertical desde la carina

	TOTAL	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
LR media mm	6,6 L	1,7 R	7.5 L	31,0 L	20,5 R
AP media mm	8,4 P	11,7 P	7,1 P	6,1 P	11,2 P
Z media mm	-65	-71	-58	-61	-80

Tabla 21. Distancia media en los tres planos del espacio de las lesiones detectadas en cada grupo experimental

4. Lesiones subpleurales

Del 20 al 25% de los nódulos encontrados estaban en contacto con la pleura. La distancia media de las lesiones con la pleura fue de 5,3 mm (fig. 47).

No se detectaron diferencias significativas entre los diferentes grupos en este aspecto.

Sin embargo, algunos casos deben ser analizados de forma individual dada la disparidad con respecto a los resultados estándar.

1.- No se observaron lesiones subpleurales en dos *minipigs* (218522 del grupo C y 315405 del grupo D). Desgraciadamente ambos sólo tenían 1 y 4 lesiones en total respectivamente, por lo que se decidió excluirlos de la investigación ya que no formaban parte de una muestra característica para el estudio global de la distancia pleura-lesión.

2.- El *minipig* 315402 del grupo B presentó 38 lesiones, pero sólo una (2,6%) subpleural. Curiosamente la distancia media de las lesiones y la pleura fue el doble de la media global (10,1 mm). La mayoría de éstas tenían una localización más central con respecto a la periferia de los pulmones.

3.- Al contrario que el ejemplo anterior, algunos especímenes manifestaron predilección por la localización subpleural, como por ejemplo el 218494 del grupo B en el que más de la mitad de las lesiones observadas (24 de 47, 51%) tenían contacto pleural con una distancia media de 2,6 mm.

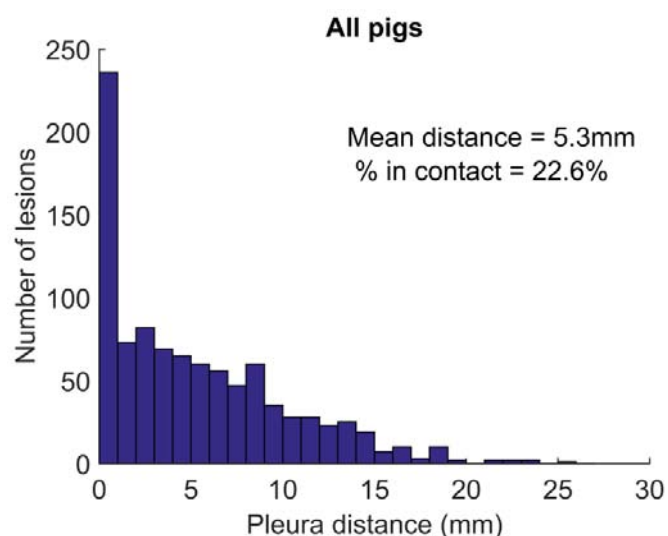


Figura 47. Histograma de la distancia de todas las lesiones con respecto a la pleura

La evaluación morfo-anatómica con TCMD de la pleura de los *minipigs* es mejor si existe una correcta visualización de la superficie pleural que nos permita determinar sus límites en los tres planos del espacio. La interposición y contacto de los diferentes lóbulos con sus respectivas pleuras y cisuras, en ocasiones dificulta esta evaluación. El aumento del volumen relativo de los lóbulos caudales y su disposición anatómica nos ha permitido evaluar con precisión la superficie pleural y su relación con las lesiones detectadas.

Alrededor del 20% de la afectación nodular pulmonar contactó con la pleura y la distancia media entre las lesiones y la superficie pleural más cercana fue de 5,3 mm.

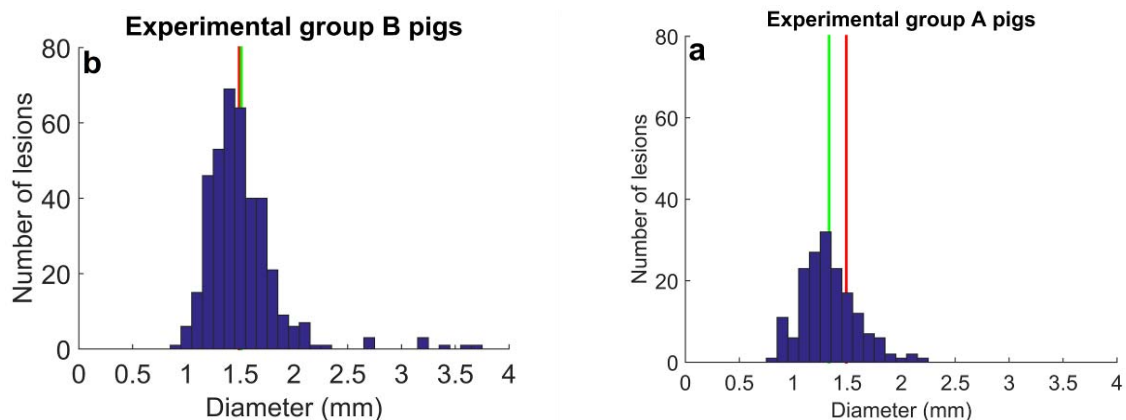
Este incremento porcentual de la afectación subpleural en relación con la teórica diseminación aleatoria de la infección pulmonar puede plantearnos dos hipótesis.

La posición periférica del lobulillo secundario pulmonar (unidad anatómico-funcional respiratoria básica) podría explicar esta distribución. Otra posible explicación estaría relacionada con que las lesiones subpleurales crecen y se reproducen más fácilmente debido a que no tienen estructuras anatómicas que se lo impidan.

4.2.3 Tamaño de las lesiones

Teniendo en cuenta las limitaciones técnicas de nuestro experimento consideramos que el poder de resolución del TCMD para la detección de las imágenes patológicas era superior o igual a 0,9 mm. Por debajo de este umbral los datos obtenidos no permitían una correcta caracterización.

El análisis de los diámetros de las lesiones en cada uno de los grupos experimentales está reflejado en los cuatro gráficos de la figura 48.



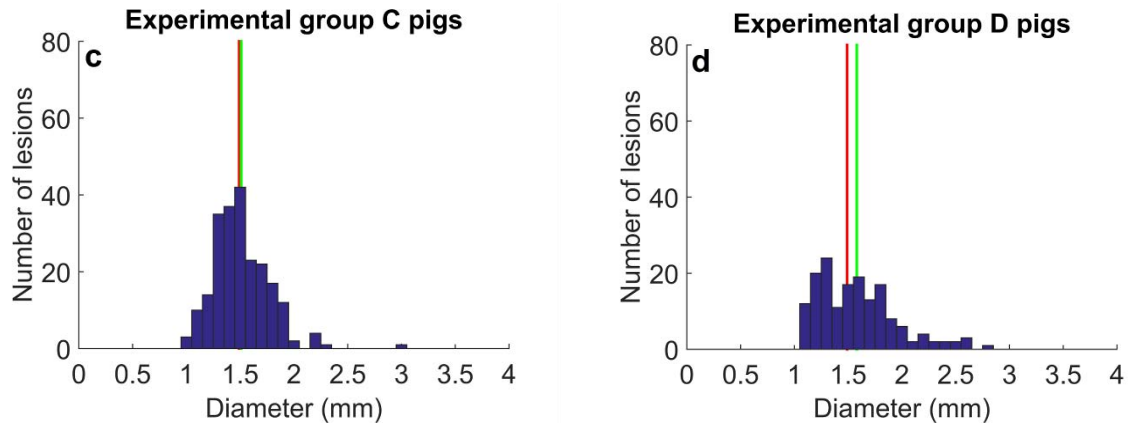


Figura 48. Distribución del diámetro de las lesiones separadas por grupos

La línea horizontal representa las medidas de las lesiones. La línea verde vertical corresponde al diámetro medio de todas las lesiones, 1,49 mm. La línea roja vertical indica el diámetro medio de cada grupo experimental : Grupo A : 1,33 mm ; Grupo B :1,51 mm ; Grupo C :1,51 mm ; Grupo D 1,58 mm.

El diámetro medio de las lesiones de cada grupo y su desviación estándar (σ) se detallan a continuación (Tabla 22)

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Diámetro medio	1,33 mm	1,51 mm	1,51 mm	1,58 mm
Desviación σ	0,26 mm	0,35 mm	0,26 mm	0,37 mm

Tabla 22. Diámetro medio de cada grupo y su σ

La mayoría de las lesiones del grupo A tenían un diámetro inferior a la media. Este dato es muy relevante dado que se observa en todos sus miembros.

El 82% de las lesiones del grupo A tenían un diámetro igual o inferior a 1,5 mm.

Los guarismos de los grupos B y C estaban en consonancia con la media.

En el grupo experimental B observamos los nódulos de mayor tamaño, en concreto los especímenes 218542, 218563 y 315404 en los que pueden observarse 5 lesiones de diámetro superior a 3 mm, que corresponden al doble del valor medio. Todas estas lesiones estaban situadas por debajo de la carina.

Los datos obtenidos del grupo D fueron muy heterogéneos sin un patrón claro: se detectaron 4 imágenes nodulares de un diámetro aproximado de 3 mm, pero sin embargo, el pico más alto fue de 1,33 mm, por debajo de la media.

El diámetro medio de las lesiones del grupo A (1,33 mm) fue inferior del resto de grupos. Por tanto se deduce que los *minipigs* tratados con vacunas de los grupos B, C y D presentaban lesiones de mayor tamaño si las comparamos con el grupo control (A).

De los datos obtenidos en nuestro estudio se puede deducir que el número de lesiones es directamente proporcional al diámetro medio (Tabla 23).

Inicialmente hicimos una regresión lineal para evaluar esta dependencia.

Si considerásemos el diámetro medio = 0,002 con un número de lesiones +1,33 mm. Esto significaría que *minipigs* con 100 lesiones, éstas serían 0,2 mm más grandes que una lesión única pulmonar. Cuando calculamos R^2 comprobamos que no era una buena estimación: $R^2 = 0,27$.

De todo lo expuesto podemos concluir que hay una pequeña dependencia porque las lesiones de mayor tamaño crecen más rápidamente pero no existe necesariamente una relación lineal.

Minipig	218522	315405	218543	218552	218562	315439	218528
Número	1	4	4	11	13	13	15
Diámetro mm	1,20	1,18	1,25	1,36	1,44	1,57	1,32
Minipig	218510	315371	315402	315404	218494	218493	218551
Número	20	30	38	44	47	57	60
Diámetro mm	1,50	1,40	1,57	1,62	1,47	1,45	1,15
Minipig	315428	218563	218508	218492	218529	215379	218542
Número	62	72	79	80	85	102	108
Diámetro mm	1,76	1,68	1,39	1,48	1,44	1,60	1,43

Tabla 23. Número de lesiones y su diámetro medio de cada *minipig*

En nuestro estudio, no hemos advertido ninguna relación entre el tamaño de los nódulos pulmonares y su posición.

Solamente hemos verificado que las lesiones situadas por encima de la carina eran mayores que la media aunque esa diferencia no es trascendental y puede explicarse porque tres *minipigs* presentaban lesiones de gran tamaño cerca de la carina. A nuestro juicio las lesiones mencionadas podrían corresponder a un artefacto en el estudio relacionado con los accesos de tos en el momento de la inoculación de la *M. tuberculosis* en algunos *minipigs*.

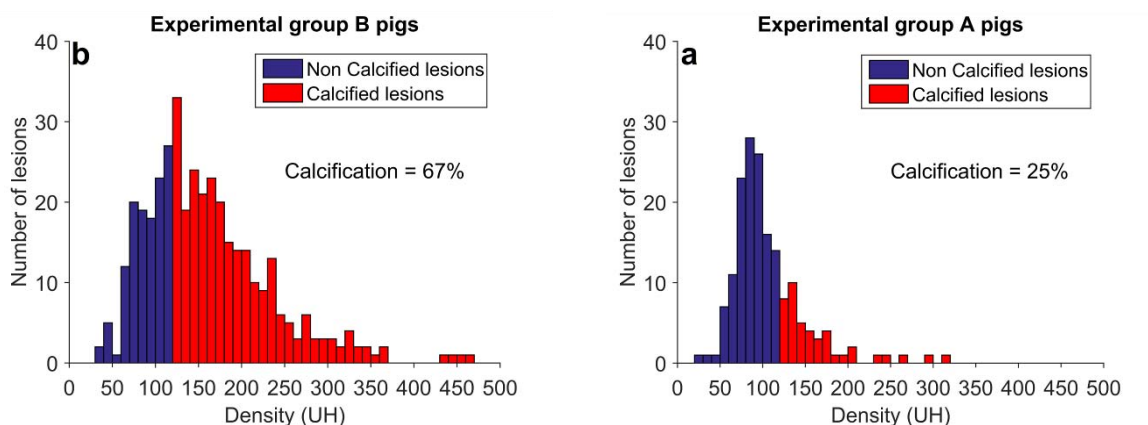
4.2.4 Análisis densitométrico de las lesiones

Consideramos que las imágenes nodulares de densidad igual o superior a 120 Unidades Hounsfield (UH) estaban calcificadas. Por debajo de estos valores las lesiones encontradas fueron catalogadas de no calcificadas.

El grupo control (A) presentó menores valores de UH (106 de media) y sólo el 25% de las lesiones encontradas estaban calcificadas.

El 66% de las lesiones que recibieron tratamiento (grupos B, C y D) estaban calcificadas (510 de un total de 774). En este aspecto existe una gran diferencia entre el grupo A y el resto (fig. 49).

El 67 % de las lesiones de los *minipigs* del grupo B mostraron calcificación con una densidad media de 160 UH. En el grupo C las lesiones calcificadas representaron el 56% con una densidad media de 143 UH. Finalmente en el grupo D encontramos que el 75% de las imágenes nodulares estaban calcificadas con una densidad media de 188 UH.



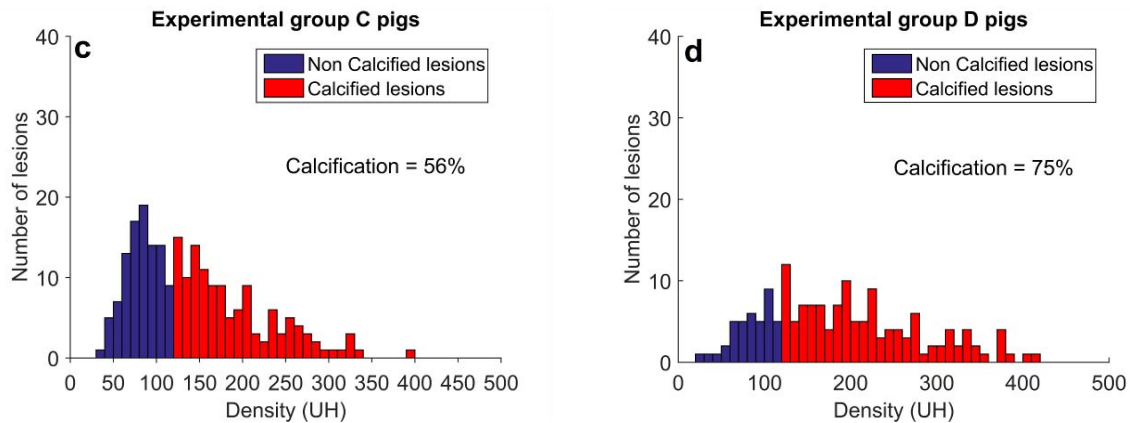


Figura 49. Valores de atenuación de las lesiones separadas por grupos. Los histogramas de color rojo representan las lesiones calcificadas y las de color azul a las no calcificadas.

Para comprobar el diferente efecto de las vacunas, elegimos una lesión al azar de cada grupo experimental y la comparamos con la lesión más calcificada. En el 5,7% de los casos la lesión habría sido de grupo experimental A, en 21,0% de los casos la lesión habría sido de grupo experimental C, en 28,1% de los casos las lesiones eran del grupo B y en el 45,2% del grupo D. Por tanto en el 94,3% de los casos de las lesiones calcificadas correspondían a candidatos a vacunas.

En conclusión, podemos afirmar que el efecto terapéutico principal de los *minipigs* tratados con vacunas radica en el incremento de la velocidad de calcificación de las lesiones. En este aspecto, los *minipigs* vacunados del grupo D están mejor protegidos que los del grupo B y éstos son mejores que el grupo C.

También se procedió a evaluar si existía alguna relación entre la densidad de las lesiones y su localización. Se cruzaron los datos entre los valores densitométricos de las imágenes nodulares y su localización LR, AP, vertical así como la distancia a la superficie pleural más cercana. En base a los datos obtenidos, no encontramos ninguna relación entre la situación de las lesiones y su densidad.

Observamos que las imágenes nodulares calcificadas por encima del nivel de la carina eran de mayor coeficiente de atenuación que el resto. Este fenómeno puede explicarse debido a que las lesiones de mayor tamaño en los lóbulos craneales provienen de los accesos de tos durante en proceso de inoculación transtraqueal de la infección. Estas lesiones no fueron significativas ya que encontramos otras de diámetro y densidad normal en la misma localización anatómica.

Relación entre el diámetro y la densidad

En relación con las cifras de la figura puede observarse la relación proporcional que existe entre el diámetro y la densidad de los nódulos pulmonares (fig. 50 y 51). Los factores R^2 son cercanos a 1 pero es necesario un análisis cauteloso de estos datos debido al reducido número de elementos en cada grupo. El número reducido de datos puede ser la causa del bajo coeficiente de R^2 . Con estas cifras podemos establecer el grado de proporcionalidad entre diámetro y densidad:

- 1- En el grupo C las lesiones calcificadas que aumentan su diámetro en 0,1 mm incrementan su densidad en 36 UH.
- 2- El incremento de 0,1 mm del diámetro en los *minipigs* del grupo D aumentan su densidad media en 31 UH.
- 3- El aumento del diámetro de 0,1 mm en el grupo B incrementa su densidad en 24UH.
- 4- En el grupo control los datos no son concluyentes.

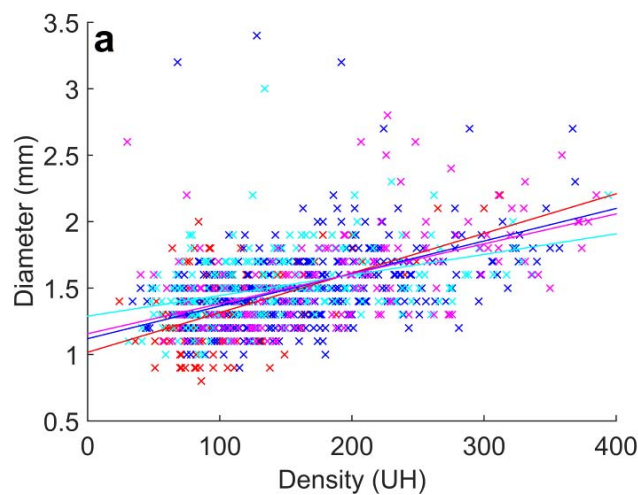


Figura 50. Cada x representa una lesión. El color está en relación al grupo experimental (Grupo A: rojo; Grupo B: azul; Grupo C: cian; Grupo D: magenta). Las líneas continuas representan la regresión lineal de cada grupo con su color correspondiente.

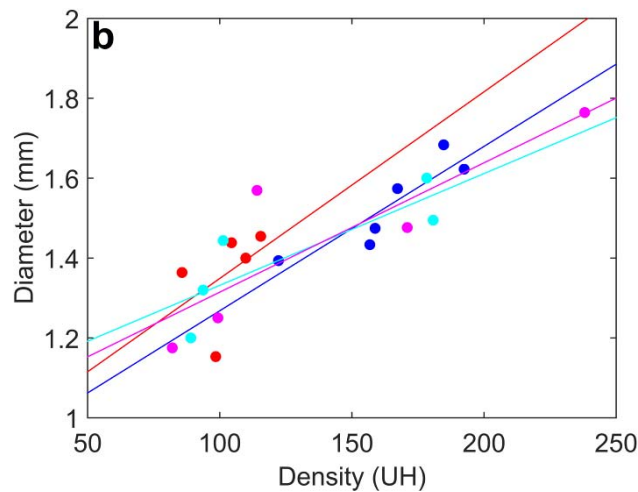


Figura 51. Los puntos representan cada *minipig* con los valores de densidad y diámetros medios. El color depende del grupo a que pertenece cada punto. Las líneas continuas representan la regresión lineal de cada grupo experimental con el mismo código de color.

4.2.5 Distancia entre las lesiones

El 93% de las imágenes nodulares observadas tiene uno o más nódulos a menos de 10 mm de distancia, mientras que si la longitud intralesional se reduce a 5 mm afecta al 63% (fig. 52).

El contacto se observó en el 5% del total de lesiones evaluadas.

Sólo en el *minipig* 218528 se localizaron múltiples nódulos pulmonares bilaterales distanciados con sólo 15 lesiones detectadas.

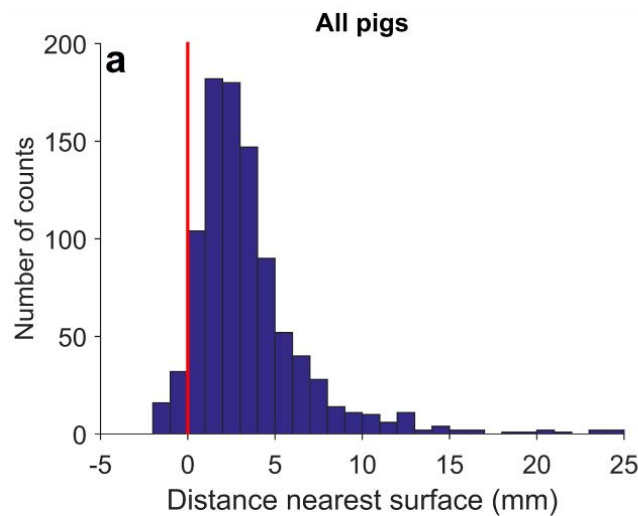


Figura 52. Distancia entre las superficies de las lesiones detectadas en el mismo *minipig*. La línea roja marca el 0 mm. Las lesiones situadas a la izquierda de esta línea están en contacto.

También valoramos la distancia existente entre la lesión más densa con el resto en cada *minipig*. En la figura 53 pueden verse 2 picos, uno más grande que el otro. El segundo está producido por las lesiones de alta densidad cercanas a la carina.

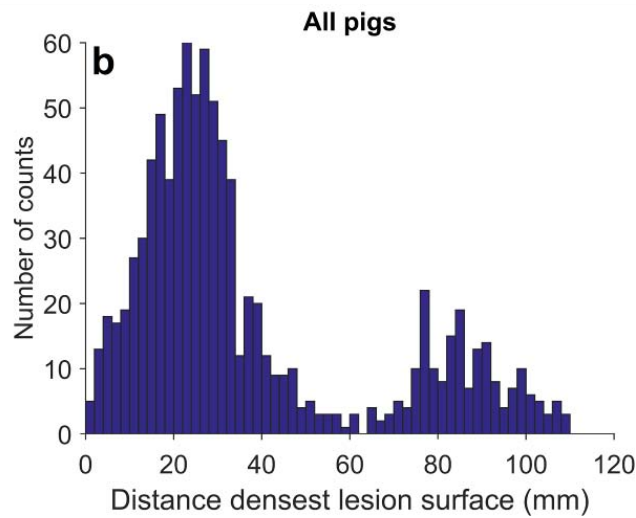


Figura 53. Distancia entre la lesión más densa con el resto

En la figura 54 puede observarse la distancia entre todas las lesiones. Estas tienen una máxima probabilidad de encontrarse con otra lesión cuando la distancia entre ambas es de 20 mm. Por debajo o por encima de estos valores se reduce significativamente esta probabilidad.

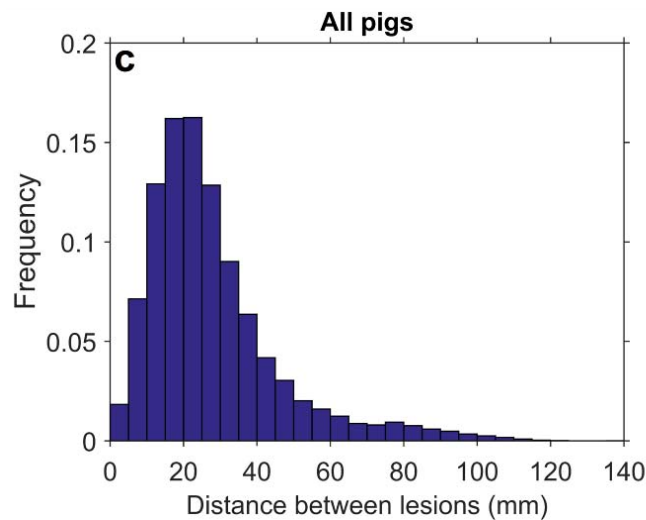


Figura 54. Distancia entre todas las lesiones

4.3 RESULTADOS DE LA CORRELACIÓN ENTRE LA SEMIOLOGÍA RADIOLÓGICA DE LAS IMÁGENES OBTENIDAS Y EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Finalizada la primera fase de nuestro estudio cimentada en la evaluación morfoanatómica de los 24 paquetes pulmonares y en la identificación, cuantificación, localización, distribución y caracterización por TC de las lesiones encontradas, completamos nuestro estudio en una tercera fase, con la finalidad de relacionar los hallazgos anatomopatológicos con las imágenes obtenidas mediante el TCMD.

Se escogió una muestra de tejido pulmonar en la que el examen macroscópico demostró un número reducido de lesiones, pero suficientes para realizar la valoración comparativa de ambas técnicas.

En esta fase de la tesis, nuestro propósito estaba basado en dos líneas argumentales. En primer lugar, saber cuál de los dos métodos de estudio detectaba el mayor número de lesiones y establecer una hipótesis de los motivos por los cuales una técnica era mejor que la otra. En segundo lugar, pretendíamos establecer una correlación entre las diferencias estructurales que caracterizan a las cuatro fases evolutivas de los granulomas pulmonares, descritos por Gil y cols., (95), con los hallazgos semiológicos del TC, con el objetivo de encontrar un patrón por TC específico de las diferentes formas de presentación de los granulomas pulmonares.

Una vez realizado el recuento de las lesiones, la TC detectó 22 imágenes nodulares de alto coeficiente de atenuación (valores entre 90 y 258 UH) con un diámetro que oscilaba entre 0,9 mm y 2,3 mm, sugestivas de infección por *M. tuberculosis*. En cambio, el examen macroscópico por transparencia de la totalidad de la muestra sólo detectó 13.

En la tabla 24 pueden verse los detalles del estudio por TC del tejido pulmonar seleccionado:

	Diámetro en mm.	Unidades Hounsfield
1	1,4	171
2	1,8	258
3	2,3	240
4	1,1	204
5	1,2	164
6	1,0	134
7	1,2	117
8	1,5	238
9	1,3	136
10	1,3	202
11	1,4	187
12	1,4	147
13	1,3	120
14	1,0	108
15	1,0	117
16	1,1	197
17	1,0	121
18	1,2	90
19	1,1	137
20	0,9	104
21	1,0	121
22	1,0	133

Tabla 24. Diámetro y UH de los 22 nódulos detectados por TC

El grosor del corte de la sección de *minipig* analizada fue de 10 milímetros aproximadamente, por lo que el estudio macroscópico pudo estar limitado dado que algunas lesiones probablemente se encontraban en la profundidad de la muestra y no pudieron ser detectadas en el examen visual por transparencia.

El proceso histológico minucioso de las 13 lesiones visualizadas nos permitió observar diferentes tipos de granulomas cuya diferencia radica en sus diferentes fases evolutivas, clasificadas como fases I y II (etapas precoces) y las más evolucionadas (tipo III y IV).

En la tabla 25 puede comprobarse el número de lesiones detectadas de cada tipo histológico en nuestro experimento.

Fases	I	II	III	IV
Nº de lesiones	1	2	9	1

Tabla 25. Estudio macroscópico. Número de lesiones observadas de cada subtipo histológico.

4.3.1 Correlación entre los diferentes tipos histológicos y los hallazgos TC

Tipo I: El examen patológico detectó una única lesión tipo I, localizada en una área de la muestra pulmonar donde el TC no detectó ninguna imagen sospechosa. Por tanto, en nuestro estudio, las lesión tipo I no fue detectada por TCMD (fig. 55).

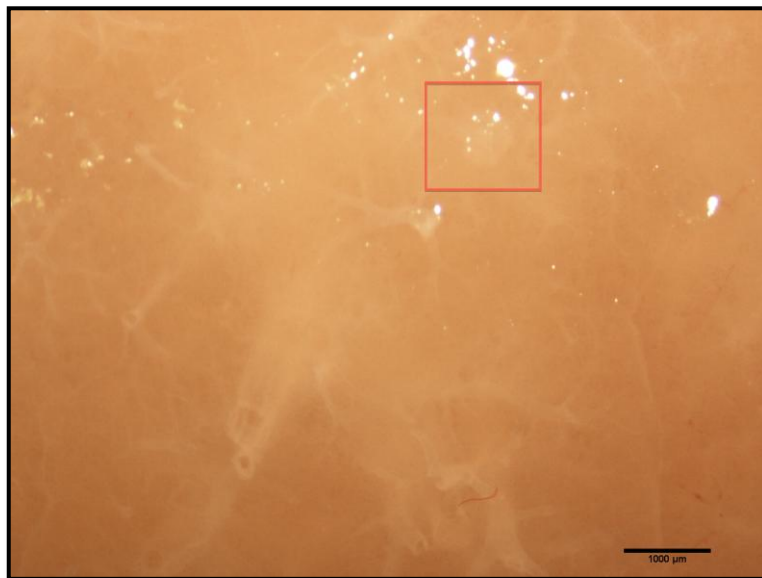


Figura 55. Fase 1, caracterizada por la presencia de una infiltración celular

Tipo II: El análisis histopatológico descubrió dos lesiones tipo II (fig. 56), de las cuales sólo una de ellas fue descubierta por TC, concretamente la número 15 que medía 1 milímetro de diámetro máximo y una densidad de 117 UH (fig. 57). Existió una buena correlación de las medidas de la lesión entre ambas técnicas. Estos datos son compatibles con los aspectos estructurales y de pobre mineralización característicos de este tipo histológico.

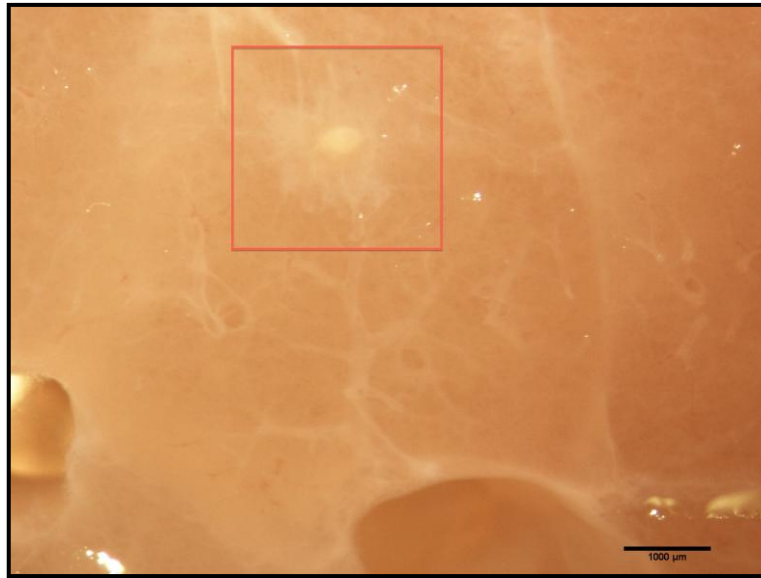


Figura 56. Tipo II. Zona opaca en el interior del granuloma en relación con la necrosis intragranulomatosa

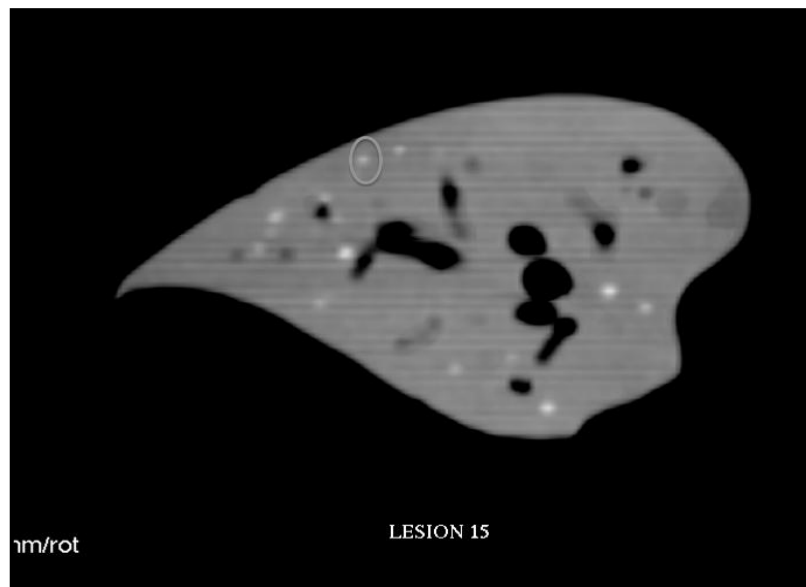


Figura 57. TCMD. Imagen nodular de alto coeficiente de atenuación marcada con un círculo que corresponde a lesión tipo II.

Tipo III: El TCMD detectó la totalidad de las 9 lesiones tipo III advertidas en el proceso histológico previo. Existió una correcta correlación entre los diámetros de las imágenes nodulares por TC y la histología.

En la tabla 26 pueden verse las características densitométricas y el tamaño de las imágenes nodulares percibidas con TC.

Número	Diámetro en mm.	Unidades Hounsfield
1	1,4	171
2	1,8	258
3	2,3	240
5	1,2	164
8	1,5	238
10	1,3	202
15	1,0	117
16	1,1	197
19	1,1	137

Tabla 26. Características TC (diámetro y UH) de las lesiones tipo III

Entre las imágenes nodulares tipo III (fig. 58) caracterizadas por TC no parece existir una concordancia relacionada con su diámetro, pero sí en cambio puede constatarse que la mayoría, poseen niveles altos de UH, probablemente en relación con la presencia de calcio en su interior (fig. 59).

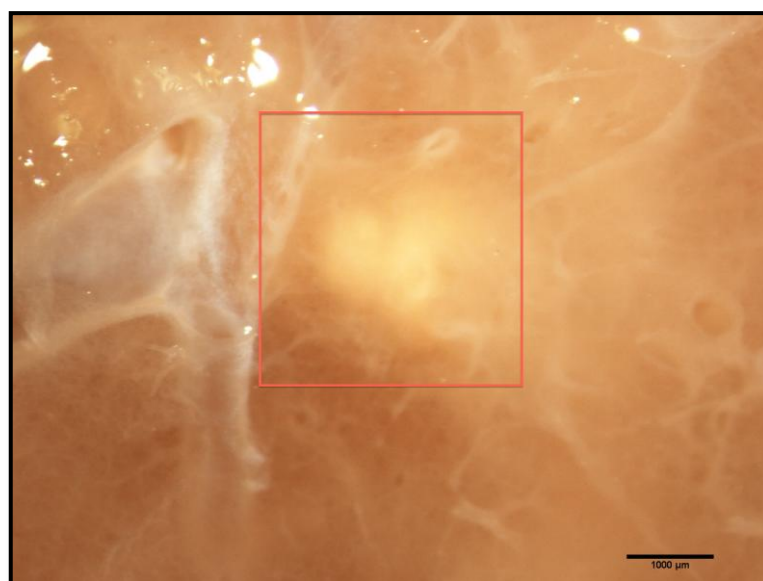


Figura 58. Lesión tipo III. La opacidad central es más brillante debido a la textura cartilaginosa del granuloma

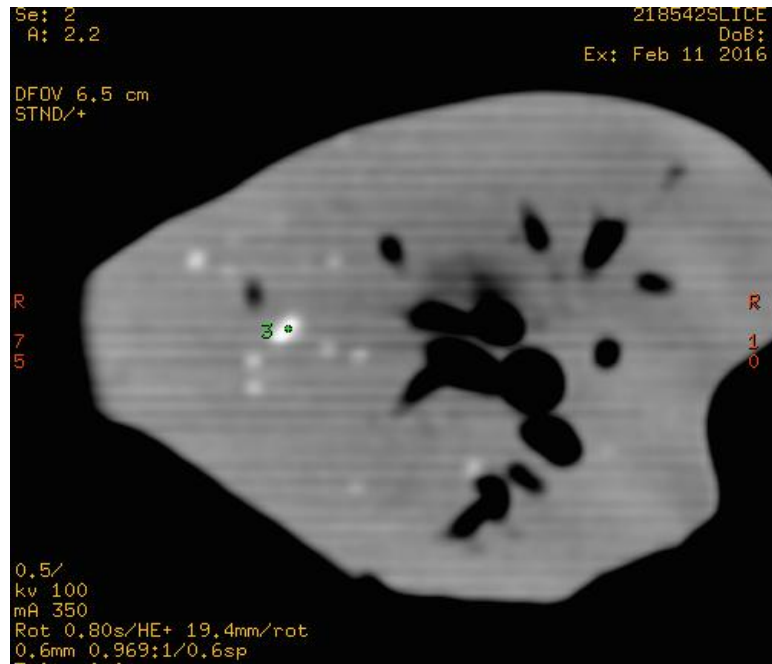


Figura 59. TC. Imagen nodular calcificada tipo III

Tipo IV: El único granuloma pulmonar de este tipo histológico (fig. 60) fue detectado con la TC. La imagen TC número 10 se encontraba en las coordenadas anatómicas exactas referenciadas en el topograma histológico. Su localización subpleural nos ayudó a identificarla. La imagen tenía un diámetro máximo de 1,3 milímetros y valores de atenuación de 202 UH. No existieron discrepancias del tamaño de la lesión entre ambos métodos del estudio (fig. 61).

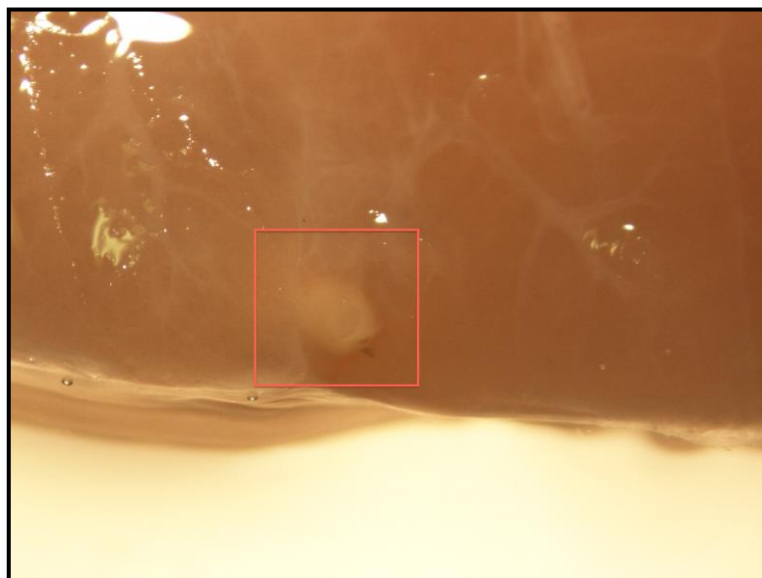


Figura 60. Lesión tipo IV. Predominio de la calcificación con una infiltración periférica fina.

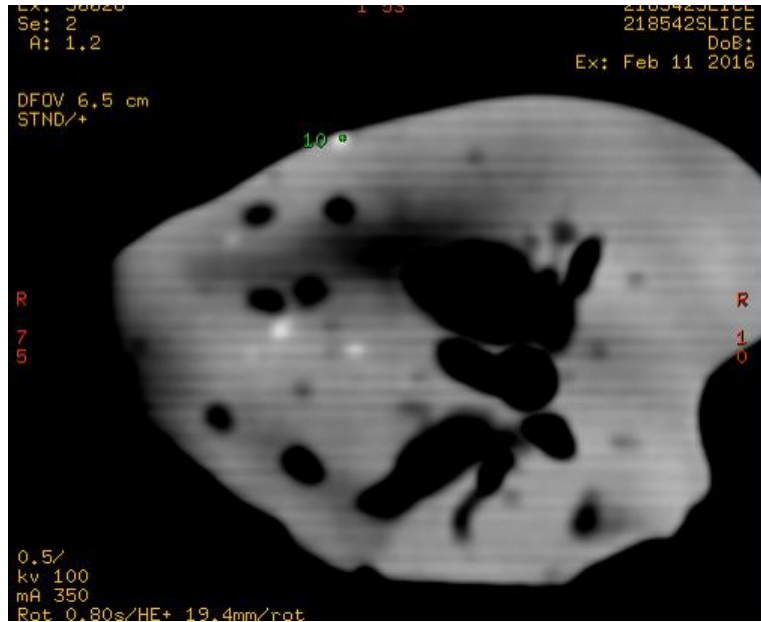


Figura 61. TC. Imagen nodular subpleural del tipo IV.

Con respecto a la caracterización mediante la TCMD de las imágenes nodulares visualizadas, resulta materialmente imposible determinar la arquitectura interna de cada una de ellas, debido a la pobre resolución espacial de nuestro equipo en el estudio de las imágenes de tamaño inferior a 5 milímetros. De lo expuesto anteriormente, se deduce que en nuestro experimento hemos descubierto más lesiones mediante la TC, aunque no hemos sido capaces de determinar su estructura interna. Nuestros datos relacionados con valores de atenuación altos de los micronódulos, nos indican la presencia de calcio en su interior.

De forma preliminar podríamos decir que la TCMD en estas condiciones, puede detectar las lesiones II,III y IV, debido probablemente a su mayor coeficiente de atenuación, motivo por el cual, no ha sido capaz de distinguir la única lesión tipo I.

4.3.2 Lesiones detectadas por TC sin correspondencia histopatológica

Del total de las imágenes nodulares subcentimétricas apreciadas con la TC (22) sólo 11 tuvieron interrelación histológica (50%).

A continuación se detallan las 11 imágenes nodulares visualizadas exclusivamente por TC. (Tabla 27).

Número	Diámetro en mm.	Unidades Hounsfield
4	1,1	240
6	1,0	134
7	1,2	117
9	1,3	136
13	1,3	120
14	1,0	108
17	1,0	121
18	1,2	90
20	0,9	104
21	1,0	121
22	1,0	133

Tabla 27. Características TC (tamaño y UH) de las imágenes nodulares no visualizadas en el estudio macroscópico.

La mayoría de las lesiones no detectadas presentan un diámetro minúsculo (entre 0,9 y 1,3 mm) y valores de atenuación bajos, a excepción de la imagen número 4 que tenía 240 UH. La reducción de las medidas y de densidad de los nódulos pulmonares, constituye una dificultad añadida para su correcta individualización macroscópica.

Estudio de la tuberculosis pulmonar mediante Tomografía Computarizada Multidetector en un modelo experimental de minipig

5. DISCUSIÓN

5.1 INTRODUCCIÓN

La TB es una de las enfermedades más antiguas que afectan al ser humano. Continúa siendo un grave problema de salud pública mundial con una elevada morbi-mortalidad acrecentada en estas últimas décadas por la coinfección con el VIH y la aparición de cepas resistentes al tratamiento.

En el momento actual, la batería de instrumentos disponibles para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la TB, no permite plantearse un control efectivo de la enfermedad. Por este motivo, resulta indispensable la innovación en el desarrollo de nuevos medicamentos y la producción de modelos vacunales, cuya existencia es necesaria para su erradicación.

La mayoría de estudios han demostrado que la BCG produce una protección efectiva contra las manifestaciones graves de la TB (meningitis y formas diseminadas) especialmente en la población pediátrica y es poca efectiva en las formas moderadas, como la pulmonar del adulto, que sigue siendo la principal fuente de infección. Por este motivo, el objetivo primordial de la lucha contra el *M. tuberculosis*, es desarrollar una vacuna que prevenga de las formas respiratorias de la enfermedad, con los consiguientes beneficios para la salud pública.

El conocimiento de la etiopatogenia de la infección tuberculosa y su fácil propagación mundial, ha llevado a considerar que los nuevos modelos vacunales deberían prevenir la infección en niños, la progresión de la enfermedad latente a infección activa y las formas respiratorias, con el objetivo de disminuir su transmisión. Las vacunas inmunoterápicas podrían tener un papel relevante en el tratamiento de la enfermedad activa **(102)**.

En los últimos años se han desarrollado múltiples ensayos clínicos para el desarrollo de candidatos a vacunas contra la TB. Los estudios preclínicos realizados en modelos de experimentación con animales pueden predecir la efectividad de estas vacunas en humanos. Las líneas de investigación a este respecto son múltiples, con la utilización de diferentes modelos animales (ratones, cobayas, *minipigs*, cabras, conejos y primates no humanos), diferentes vías de inoculación del microorganismo (aerosol, broncoscopia, endovenosa, transtorácica), estudio de diferentes tipos de vacunas con distintos protocolos de experimentación con el consiguiente análisis inmunológico, bacteriológico e

histopatológico de sus resultados para conocer su efecto protector, en ocasiones asociados a fármacos antimicrobianos.

La radiografía simple de tórax ha sido utilizada en diferentes modelos animales para el diagnóstico de la infección tuberculosa, especialmente en animales vivos. Su pobre resolución espacial y de contraste con respecto a otras modalidades de diagnóstico por la imagen, la convierten en un método poco eficaz en la valoración de la TB experimental, ya que la mayoría de las lesiones pulmonares pueden pasar desapercibidas debido a su baja densidad y reducido tamaño.

Capuano y cols., (96) en un modelo animal de primates no humanos, realizó un estudio cuyo objetivo era determinar la progresión de la TB y sus formas de presentación. Realizaron radiografías de tórax antes y después de la infección que sirvieron como método de selección para clasificar a los primates infectados de aquellos que no tenían enfermedad aparente (infección latente). Ninguna de las lesiones pulmonares calcificadas observadas en el estudio histopatológico fue detectada con la radiología convencional. Estos autores atribuyen la pobre correlación historadiológica al pequeño tamaño de las lesiones.

En la mayoría de experimentos con animales, la radiografía simple se utiliza como método de cribado para diferenciar la población infectada de la sana (103,104), basados en sistemas de puntuación excesivamente genéricos sin profundizar en la semiología de los hallazgos radiológicos.

La utilización de la radiología convencional en la TB experimental es anecdótica y con poca relevancia científica. Habitualmente su uso se limita a proporcionar un enfoque binario en el descubrimiento de la infección sin profundizar en la semiología, distribución y caracterización de los hallazgos radiológicos. Las publicaciones que hacen referencia a la utilidad de la radiografía de tórax para el diagnóstico de la infección torácica tuberculosa en el animal de experimentación vivo o muerto, demuestran que es un método útil pero con muchas limitaciones técnicas. En estos artículos, también existen limitaciones en la lectura e interpretación de las imágenes radiológicas, evaluadas mayoritariamente por personal sanitario no experto.

Los métodos de imagen, usados habitualmente en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con sospecha clínica de TB, pueden utilizarse como herramienta en la detección, localización y caracterización de las lesiones producidas por la TB en los animales de

experimentación. La mayor resolución espacial y de contraste, de los equipos de TCMD y de RM utilizados en la literatura a estos efectos, facilitan la visión morfoanatómica de las lesiones y su concordancia con los hallazgos histopatológicos.

La TC torácica en el animal vivo tiene ventajas sustanciales respecto a la RM, debido a que el aire pulmonar delimita con precisión las estructuras anatómicas y la patología pulmonar. Sin embargo, en el animal muerto la RM proporciona una mayor resolución de contraste y puede detectar la necrosis ganglionar y de los granulomas pulmonares. Sus principales desventajas están relacionadas con el tiempo de estudio y su menor resolución espacial (103).

La aportación del PET-TC en este campo ha sido motivo de debate en la literatura reciente (105,106,107,108). La información metabólica-funcional del PET unida a la imagen morfo-anatómica de la TC, nos permite discriminar entre las lesiones activas y residuales de la infección tuberculosa. En los resultados de algunos trabajos realizados a este efecto indican la existencia de una razonable correlación entre la actividad metabólica y la carga bacteriológica pulmonar en primates no humanos infectados (105).

En este sentido, se puede deducir que los métodos de diagnóstico por la imagen deben tener un papel relevante en la evaluación del efecto protector de los candidatos a vacunas de la TB en un modelo de experimentación animal.

5.2 TC MULTIDETECTOR (TCMD). PROCESADO Y POSPROCESADO DE LAS IMÁGENES OBTENIDAS

La caracterización de las posibles lesiones pulmonares tuberculosas en nuestra población estudiada debería realizarse con el método de diagnóstico por la imagen más versátil y con la mejor resolución espacial posible. En nuestro medio, la TCMD es una herramienta que nos permite visualizar y caracterizar estructuras de pequeño tamaño, desarrollar imágenes de alta resolución, reconstrucciones multiplanares, reproducciones de volumen y proyecciones de máxima intensidad, entre otras.

Nuestra experiencia en esta modalidad de imagen nos permitió poder abordar el reto de crear un protocolo técnico que diera una respuesta apropiada a la incógnita inicial que representó el estudio mediante TC de los pulmones sin aire de los cadáveres de *minipigs*.

Decidimos que el estudio por TC de los 24 paquetes pulmonares se realizara con el equipo TCMD de 64 coronas ubicado en el Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Este aparato dispone de una tecnología avanzada con muchas aplicaciones de hardware y software con opciones técnicas en el desarrollo de la imagen médica. El sistema viene equipado con software y hardware que permite la realización de estudios clínicos avanzados (CT perfusión, Cardio TC, Angio TC, análisis de nódulos pulmonares, colonoscopia virtual, CT Advanced Vessel Analysis (AVA), fluoroscopia, etc), una excelente calidad de imagen en estudios de alta resolución, amplia cobertura anatómica y reducir el tiempo de exploración y la dosis de radiación.

Las reconstrucciones multiplanares (MPR) y la reproducción de volumen (VR) han sido de incalculable valor para el estudio anatómico y semiológico de las muestras de nuestro trabajo, ya que la rapidez de ejecución y la versatilidad del sistema nos ha permitido caracterizar y localizar en los tres planos del espacio las lesiones pulmonares encontradas.

La calidad de las imágenes en un estudio de imagen con TCMD está directamente relacionada con la precisión del método de adquisición de los datos y la calibración del sistema.

El hecho incuestionable de que la dosis de irradiación podría ajustarse al volumen de las piezas anatómicas estudiadas sin las limitaciones ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*) aplicadas a los humanos y animales vivos, nos facilitó el trabajo de encontrar los parámetros de adquisición adecuados en el procesado de las imágenes.

La técnica de exposición de 100Kv / 350 mA, el grosor e intervalo de corte de 0,625 x 0,625 mm, con un tiempo de rotación de 0,8 segundos y una matriz de 512x512 nos aportaron una excelente resolución espacial y de contraste en todos los paquetes pulmonares estudiados.

Una vez realizadas las exploraciones TC y correctamente evaluadas mediante criterios de calidad de imagen, fueron enviadas y archivadas al PACS.

En relación con el posprocesado, el software de aplicaciones clínicas integrado en las estaciones de visualización, fue una herramienta esencial para la visualización, manipulación y caracterización de las imágenes. El análisis individualizado de cada una de las lesiones detectadas, su localización, enumeración, medición y cuantificación

densitométrica, nos ha proporcionado los datos que han sido la piedra angular de nuestras hipótesis de trabajo.

Los métodos de medida utilizados fueron diversos: manual de punto a punto, superponer una rejilla gráfica u obtener medidas de densidad, área o volumen mediante un ROI.

Los tipos de medidas y su descripción están reflejadas en la tabla 28.

	Tipo de medición	Auto/manual	Unidades de medida	Características
DISTANCIA	Punto a punto	manual	mm	Distancia entre dos puntos
ANGULO	Punto a punto	manual	grados	Distancia entre dos puntos
ROI	Gráfico de área	manual	mm ²	Valores de pixel y área
VOI	Gráfico de volumen	manual	mm ³	Valores de pixel y volumen

Tabla 28. Descripción de los tipos de medición realizados en el posprocesado de las imágenes

El principal inconveniente de estas funciones es que no son automáticas y deben realizarse mediante dispositivos manuales. Tampoco permiten evaluar la superficie o volumen de regiones de pequeño tamaño (inferiores a 8 mm de diámetro aproximadamente).

El software de aplicaciones clínicas utilizado permite el cálculo volumétrico de estructuras. El método es simple y sencillo pero no es automático. Es necesario delimitar la estructura a medir mediante un cursor de forma manual.

La medición del volumen de las estructuras de pequeño tamaño, como las lesiones milimétricas de nuestro estudio, no fue posible con este método. Con un cursor manual no puede delimitarse con precisión el contorno de las lesiones de diámetro inferior 8 mm y por tanto la medición de su volumen se altera significativamente.

En un intento de subsanar las limitaciones citadas, planteamos utilizar las aplicaciones de visualización y cálculo volumétrico de tumores integradas en el “IntelliSpace Portal” de Philips. El aplicativo descrito se realiza de forma automática y es autoajutable. Después de realizar algunas pruebas, pudimos comprobar que también tenía limitaciones técnicas cuando la lesión era milimétrica y debía ajustarse manualmente condicionando errores de cálculo.

En base a todo lo anteriormente citado podemos concluir que, cuando realizamos el análisis de las imágenes, no disponíamos de un método de imagen eficaz para el cálculo volumétrico de las lesiones pulmonares de nuestro experimento.

Dentro de los objetivos iniciales del experimento pretendíamos demostrar si existía una relación entre la localización de los nódulos pulmonares y el árbol tráqueobronquial. Creíamos que el aire intrabronquial nos sería de utilidad para poder diferenciar entre las estructuras vasculares y la vía aérea como ocurre en los animales vivos. En teoría la movilización del aire intrabronquial en las posiciones en decúbito supino y en prono nos ayudaría a delimitar las vías aéreas distales. Sin embargo en nuestras muestras, la extirpación previa de los órganos cardiovasculares, desencadenó la entrada de aire en el interior de los vasos pulmonares. Este hecho, unido a la inundación parcial del árbol bronquial con formol, hizo prácticamente imposible la individualización anatómica de las estructuras broncovasculares de pequeño calibre.

Éste fue el motivo principal por el que decidimos cambiar este parámetro por la distancia entre las imágenes nodulares y la pleura más cercana con el objetivo de diferenciar lesiones de distribución central o periférica.

Los programas de detección automática de nódulos pulmonares mediante sistemas CAD, como las aplicaciones ALA (Advanced Lung Analysis) y Lung VCAR, permiten detectar, caracterizar, segmentar y analizar nódulos pulmonares de baja densidad (subsólidos) y de pequeño tamaño. Pueden calcular de forma automática y precisa el volumen de las lesiones, proporcionando la imagen individualizada 3D de cada nódulo y guardar los datos del examen para su posterior valoración o comparación con otros estudios previos. Los diferentes valores de pixel entre el aire intrapulmonar (densidad negativa) y los nódulos pulmonares son la base para su detección y caracterización.

La ausencia del aire pulmonar imposibilita su uso en otras regiones anatómicas, en un pulmón atelectasiado y también en los pulmones sin aire de nuestro experimento

La desaparición del aire en los pulmones de los *minipigs*, constituyó la mayor dificultad para la visualización de las estructuras de pequeño tamaño o de baja densidad. Aplicamos los parámetros técnicos similares a los estudios TC hepáticos sin contraste endovenoso ya que ambos órganos, en estas condiciones, poseen una densidad similar.

5.3 NORMAS DE SEGURIDAD DURANTE EL PROCEDIMIENTO

El equipo TCMD utilizado (VCT 64 detectores de GE) ha sido diseñado y fabricado para garantizar el máximo nivel de seguridad de funcionamiento y cumple con todos los requisitos legales que se aplican a los equipos médicos. También dispone de mecanismos de protección contra la radiación, riesgos mecánicos, riesgos eléctricos y frente al láser (sistema de luz de alineación para definir con precisión la región anatómica de la exploración)

Sólo el personal sanitario cualificado está autorizado para manejar este aparato y debe garantizar su correcto funcionamiento.

La sala de exploraciones de TC está equipada con un alto nivel de protección contra la radiación. El Servicio de Radiología dispone de protocolos de actuación y hojas de información dirigidos a los pacientes sometidos a radiaciones ionizantes para evitar exposiciones innecesarias.

Las exploraciones TC de los 24 *minipigs* fueron realizadas siguiendo los protocolos habituales de seguridad para la protección de los trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes y riesgo biológico.

Hicimos el máximo esfuerzo en demostrar que las muestras no implicaban ningún peligro biológico para la población y elaboramos un protocolo de seguridad para evitar riesgos de contaminación en el Servicio de Radiodiagnóstico.

El riesgo de infección era inexistente debido a que el uso del formol para la fijación de los tejidos durante más allá de un mes, es una práctica habitual para poder manipular las muestras histopatológicas con seguridad y evitar contaminaciones. Otro aspecto remarcable es que la TB se transmite por vía aérea con el contacto reiterado con un paciente enfermo y son anecdóticas otras vías de contaminación. En la situación que nos afecta, si hubiera manipulación, sería en un corto espacio de tiempo (pocos minutos) lo que reduce a cero las posibilidades de contagio. De todo lo dicho se deduce que tampoco existía riesgo de contaminación a aquellos pacientes o personal sanitario que estuviesen en contacto con el aparato de TC después del procedimiento dada la ausencia de contacto directo con el material biológico.

Con el fin de no interferir con la actividad asistencial diaria, el Servicio de Radiología y la UTE, elaboraron un calendario conjunto para la realización de las exploraciones. Éstas

deberían hacerse antes del primer enfermo programado en la agenda de las exploraciones de la sala de TC para evitar interferencias con la actividad asistencial programada y de urgencias.

Se desechó la opción de cerrar la sala durante un periodo largo de tiempo para hacer la totalidad de las exploraciones durante un día, debido a que esta acción, produciría un impacto negativo en la programación asistencial, así como incomodidades innecesarias a nuestros pacientes. Para evitar esta situación se decidió un plan de trabajo que cumpliera el objetivo de realizar las exploraciones con el tiempo adecuado para cada una de ellas en una franja horaria libre de programación (de 7.30h a 8.15h). También decidimos que cualquier exploración de TC urgente o preferente indicada por el equipo de guardia que coincidiera en este espacio de tiempo, tendría prioridad absoluta.

Todas estas dificultades operativas fueron solucionadas con la colaboración de todos los miembros que participaron en el experimento así como de los responsables de la Dirección Médica y Dirección Gerencia de nuestro hospital que nos apoyaron en todo momento.

Compatibilizar la actividad médica habitual y las prácticas de laboratorio con animales de experimentación es materialmente imposible. Nuestros hospitales universitarios, que mayoritariamente realizan estudios de investigación clínica, no disponen de la infraestructura necesaria para compartir sus recursos físicos y humanos con las unidades de experimentación animal. Este alejamiento logístico entre ambos sectores representa el principal inconveniente para fomentar la investigación dentro de la profesión médica.

5.4 HALLAZGOS MORFORRADIOLOGICOS DE LOS PULMONES DE LOS 24 MINIPIGS ESTUDIADOS

El primer problema a solventar en el trabajo, estaba relacionado con nuestro desconocimiento de la anatomía básica del aparato respiratorio del cerdo, elemento esencial para concebir un algoritmo técnico que se ajustara a las características morfológicas del animal.

Los pulmones derecho e izquierdo de los *minipigs*, ocupan la mayor parte de la cavidad torácica, quedando entre ambos los órganos mediastínicos. El pulmón derecho está subdividido por cisuras en cuatro lóbulos: craneal (apical), medio (cardíaco), caudal

(diafragmático) y accesorio (intermedio). El pulmón izquierdo está subdividido en tres lóbulos: craneal, medio y caudal. Los pulmones se configuran adaptándose a la pared costal (cara lateral), mediastínica (cara medial) y diafragma (cara diafragmática). Los pulmones están envueltos por la pleura (101,110).

La similitud entre la anatomía de las vías aéreas del *minipig* y los humanos, es la razón por la cual este modelo animal se utiliza para realizar estudios funcionales respiratorios así como de toxicidad e infección pulmonar por inhalación (110,111).

Las principales diferencias anatómicas entre en árbol traqueobronquial de los *minipigs* y el ser humano son la presencia de un bronquio traqueal derecho y del lóbulo accesorio, hallazgos de una gran importancia para la evaluación anatómica de los bronquios y sus respectivos lóbulos (fig. 62).

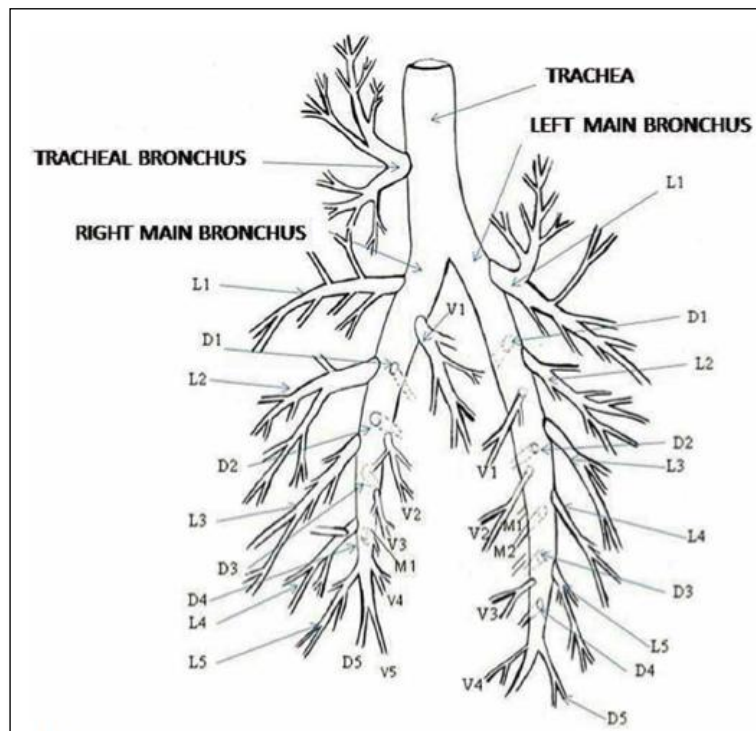


Figura 62. Anatomía de árbol traqueobronquial del *minipig*

Los cerdos son animales cuadrúpedos por lo que la tráquea y las vías aéreas tienen una disposición horizontal, a diferencia del humano.

El patrón de las divisiones bronquiales en el cerdo difiere con respecto a los humanos, en estos, el árbol bronquial presenta un patrón de división dicotómico (cada bronquio se subdivide en dos bronquios distales), mientras que en el cerdo es monopodial (fig. 63), los

bronquios secundarios nacen de un bronquio principal (110).

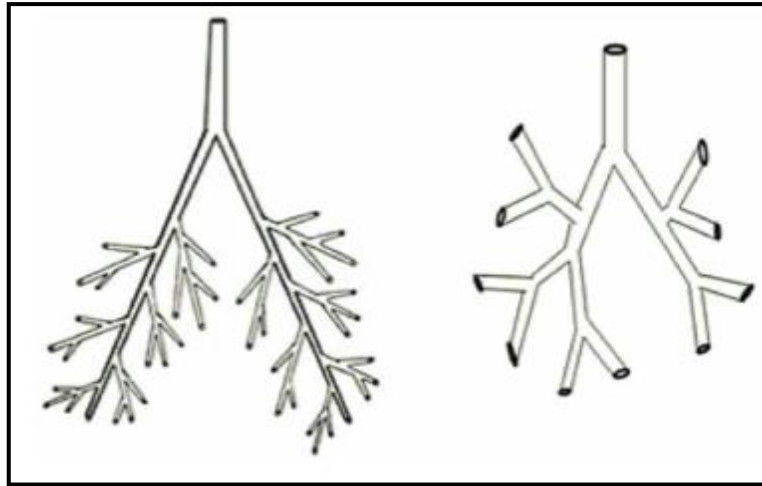


Figura 63. Patrones de división del árbol bronquial: Dicotómico (izquierdo) y monopodial (derecho)

Las siguientes subdivisiones bronquiales son similares al humano con bronquios lobares a segmentarios y así sucesivamente hasta los bronquiolos terminales. Los lóbulos y segmentos pulmonares son funcional y morfológicamente independientes (112).

El conocimiento de la anatomía broncopulmonar del *minipig* nos ayudó a plantear algunas hipótesis en la génesis de la infección tuberculosa.

Existen referencias bibliográficas relacionadas con el cálculo del volumen pulmonar de determinados animales de experimentación mediante TC y RM. En la mayoría de ellos el volumen valorado es total, sin tener en cuenta los lóbulos pulmonares ni el árbol traqueo bronquial (103,113,114). El volumen pulmonar total relacionado con el volumen de las lesiones detectadas, permite realizar porcentajes de la afectación pulmonar tuberculosa, como en el artículo de Pérez de Val y cols. realizado con cabras y analizado mediante un TCMD de 64 coronas de características similares al utilizado en nuestro experimento (114).

Sharpe y cols., en su estudio realizado el año 2009, utiliza la RM para cuantificar el volumen global de todas las lesiones tuberculosas detectadas relacionado con el volumen pulmonar total para calcular el porcentaje de afectación tuberculosa en primates no humanos (103).

Ambos autores utilizan este recurso volumétrico comparativo integral para establecer la magnitud de la afectación pulmonar.

Ziyue Xu y cols., proponen un modelo de estudio TC - CAD, de análisis de las imágenes pulmonares y del árbol bronquial, mediante la segmentación del parénquima pulmonar con una extracción automática de la vía aérea en conejos y hurones vivos (113). Este método permite extraer el árbol traqueobronquial para su posterior registro tridimensional y volumétrico. Estos autores exponen que tuvieron muchas dificultades para delimitar anatómicamente las paredes de los bronquios de pequeño calibre, dato éste que dificultaba la correcta evaluación de la anatomía de los lóbulos y segmentos pulmonares. Estos métodos de segmentación pulmonar no pueden ser aplicados a nuestro estudio con animales muertos. El aire intrabronquial y pulmonar, ausente en el animal muerto, es imprescindible para el reconocimiento de las vías aéreas.

El estudio morfo-anatómico de los 24 paquetes pulmonares de los *minipigs* fue realizado con la aplicación de Volumen Rendering (VR) que representa el volumen total de los datos obtenidos con un control de la opacidad y translucidez de los diferentes tipos de tejidos seleccionados. Esta reproducción de volumen nos fue de mucha utilidad para el reconocimiento de la anatomía normal del *minipig* y sus variantes.

En nuestro experimento, no pudimos utilizar esta técnica en la caracterización de las lesiones pulmonares tuberculosas, debido a que el ajuste de los parámetros técnicos debía ser individualizado manualmente con una importante pérdida de tiempo y de precisión de los datos obtenidos. El software de aplicaciones del VR que disponíamos tampoco permitía enumerar las lesiones detectadas.

Uno de los objetivos primordiales de nuestro trabajo radicaba en la localización tridimensional de cada una de las 945 lesiones observadas en el interior del volumen de sus respectivos pulmones. Los datos sincronizados de los ejes de las imágenes nodulares con las coordenadas del volumen global de los pulmones nos permitió hacer un análisis topográfico de la localización de las lesiones tuberculosas.

Actualmente no hemos encontrado ninguna referencia en la bibliografía reciente de este método de trabajo, basado en el uso de coordenadas múltiples, para generar un volumen pulmonar total con el objetivo final de localizar con exactitud todas las lesiones en el interior de cada pulmón.

Un elemento esencial en el desarrollo de nuestro trabajo consistía en el conocimiento de la anatomía del cerdo, especialmente de los lóbulos pulmonares, que difieren significativamente del humano. La cara diafragmática de los pulmones del cerdo nos

permite observar el lóbulo accesorio o intermedio que es una estructura central de morfología trapezoidal con la punta dirigida hacia la tráquea. Su cara lateral izquierda, de mayor longitud que la derecha, contacta con el lóbulo caudado izquierdo. Este hallazgo nos permite conocer la lateralidad de los diferentes lóbulos que componen la anatomía lobular del cerdo (fig. 64). El lóbulo accesorio sólo puede identificarse en la posición de decúbito prono (cara diafragmática *up*) ya que en decúbito supino la presión del resto del pulmón colapsa al lóbulo accesorio.

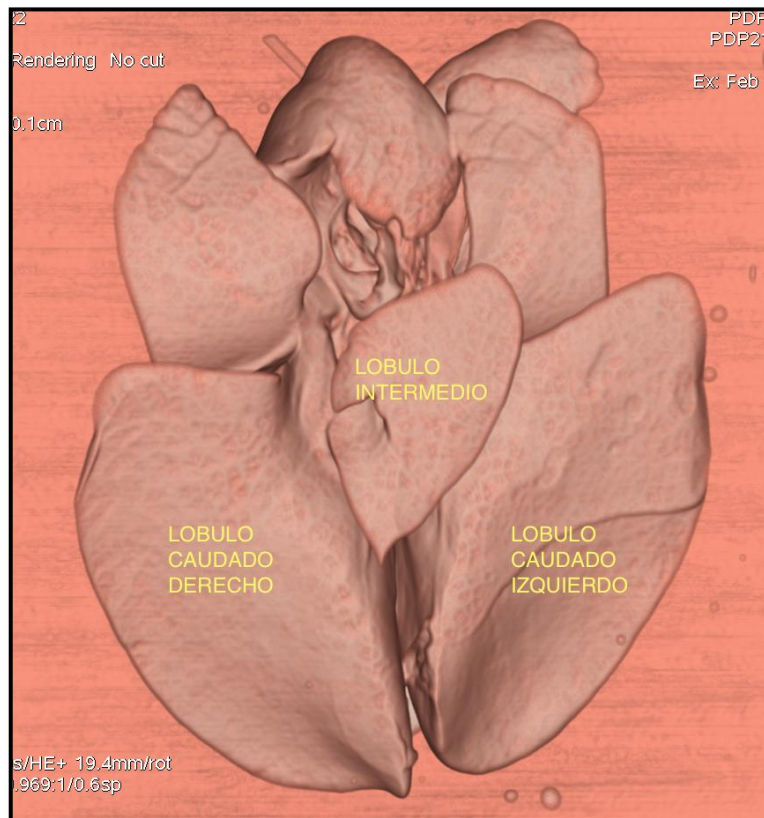


Figura 64. Imagen VR que permite observar el lóbulo intermedio y sus relaciones anatómicas con los lóbulos caudados

El estudio morfológico de los pulmones representó la base del resto de parámetros a evaluar en cada espécimen. Conocer con exactitud los límites anatómicos de cada lóbulo, delimitado por sus correspondientes cisuras interlobares así como las divisiones bronquiales, nos permitió ser muy precisos en la localización topográfica de las lesiones pulmonares identificadas.

Los resultados morforradiológicos obtenidos no presentaron diferencias significativas de la anatomía broncopulmonar descrita en los textos de la anatomía del cerdo.

5.5 CUANTIFICACIÓN DE LAS LESIONES

Revisada la bibliografía más relevante del uso de los métodos de diagnóstico por la imagen en la TB experimental, no hemos encontrado referencia alguna en la que algún grupo investigador haya utilizado nuestro método de trabajo para contabilizar, localizar y caracterizar de forma individualizada cada una de las lesiones observadas. La mayoría de trabajos publicados valoran la afectación pulmonar tuberculosa de una forma más global sin precisar sus características semiológicas particulares. Nuestro estudio, justificado en el recuento, localización y caracterización pormenorizada de todas las imágenes nodulares pulmonares, puede representar una buena alternativa para determinar la eficacia de las vacunas en animales de experimentación mediante métodos de diagnóstico por la imagen.

A diferencia de algunos estudios de alta resolución realizados con TCMD en animales de experimentación, en los que el posprocesado de las imágenes se realizó exclusivamente con VR (115), nosotros preferimos utilizar esta técnica sólo para el estudio morfo-anatómico global de cada paquete pulmonar.

En el barrido sistemático preliminar para identificar las lesiones pulmonares escogimos la técnica MIP debido a su capacidad de distinguir lesiones de alta densidad y de pequeño tamaño. Una vez localizadas las imágenes patológicas, todas fueron analizadas con corte ultrafino (0,6 mm) en formato multiplanar, sin modificar el grosor de corte para homogeneizar todos los datos analizados.

El VR tiene un especial interés debido a la gran información anatómica 3D que aporta, aunque tiene algunas limitaciones en la discriminación de las imágenes de pequeño tamaño. Para la detección de estas lesiones, es necesario realizar ajustes manuales de opacidad y de color del VR que no aportan un valor añadido al estudio y no permiten hacer una correcta caracterización de cada una de las imágenes nodulares descubiertas. En nuestro estudio, creemos que el VR no es la técnica idónea para la caracterización y recuento de las múltiples lesiones pulmonares milimétricas en esta tesis ya que no permite evaluar con precisión sus características morfológicas y densitométricas (fig. 65 y 66).

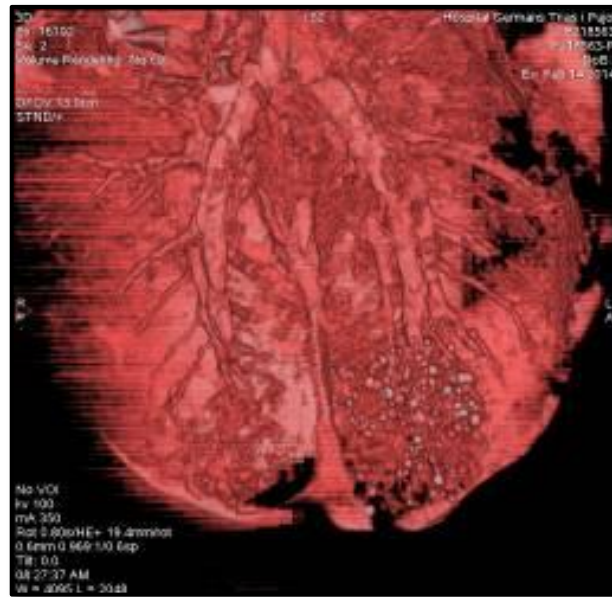


Figura 65. Imagen VR: nódulos localizados en lóbulo caudado izquierdo



Figura 66. Imágenes MPR de los nódulos calcificados en lóbulo caudado izquierdo observados en la figura 65 mediante VR

5.5.1 Enumeración de las lesiones en los *minipigs*

Para el desarrollo de nuestro trabajo fue esencial disponer de dispositivos tecnológicos avanzados para poder señalar y enumerar cada una de las imágenes observadas sin cometer errores de identificación o de sobrevaloración. Asignar un número distintivo a

cada micronódulo analizado durante el procesado de las imágenes, nos facilitó saber el número total de lesiones de cada paquete pulmonar, cuántas de éstas eran derechas o izquierdas así como su localización 3D y distribución.

Nuestros resultados reflejan que la gran mayoría de *minipigs* infectados mostraron alteraciones significativas atribuibles a la infección tuberculosa. Solamente en tres de ellos, la TC no demostró lesiones, por lo que lo atribuimos a un defecto técnico en el mecanismo de inoculación del *M. tuberculosis*. En nuestro experimento se utilizó la vía intratraqueal mediante una cánula de 2 milímetros de diámetro. El personal que realizó el procedimiento reportó reflujo en algunos casos, lo que nos induce a pensar que éste pudo ser el motivo por el cual la infección no alcanzó los pulmones de este reducido número de *minipigs*.

En la literatura científica existen varias publicaciones que hacen referencia a los artefactos producidos en los resultados de la afectación pulmonar tuberculosa en animales de experimentación, relacionados con la técnica y las vías de inoculación del agente patógeno. Sin embargo, no parece haber consenso con la dosis efectiva para estas situaciones.

Algunos autores opinan que con el uso de bajas dosis de *M. tuberculosis* administradas por una vía más directa (vía broncoscópica) son capaces de reproducir los granulomas necrotizantes típicos de la infección tuberculosa **(114)**.

La ruta de inoculación también puede comportar diferencias en la distribución de la enfermedad pulmonar. Sibley y cols., observaron con *rhesus macaques*, que la instilación bacteriana con broncoscopio producía las lesiones localizadas en la región anatómica donde se depositó el germen, mientras que en la vía aerosol la distribución era difusa **(116)**. La vía endoscópica producía lesiones más localizadas aunque mucho más graves en comparación con la ruta aerosol **(116)**.

Lewinsohn y cols., **(117)** utilizan la vía broncoscópica para la inoculación del bacilo tuberculoso en un modelo primate con *rhesus macaques*. En este estudio, depositan la totalidad de las dosis en el bronquio del lóbulo inferior derecho de cada uno de los animales. Mediante este método consiguen demostrar que el inicio de la infección corresponde al punto de inoculación directa (lóbulo inferior derecho) para progresar a los ganglios loco-regionales y posterior diseminación endobronquial contralateral sin diseminación vía hematógena. Este modelo de diseminación es superponible a la infección en humanos.

De lo expuesto anteriormente, podemos deducir que si la ruta de inoculación de las bacterias puede condicionar la localización y distribución de la infección pulmonar, la ruta de administración de las vacunas podría tener relevancia en su efecto protector.

La vía de aplicación de una vacuna puede determinar la localización y activación de las células antígeno-específicas protectoras del epitelio respiratorio aumentando su eficacia protectora. La evidencia científica de los estudios en modelos animales sugieren que la prevalencia de estas células en el epitelio respiratorio permite optimizar la protección contra el *M. tuberculosis* (51).

La efectividad de una vacuna será mayor si consigue una respuesta inmunológica en el lugar donde se ha iniciado el proceso infeccioso. Existe el consenso en reconocer el papel que desempeña el tejido linfóide de las mucosas (MALT) como un compartimiento inmunológico separado del sistémico o periférico. La suma de ambos sistemas permitirá incrementar la defensa contra la tuberculosis pulmonar (51).

White y cols., evaluaron la inmunogenicidad de la BCG administrada por vía aerosol en un modelo animal con primates con el objetivo de caracterizar la respuesta inmunológica local y sistémica. Estos autores exponen que la vía aerosol de administración puede ser una buena alternativa terapéutica ya que deposita la vacuna en el epitelio bronquial aumentando la respuesta celular T específica (118).

5.5.2 Localización de la infección pulmonar

En nuestro trabajo, la afectación bilateral sólo se apreció en un caso. Nuestros resultados no presentan una clara diferencia entre la localización pulmonar derecha (11) e izquierda (9). Este ligero predominio derecho puede explicarse por la disposición algo más vertical del bronquio principal derecho en el *minipig* al igual que ocurre en el primate (119).

En relación con el número de lesiones detectadas mediante la TCMD en cada grupo experimental, no parece que la efectividad de las vacunas esté relacionada con el número de lesiones detectadas, ya que en el grupo control, que no recibió tratamiento alguno, la infección pulmonar fue menor.

Estos resultados no van en consonancia con algunos estudios en los que se demuestra lo contrario..Kraft y cols., (120) evaluaron las imágenes con RM de dos grupos de cobayas infectados con *M. tuberculosis* por vía aerosol (grupo control y grupo vacunado con BCG). Estos autores exponen que el número de lesiones detectadas durante el primer mes en

ambos grupos fue similar. A partir de los 30 días, los animales no vacunados incrementaron progresivamente el número y el tamaño de las lesiones pulmonares con una substancial progresión adenopática, mientras que en los animales vacunados las lesiones persistían pequeñas.

En todo caso parece claro que el número de lesiones detectadas, en nuestro trabajo es directamente proporcional a la gravedad de la infección pulmonar.

5.5.3 Localización de las lesiones en los lóbulos pulmonares

No hemos encontrado ninguna referencia bibliográfica en la que se haya realizado el análisis de la distribución lobular de las manifestaciones radiológicas de la infección tuberculosa en un modelo animal. La mayoría de estudios previos evalúan la infección con parámetros globales y volumétricos, sin especificar la localización detallada de las manifestaciones radiológicas de la enfermedad tuberculosa ni sus relaciones anatómicas. La anatomía de los lóbulos pulmonares del *minipig* difiere ostensiblemente de la de los humanos aunque comparten algunos aspectos. Los lóbulos están separados por cisuras en ambas especies, por tanto para el reconocimiento de cada uno de ellos necesitamos identificar las cisuras interlobares y las divisiones bronquiales.

La gran mayoría de las lesiones halladas (96,2%) se localizaron en ambos lóbulos caudados sin un claro predominio de lateralidad. Esta distribución lesional tan marcada puede estar relacionada con el mayor volumen relativo de los lóbulos caudados con respecto al resto que condiciona un árbol bronquial más desarrollado con un número mayor de bronquios segmentarios (fig. 67).

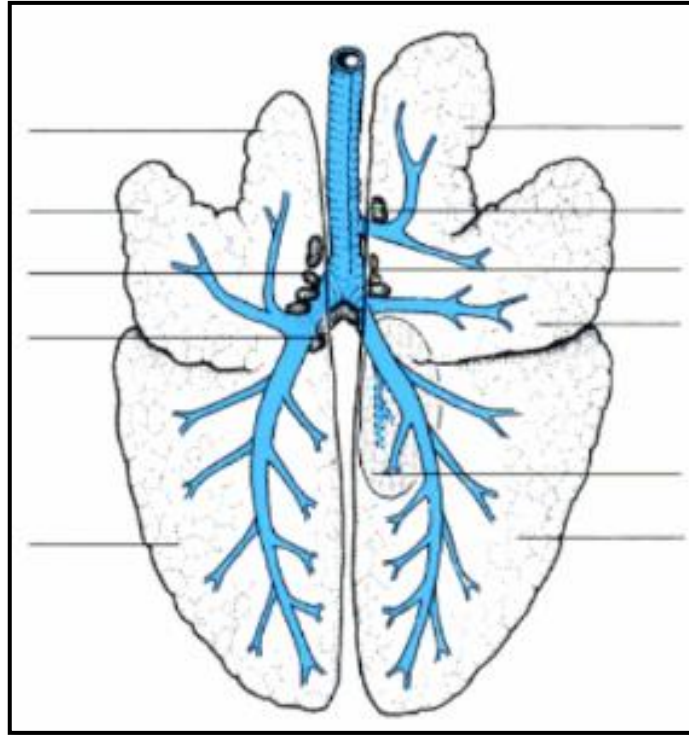


Figura 67. Anatomía broncopulmonar del *minipig* donde puede observarse el mayor tamaño de los lóbulos caudados con mayor número de bronquios segmentarios y subsegmentarios

Un dato a tener en consideración es la ausencia de lesiones observadas en el lóbulo intermedio. Este lóbulo está situado en la base de la cara diafragmática pulmonar entre el corazón y el diafragma, es de pequeño tamaño y su bronquio lobar tiene una orientación discretamente horizontal. No puede descartarse que la ausencia de lesiones en este lóbulo esté condicionada por su situación en el interior de la caja torácica, su menor movilidad y la orientación de su bronquio lobar.

5.5.4 Lesiones agrupadas

Cuando dos o más lesiones están en íntimo contacto pueden simular una lesión de mayor tamaño. Muchas veces resulta difícil precisar su individualización mediante TC. La adecuación de los parámetros técnicos del pre y procesado son esenciales para realizar estudios de alta resolución morfológica que nos ayudarán a segregar estas lesiones.

En nuestro experimento observamos 23 lesiones aglomeradas formadas por dos o más nódulos sólidos, que correspondían a 47 lesiones. Esto significa aproximadamente el 5% del total de las lesiones descubiertas, dato éste que va un poco en contra de la teórica

distribución aleatoria de la infección tuberculosa que no debería estar relacionada con un porcentaje tan alto de estas lesiones agrupadas.

5.5.5 Lateralidad de las lesiones pulmonares

El método de localización individual de las lesiones pulmonares basado en un sistema de coordenadas, nos ha permitido conocer algunos aspectos importantes sobre la situación y distribución de la infección tuberculosa. No hemos observado diferencias significativas entre el número de lesiones detectadas en el pulmón derecho (47%) con respecto al izquierdo (53%). No encontramos ninguna lesión localizada en la línea media y en un único caso la afectación fue bilateral.

Parece existir una discreta tendencia a la agrupación de las lesiones pulmonares derechas en contra de la afectación izquierda algo más dispersa.

Sí que existen diferencias entre algunos grupos. Si bien la distribución fue similar en los grupos A y B, en el grupo C fue de predominio izquierdo mientras que en el grupo D la mayoría de las lesiones se observaron en el pulmón derecho.

Estas diferencias en la localización deben estar relacionadas con el lugar donde se inició el proceso infeccioso como refieren algunos autores. La vía de inoculación y la técnica utilizada pueden contribuir a alterar los resultados de la investigación. Pérez de Val y cols., (114) emplearon una vía de inoculación intratraqueal de *M. caprae* similar a la de nuestro experimento, en un modelo animal con 13 cabras. El análisis posmortem histopatológico y bacteriológico se completó con el cálculo volumétrico grosero de la afectación pulmonar mediante TCMD. Estos autores advirtieron que la extensión intrapulmonar de la infección tuberculosa y su distribución lobular, estaban influenciadas por el proceso de inoculación y en consecuencia con la extensión ganglionar loco-regional. En su caso había un claro predominio derecho condicionado por la posición en decúbito lateral derecho durante el procedimiento.

5.5.6 Localización anterior-posterior

Determinamos que la cara posterior de los paquetes pulmonares estudiados pertenecía a la que estaba en contacto con la mesa del equipo TCMD y que anatómicamente corresponde a la cara diafragmática de los pulmones.

La localización predominante posterior (81,2%) de las lesiones observadas es un dato a tener en consideración. En este aspecto no sólo debemos plantearnos la hipótesis de relacionar esta distribución lesional con la implantación inicial de la infección, sino que debemos proponer otras opciones relacionadas con factores anatómicos, gravitacionales, de concentración de oxígeno o de la biomecánica de la deambulación de los cuadrúpedos.

En relación con la anatomía de los lóbulos pulmonares de los *minipigs*, sabemos que la infección pulmonar mayoritariamente está localizada en los lóbulos caudados (96,2%) que tienen un volumen significativamente mayor que el resto de lóbulos. El lóbulo caudado tiene una forma casi triangular con una cara diafragmática de mayor tamaño. El volumen global de estos lóbulos es mayor en las áreas posteriores con respecto a las anteriores.

En otro orden de cosas, el eje mayor del tórax en la deambulación cuadrúpeda del *minipig* es casi horizontal con una discreta oblicuidad cráneo-caudal. Este aspecto biomecánico permite que las zonas más declives pulmonares sean posteriores influenciadas por factores gravitacionales (fig. 68).

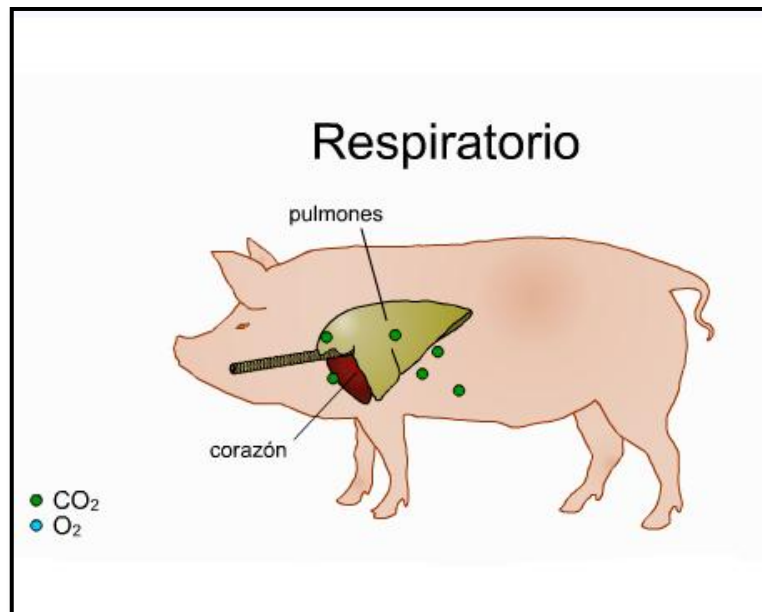


Figura 68. Disposición de los pulmones en la posición cuadrúpeda del *minipig*

5.5.7 Localización cráneo-caudal

El examen topográfico también demostró que la mayoría de las imágenes nodulares (96%) estaban situadas por debajo de la carina y muchas de ellas en un segmento concreto de ambos pulmones.

Sólo apreciamos afectación supracarinal en 4 *minipigs*. El tamaño de estas lesiones fue mayor que las infracarinales. Podemos atribuir la localización excepcional en los lóbulos craneales por una supuesta diseminación craneal de la infección producida por accesos de tos durante el proceso de inoculación.

5.5.8 Lesiones subpleurales

El número de nódulos subpleurales detectados con TCMD fue muy elevado. El 22,6% de todos los nódulos tenían contacto pleural. La distancia media entre la pleura más cercana y las lesiones fue de 5,3 mm.

Estos valores no tienen concordancia con otros estudios donde el contacto pleural de los granulomas es poco frecuente (95).

Las lesiones subpleurales detectadas en nuestro estudio pueden explicarse por la posición periférica de los bronquiolos centrolobulillares situados en el interior del lobulillo pulmonar secundario.

Probablemente las lesiones periféricas pueden crecer con más facilidad que las centrales debido a que no tienen estructuras anatómicas que se lo impidan.

No deberían haber diferencias significativas entre la detección por TC entre los granulomas subpleurales y centrales.

5.6 TAMAÑO DE LAS LESIONES

Con la tecnología utilizada en nuestro experimento, consideramos que el poder de resolución de nuestro equipo de TCMD para detectar y caracterizar las lesiones pulmonares de los *minipigs* era igual o superior a 0,9 mm. Por debajo de este umbral nuestros datos no serían valorables.

En nuestro estudio, la mayoría de las imágenes observadas en el grupo A (grupo control) tenían un diámetro medio inferior a la media (1,33 mm) y el 82% de estas lesiones, tenían un diámetro menor o igual a 1,5 mm.

Los diámetros medios de los nódulos pulmonares de los grupos B y C eran iguales (1,51mm), mientras que el grupo D la media era superior (1,58 mm) pero con unos registros muy heterogéneos.

De todo lo expuesto anteriormente podemos deducir que los *minipigs* tratados con vacunas presentaron lesiones de mayor tamaño con respecto a los individuos pertenecientes al grupo control.

Está ampliamente aceptado que la formación de granulomas tuberculosos indica una respuesta favorable del huésped para contener la infección y a su vez prevenir su progresión y propagación. El efecto protector de las vacunas frente a la TB se basa en el incremento de la respuesta inmunológica.

El tamaño de los granulomas pulmonares y de los ganglios linfáticos es directamente proporcional a la actividad de la infección. Existen estudios en modelos de experimentación animal, que han correlacionado las medidas de los granulomas con la carga bacteriana (107). En estos casos la TCMD puede ser de gran utilidad para monitorizar los cambios morfológicos de las lesiones tuberculosas relacionados con el tratamiento. La disminución del número y tamaño de las lesiones, puede utilizarse como herramienta de control para determinar la eficacia del tratamiento antimicrobiano.

Sin embargo, la valoración del efecto protector de las vacunas contra la TB no siempre sigue este patrón.

En el trabajo de Gil y cols., (95) en el que se compara el efecto terapéutico en un modelo *minipig* infectado con *M. tuberculosis*, los animales fueron divididos en tres grupos. En el primero, los *minipigs* fueron tratados con isoniacida exclusivamente, en el segundo grupo se utilizó un tratamiento combinado de isoniacida con la vacuna RUTI y el tercero era el grupo control que no recibió ningún tipo de tratamiento.

Este artículo también destaca por ser el primero en clasificar los granulomas pulmonares en cuatro tipos evolutivos en base a sus características estructurales. Las fases I y II corresponden a lesiones recientes, mientras los granulomas tipo III y IV representan etapas más tardías. Según estos autores, el proceso evolutivo descrito va acompañado de un incremento progresivo de su tamaño, de tal forma que las lesiones iniciales tipo I son las más pequeñas, mientras que las tipo III son las más grandes. El proceso involutivo de los granulomas tipo IV explica su menor tamaño, con respecto a los grupos II y III, pero son más grandes que los granulomas tipo I. En resumen, el proceso evolutivo de los granulomas tuberculosos va en proporción con el aumento de su tamaño. Las formas jóvenes tienen un área igual o inferior a $0,5 \text{ mm}^2$, las tipo II de $0,5-1 \text{ mm}^2$ y las tipo III de $0,5-2 \text{ mm}^2$. Las lesiones tipo IV, tienen un área más variable entre $0,5$ a $1,5 \text{ mm}^2$, siempre

superior a los tipos I y II. En este estudio, ambos tratamientos modificaron el curso natural de la infección pulmonar en el modelo *minipig*. La administración de isoniacida redujo el número de lesiones, aunque no permitió la evolución de las lesiones precoces a formas más maduras. Sin embargo, el efecto protector de la vacuna, junto a la isoniacida, aumentó el número total de lesiones de todos los tipos, fundamentalmente III y IV, e indujo al incremento de la inmunidad celular y humoral. El aumento del número de granulomas con el predominio de las formas tardías, debería producir un incremento del tamaño medio de todas las lesiones detectadas.

Esta línea argumental podría sernos de utilidad para poder explicar el aumento del diámetro medio de las lesiones observadas en los *minipigs* vacunados con respecto al grupo control en nuestro estudio. El efecto protector de una vacuna podría estar relacionado con el incremento del número y del tamaño de las lesiones detectadas mediante TCMD.

El diámetro de los nódulos pulmonares no tiene concordancia alguna con su posición por lo que podemos excluir fenómenos locales relacionados con sus medidas.

5.7 ANÁLISIS DENSITOMÉTRICO DE LAS LESIONES

Todos los equipos TC actuales son capaces de medir y expresar en cifras exactas el grado de atenuación de los tejidos cuando son atravesados por un haz de rayos X.

El grado de atenuación referido en Unidades Hounsfield (UH), es un parámetro específico de los aparatos de TC. Expresa numéricamente por cada centímetro y para cada tejido que atraviesa, la atenuación en la intensidad que experimenta el haz de rayos X desde que sale del tubo hasta que llega a los detectores. La computadora después de capturar esta información le otorga un valor numérico a cada pixel que se corresponde con el coeficiente de atenuación, este número corresponde a un color dentro de un escala de grises.

La escala de UH es el resultado de la transformación de la escala lineal de los coeficientes de atenuación de los rayos X en una escala en la cual el 0 corresponde al valor de atenuación del agua destilada en condiciones normales. Al valor de menor atenuación se le asigna el color negro (aire) y al de mayor atenuación el color blanco (calcio, metal). Al

resto de valores de atenuación se les asigna un valor en el rango de grises de forma proporcional siguiendo esta fórmula:

$$UH= 1000 \times \frac{\text{Valor atenuación del tejido}-\text{Valor atenuación del agua}}{\text{Valor atenuación del agua}}$$

Este método permite diferenciar tejidos y estructuras anatómicas según los valores de atenuación según se expresa en la tabla 29:

SUSTANCIA	UH
AIRE	-1000
PULMON	-500
GRASA	-100 a -50
AGUA	0
SANGRE	30 a 50
MUSCULO	10 a 40
HIGADO	40 a 60
HUESO TRABECULAR	700
HUESO CORTICAL	1000

Tabla 29. Valores de atenuación en UH de los tejidos

Los procesos para cuantificar las UH de cualquier estructura son diversos: medición en un punto concreto o el cálculo de los valores medios de atenuación en el interior de una área o volumen delimitado mediante un ROI o VOI.

Estos procedimientos pueden realizarse de forma automática, semiautomática o manual. En las dos primeras modalidades, el software de aplicaciones clínicas detecta las imágenes a analizar y calcula automáticamente sus UH.

Sin embargo, el principal inconveniente de estas funciones es que no son capaces de medir con exactitud lesiones de pequeño tamaño, ya que no pueden precisar sus límites reales ni su contenido. En estos casos, siempre es necesario hacer ajustes manuales imprecisos que

condicionan el resultado de las medidas. Estas limitaciones aumentan considerablemente cuando las imágenes a caracterizar son milimétricas o submilimétricas. La mayoría de equipos TCMD disponen de una buena capacidad de resolución espacial y de densidad, pero todavía tienen algunas restricciones en la caracterización de las imágenes inframilimétricas.

El equipo TCMD de 64 canales utilizado en nuestro trabajo tampoco es ajeno a estas limitaciones por lo que decidimos medir las UH de todos los micronódulos detectados, mediante la colocación manual de un cursor en un punto determinado de la imagen nodular con el consiguiente registro de sus valores de atenuación. Consideramos que este método no es todo lo exacto que hubiéramos querido, pero era el más apropiado teniendo en cuenta estas limitaciones técnicas.

Existen muchas referencias relacionadas con la caracterización y discriminación de las imágenes por TC en base a sus valores de atenuación. Algunos autores pretenden establecer patrones densitométricos por TC para diferenciar la composición química de las litiasis de las vías urinarias (**121-124**).

Marchini y Cols., (**121**) en una publicación con un TCMD de 64 detectores cuyo objetivo era demostrar si los valores de atenuación de las litiasis urinarias tenían una equivalencia con su composición química, excluyeron los cálculos de tamaño inferior a 4 mm ya que consideraron que por debajo de este umbral no tenían capacidad técnica para medir con exactitud su densidad. Establecieron patrones densitométricos calculando los valores de atenuación centrales (core) y los periféricos de cada litiasis para tener más datos objetivos para su análisis estadístico, que con toda probabilidad se hubiese visto afectado si se hubiesen incluido las de pequeño tamaño.

En nuestro trabajo todas las lesiones tenían un tamaño inferior a 4 milímetros por lo que debíamos utilizar el método de estudio más eficiente, teniendo en cuenta las limitaciones mencionadas. Previa realización de un zoom, colocamos el cursor en el centro de la imagen nodular y registramos sus UH.

Revisada la literatura que hace referencia al uso de la TC en la caracterización de las lesiones pulmonares producidas por el *M. tuberculosis* en el modelo animal, así como su papel en la valoración de la eficacia del tratamiento con la administración de vacunas o antimicrobianos, no hemos encontrado ninguna reseña significativa relacionada con el análisis tomodensitométrico de las lesiones pulmonares.

Coleman y cols., (105) en un trabajo cuyo propósito era revelar la respuesta terapéutica de las oxazolidinonas en primates y en humanos mediante PET-TC, propusieron un histograma muy general que clasificaba las lesiones en dos tipos: blandas (-500 a -100 UH) y duras (-100 a + 200 UH). Estos autores proponen que la eficacia terapéutica podría estar relacionada con la disminución de los valores de atenuación por TC de las lesiones pulmonares analizadas. En nuestra opinión creemos que subdividir las lesiones pulmonares en dos grupos tan amplios representa un obstáculo importante para la caracterización de la afectación tuberculosa.

El principal interés en la valoración del coeficiente de atenuación de las imágenes nodulares milimétricas observadas en el parénquima pulmonar de los *minipigs*, consiste en determinar si poseen calcio en su arquitectura interna. En ausencia de criterios morfológicos precisos para la caracterización individual de las lesiones citadas (contornos, necrosis central, tipos de calcificación, etc), la presencia de valores altos de atenuación nos indica que están parcialmente calcificadas.

Los valores en UH a partir de los cuales se considera que una estructura tiene densidad calcio han de estar referenciados con respecto al diámetro de la lesión. Cuanto mayor es una imagen se incrementan sus valores de atenuación independientemente de su composición. Existe pues una correlación estadística entre tamaño y radiodensidad. El término utilizado como *Hounsfield unit density* (UH/mm) es la relación entre el promedio de UH de una lesión y su diámetro máximo. En el estudio realizado por Motley y cols., (122) se utilizó esta regla para determinar la composición de las litiasis urinarias. Estos autores determinaron que las litiasis cálcicas de 1 a 4 mm tenían valores de atenuación de 105 +/- 43 UH. Valores de atenuación inferiores a estas cifras indicaban ausencia de calcio.

Basándonos en este concepto, en nuestro trabajo de investigación consideramos que las imágenes nodulares de densidad igual o superior a 120 UH estaban calcificadas. Las lesiones con guarismos inferiores fueron catalogadas como no calcificadas.

El estudio densitométrico del grupo control (grupo A) reveló unos valores de atenuación medios (106 UH) muy por debajo del resto. En este grupo sólo el 25% de las lesiones encontradas estaban calcificadas. Sin embargo, existió una gran diferencia con el resto de individuos vacunados en los que el 66% de las lesiones estaban calcificadas.

El 67% de las lesiones del grupo B estaban calcificadas con un densidad media de 160 UH. El 56% de las imágenes nodulares del grupo C presentaron calcio, con una media de 143

UH. Finalmente en el grupo D las imágenes con calcio representaron el 75% con una densidad media de 188 UH.

En base a nuestros resultados podemos concluir que el efecto terapéutico de las vacunas en nuestra población consiste en el incremento de la velocidad de calcificación de las lesiones.

No observamos ninguna relación entre el grado de calcificación y la situación de las imágenes nodulares.

La mineralización o calcificación en las lesiones tuberculosas es un proceso progresivo considerado como una respuesta favorable de curación. Cuando es completa indica respuesta curativa, mientras que cuando es incompleta puede albergar bacilos viables en su interior resistentes al tratamiento habitual que suponen un riesgo de reactivación de la enfermedad (97).

Diferentes modelos experimentales han sido utilizados para conocer la evolución de la ITBL. Las lesiones observadas en la infección tuberculosa en el modelo cobaya caracterizadas por una intensa respuesta inflamatoria con posterior fibrosis y mineralización similar a los humanos ha sido muy útil para conocer el comportamiento de la infección tuberculosa. En el momento actual, el modelo *minipig* está siendo utilizado en los ensayos preclínicos de candidatos a vacunas debido a las similitudes en la respuesta inmune con respecto al hombre.

Los primeros hallazgos histopatológicos de Canetti en 1955 (125) de la ITBL en humanos describen la evolución favorable de la infección con pequeños granulomas encapsulados con un halo fibrótico y centro mineralizado. Estas observaciones sugieren un control efectivo de la enfermedad tuberculosa.

El estudio realizado por Gil y cols., (95) nos muestra la evolución de la infección por *M. tuberculosis* en un modelo *minipig* alterada por diferentes tipos de tratamiento en los que se incluye la vacuna, donde los resultados obtenidos parecen ser similares a la ITBL en la población humana.

Las terapias con vacunas modifican el curso natural de la infección tuberculosa en el modelo *minipig* (95) incrementando la respuesta inmunológica celular y humoral. El efecto protector de las vacunas produce un incremento relativo de las formas tardías de los granulomas, más organizadas, que muestran mayor calcificación y consistencia

cartilaginosa. Estos cambios estructurales deberían producir un incremento de los valores de atenuación de las formas tardías (III y IV) con respecto a las precoces.

Los resultados de nuestro experimento en un modelo *minipig* nos permiten exponer que el TCMD es un método eficaz para detectar las lesiones pulmonares producidas por el *M. tuberculosis*, permite cuantificar de una forma precisa sus valores de atenuación para discernir entre granulomas calcificados y no calcificados.

La mayoría de autores coinciden en que la calidad de las imágenes obtenidas mediante los equipos TCMD modernos, pueden contribuir a medir la eficacia protectora de las vacunas en un modelo animal (117).

5.8 DISTANCIA ENTRE LAS LESIONES

La mayoría de las imágenes nodulares observadas estaban agrupadas en una región anatómica concreta. Sólo en un caso la afectación fue bilateral. De todos los pulmones examinados en ningún caso pudo demostrarse una afectación difusa.

El 93% de los granulomas tenían uno o más nódulos a menos de 10 mm de distancia.

Como se ha mencionado con anterioridad, la distribución de estas lesiones probablemente está relacionada con la técnica en la inoculación de la infección.

5.9 CORRELACIÓN ENTRE LOS HALLAZGOS TC Y EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

El modelo animal continua siendo de gran ayuda en la investigación preclínica de la eficacia terapéutica de los antimicrobianos y de las vacunas. La infección tuberculosa provocada en el animal de experimentación debe ser lo más parecida posible a la observada en humanos. El conocimiento de la etiopatogenia de la TB experimental, su progresión clínica y los hallazgos anatomopatológicos son elementos esenciales para el desarrollo de terapias antituberculosas y de los candidatos a vacunas.

La aportación del diagnóstico por la imagen en este campo está ampliamente aceptada y divulgada en la literatura científica reciente. Cada modalidad de imagen presenta ventajas

y limitaciones en la evaluación de la enfermedad tuberculosa en el modelo animal. En animales vivos puede utilizarse la TCMD con contraste endovenoso, el PET-TC y la radiología simple para el diagnóstico de las manifestaciones radiológicas producidas en el parénquima pulmonar, árbol traqueobronquial, hilios pulmonares y mediastino. En el animal muerto, la TCMD sin contraste endovenoso y la RM son de gran utilidad.

La correlación entre los hallazgos de una modalidad de diagnóstico por la imagen con la anatomía patológica es la piedra angular de cualquier procedimiento que pretenda establecer patrones semiológicos análogos entre ambas técnicas, con el objetivo adaptarlos a la práctica clínica habitual.

La radiología simple ha sido utilizada con frecuencia como método diagnóstico en la TB experimental (**96,103,105**). En algunas ocasiones los hallazgos de la radiología simple han sido evaluados con sistemas de puntuación (scoring system) imprecisos (**103**) o bien como herramientas para diferenciar entre sujetos infectados o sanos (**104**). En estos estudios, el valor añadido de la radiología simple es muy limitado, dada la escasa relevancia de los hallazgos semiológicos propios de la afectación torácica tuberculosa, de gran utilidad en el manejo de este tipo de pacientes.

Capuano III y cols., (**96**) en un modelo con primates utilizaron la radiografía de tórax como elemento diferenciador entre TB rápidamente progresiva (con hallazgos radiológicos como bronconeumonía, cavitación, etc), infección activa-crónica (con signos clínico-analíticos de infección tuberculosa y radiografías anómalas) e infección latente (sin signos clínicos de infección como mínimo de 6 meses de evolución con radiología negativa). El estudio patológico de los animales con hallazgos radiológicos positivos tuvo una correcta correlación histológica.

En los primates con infección latente la necropsia descubrió granulomas asociados a cambios fibróticos y calcificación. Ninguna de estas lesiones calcificadas fueron detectadas con la radiología simple, probablemente por su reducido tamaño. Estos autores concluyen que estos hallazgos histológicos representan un paso hacia delante en el estudio de la ITBL y su extrapolación a los humanos.

El PET-TC también ha sido utilizado en la TB experimental (**105-107**) para evaluar la eficacia terapéutica de algunos fármacos. Es una modalidad muy sensible pero poco específica. El mapa morfo-metabólico de las lesiones tuberculosas suele estar correlacionado con el estudio necrópsico (**107**).

La presencia de cambios metabólicos en el interior de los granulomas puede ser utilizada como indicador de la eficacia del tratamiento, ésta suele ir acompañada de una disminución del tamaño y de la actividad metabólica de los granulomas pulmonares.

Sin embargo, la afectación ganglionar es difícil de evaluar con el PET-TC y no suele ser un buen índice para evaluar la eficacia terapéutica. Los cambios durante el tratamiento antimicrobiano incrementan la captación adenopática de FDG probablemente por la activación de la inmunidad celular, sin que esto signifique un fracaso terapéutico.

Lin y cols., **(107)** demuestran en un modelo primate, que el PET-TC es una prueba que permite el seguimiento global de los granulomas pulmonares y la afectación ganglionar así como la eficacia de la terapia. Los hallazgos PET-TC e histológicos fueron similares a la infección en humanos.

Los hallazgos morfo-metabólicos del PET-TC en el modelo animal ayudan a discriminar entre las áreas activas o lesiones residuales **(105)** y pueden ser de utilidad en un futuro para la evaluación de las lesiones latentes en humanos.

En el animal muerto la RM tiene algunas ventajas con respecto a la TC: mejor definición de contraste de partes blandas y puede detectar la necrosis caseosa en el interior de los granulomas y de las adenopatías. La mayoría de estudios con RM en la TB experimental se limitan a realizar un cálculo del porcentaje entre el volumen total pulmonar y el volumen del pulmón infectado. Esta metodología de trabajo no permite establecer una buena correlación entre las imágenes por RM y la anatomía patológica **(103)**.

Sin embargo Kraft y cols., **(120)** en un modelo cobaya con dos grupos (vacunados con BCG y no vacunados) presentaron una buena correlación entre las imágenes obtenidas por RM y el análisis patológico en un grupo reducido de muestras. Estos autores exponen que las imágenes potenciadas en T1 proporcionan mayor detalle en los granulomas pulmonares evaluados. El análisis en la distribución, número y tamaño de las lesiones puede ser de utilidad para conocer el efecto de las vacunas. Las lesiones de tamaño inferior a un milímetro no fueron detectadas por RM. Estas lesiones milimétricas representan una parte del espectro de la infección tuberculosa activa y/o latente por lo que parece razonable utilizar modalidades de imagen con mayor poder de resolución que permitan detectar y caracterizar los granulomas submilimétricos.

A nuestro entender, el estudio minucioso e individualizado de las manifestaciones radiológicas de la infección tuberculosa puede ser la base para formular algunas hipótesis de trabajo que nos permitan avanzar en la investigación de la etiopatogenia, evolución, anatomía patológica, la efectividad de las nuevas vacunas y/o terapias así como la extrapolación de los resultados obtenidos en el modelo animal a los humanos.

La rápida adquisición de datos de los equipos TCMD de última generación permite realizar estudios de alta resolución. Los sistemas de visualización del posprocesado (MPR, MIP, VR, etc.) son de gran utilidad en la localización y caracterización de las imágenes obtenidas. En teoría, cuanto mejor es la imagen TC, más debería aproximarse a la realidad anatómica e histológica de la región estudiada.

En este aspecto existen algunas limitaciones técnicas: en primer lugar el poder de resolución del TCMD no es ilimitado y posee algunas deficiencias en la visualización de las lesiones de muy pequeño tamaño. Las limitaciones técnicas en el análisis de las lesiones milimétricas (0,5 mm a 4 mm) de la mayoría de equipos TCMD comportan una dificultad añadida para localizar y caracterizar este tipo de imágenes.

En estos casos, la resolución de las imágenes adquiridas no permite conocer la arquitectura interna de las lesiones. Sin embargo, podemos evaluar su densidad media y tamaño.

Estas limitaciones reflejadas en nuestro estudio deben tenerse en cuenta en la evaluación de la correlación radio-patológica.

Los trabajos publicados en la literatura en los que la TCMD se utiliza como herramienta para valorar la efectividad del efecto protector de las vacunas en el modelo animal presentan conclusiones muy dispares en relación a la concordancia entre los hallazgos de imagen y patológicos. En ocasiones, el número reducido de sujetos o las características del estudio aportan resultados discordantes.

Las diferencias entre las características de los estudios con diferentes modelos animales, animales vivos o necropsia, tipos de análisis de las imágenes, parámetros técnicos dispares, etc, proporcionan una muestra muy heterogénea.

Los resultados de algunos ensayos demuestran una pobre correlación TC-histológica **(114)** mientras que en otros existe concordancia entre ambas técnicas **(117)**.

La mayoría de trabajos comparan pequeñas muestras aisladas representativas de la afectación tuberculosa para intentar relacionarlas con las imágenes TC **(116)** con la intención de definir patrones semiológicos de la infección tuberculosa relacionados con las imágenes macroscópicas.

En este aspecto debe mencionarse la enorme dificultad que representa la identificación y enumeración de los granulomas pulmonares de pequeño tamaño, con frecuencia agrupados en un área circunscrita. Es preferible elegir una muestra con un número limitado de lesiones con el objetivo de facilitar su detección y localización. Estos parámetros topográficos son de enorme utilidad para localizar mediante TC cada una de las lesiones especificadas. Una vez emparejadas las imágenes, se realiza simultáneamente la visión macroscópica y radiológica de cada una de las lesiones, con el objetivo de clasificarlas según el tipo de patrón anatomopatológico y determinar su apariencia por TC (contornos, densidad y diámetro).

Es sabido que la TCMD es un método altamente sensible para detectar lesiones pulmonares de pequeño tamaño. Puede descubrir imágenes submilimétricas o de un volumen inferior a 1mm^3 . Muchas de estas pueden pasar desapercibidas en la evaluación macroscópica **(115)**.

En nuestro trabajo sólo hemos detectado 945 lesiones nodulares en 21 de los 24 *minipigs* examinados. Todas las lesiones encontradas tenían una morfología idéntica: imágenes nodulares de contornos lisos, alto coeficiente de atenuación, de tamaño variable (0,9 mm a 3,7 mm), de localización preferentemente lobular y unilateral sin un claro patrón de distribución pulmonar. En ningún caso observamos manifestaciones propias de la tuberculosis activa (afectación de espacio aéreo, cavitaciones, *tree in bud*, lesiones miliares, etc.) ni tampoco lesiones de aspecto fibrocicatricial, datos que fueron corroborados por el análisis macroscópico exhaustivo realizado a todos los *minipigs*.

La uniformidad morfológica y estructural de todas las lesiones detectadas por ambas técnicas conservan una importante concordancia con las descripciones de la ITBL en humanos descritas en la literatura. Canetti y cols., en 1955, refirieron los hallazgos histopatológicos de la TB de buena evolución como pequeños granulomas encapsulados con fibrosis periférica, mineralización o necrosis central. Esta descripción transcribe con fiabilidad el concepto actual de la ITBL.

En base a los resultados de nuestro trabajo, podríamos teorizar que los hallazgos radiopatológicos encontrados en los 21 *minipigs* infectados son superponibles a los publicados en la literatura en referencia al espectro continuo de la ITBL en el modelo animal, así como su posible extrapolación en humanos.

Relacionado con las limitaciones técnicas de nuestro estudio, determinamos que nuestro umbral de resolución espacial sería de 0,9 mm. La evaluación de las imágenes de menor tamaño podrían condicionar los resultados del trabajo.

Otro aspecto remarcable, derivado de nuestras limitaciones de resolución espacial cuando queremos evaluar imágenes de pequeño tamaño, es que cuando aplicamos cualquier factor de zoom a una lesión milimétrica, la imagen aumentada de tamaño resultante está pixelada y no permite su correcta caracterización.

Por este motivo, el zoom sólo lo utilizamos para medir el diámetro de las imágenes de pequeño tamaño en las que era muy difícil precisar de forma manual sus límites exactos.

Estas restricciones tecnológicas condicionaron el análisis comparativo entre las imágenes macroscópicas y los hallazgos del TCMD.

En primer lugar, seleccionamos una única muestra representativa de la afectación tuberculosa pulmonar con un número limitado de imágenes patológicas. Nos pareció más prudente escoger una sección con pocas imágenes patológicas para facilitar el trabajo de búsqueda, identificación y caracterización histológica en primera instancia. El trabajo topográfico del estudio macroscópico se basó en encontrar las referencias anatómicas adecuadas en cada una de las 13 lesiones observadas para que pudieran ser identificadas en las imágenes TC.

La investigación de la correlación historadiológica de la presente tesis tenía un doble propósito: En primer lugar, conocer si el TCMD podría descubrir más o menos lesiones que el examen macroscópico directo de los 24 *minipigs* y en segundo lugar si era posible establecer un patrón semiológico por TC para identificar cada una de las cuatro fases evolutivas de los granulomas pulmonares tuberculosos descritas por Gil y cols., (95).

El recuento de lesiones demostró que el TCMD descubrió más lesiones (22) que el examen macroscópico (13). Este dato tiene una clara explicación derivada del grosor del corte de las muestras histológicas, que suele ser de 10 mm, mucho mayor del que hemos utilizado en nuestro TCMD (0,6 mm.). Cuanto menor es el grosor de corte, mayor posibilidad de

detectar más lesiones de pequeño tamaño. Otro aspecto que influye en esta discrepancia a favor de la TC es que, en el examen directo, la superposición de estructuras o densidades, impide la visión de algunas lesiones que quedan escondidas en el campo visual del anatomopatólogo. Esta situación no se produce en la representación volumétrica efectuada con un equipo de TCMD, capaz de realizar imágenes en 3D.

En referencia a si la TC puede caracterizar los tipos de granulomas pulmonares descritos por Gil y cols., (95) deberíamos hacer varias consideraciones previas.

Un dato importante a tener en consideración es que las 22 imágenes patológicas detectadas por TC tenían un tamaño que oscilaba entre 0,9 mm y 2,3 mm. En sólo tres de ellas, su diámetro era mayor de 1,4 mm. Como hemos mencionado anteriormente, el tamaño de las lesiones limita nuestra capacidad de resolución y no nos permite analizar con precisión los contornos y su arquitectura interna. La caracterización morfológica y estructural de los granulomas milimétricos de esta tesis es inviable dadas las limitaciones técnicas anteriormente citadas.

Desde un punto de vista histológico, las cuatro fases evolutivas de los granulomas pulmonares se clasifican según sus características morfológicas y de estructura interna más reconocibles.

FASE	Márgenes irregulares	Necrosis	Calcificación	Consistencia cartilaginosa	Relación corona/necrosis
I	+	-	-	-	-
II	-	+	+ / -	-	+++
III	-	++	++	+	++
IV	-	+++	+++	+	+

Tabla 30. Características estructurales de cada una de las fases evolutivas de los granulomas TB.

Como puede verse en la tabla 30, las fases iniciales (I y II) se caracterizan por la escasa o nula calcificación y consistencia cartilaginosa, a diferencia de las etapas tardías (III y IV) donde la mineralización y la consistencia cartilaginosa son dominantes.

En nuestra serie pudimos observar que la única lesión en fase I descubierta en el examen patológico no fue detectada por TCMD.

El análisis patológico descubrió dos lesiones en fase II, de las cuales sólo una fue corroborada por TC. Existió una buena concordancia de las medidas de la lesión con ambas técnicas.

Todas los granulomas en fase III (9) fueron detectados mediante TCMD. En estos casos no observamos una buena correlación de las medidas entre ambas, pero sí, en cambio, la mayoría de ellas tenían valores de atenuación muy altos en relación con la presencia de calcio en su interior, dato característico en esta fase evolutiva (tabla 31).

El único granuloma pulmonar en fase IV tuvo correspondencia por TC sin discrepancias de tamaño con el análisis macroscópico.

Por lo que hace referencia a la correlación existente entre la histología y los hallazgos del TCMD de nuestro trabajo podemos concluir que en estas condiciones la TC puede detectar los granulomas pulmonares tipo II, III y IV, probablemente debido a sus altos coeficientes de atenuación relacionados con la mineralización o calcificación interna, hallazgos que caracterizan a este tipo de lesiones. Sin embargo, existen dificultades para descubrir por TC a los granulomas en fases iniciales debido a su escaso contenido cálcico.

La resolución espacial limitada de la mayoría de equipos de TCMD actuales no permite una correcta caracterización de la arquitectura interna de las lesiones submilimétricas que forman parte de la constelación de manifestaciones radiológicas de la TB pulmonar.

El tipo de lesiones observadas en nuestro estudio asociadas a la infección pulmonar por *M. tuberculosis* en un modelo experimental con *minipig* tiene muchas similitudes con los hallazgos reportados en la literatura de ITBL. Las imágenes nodulares milimétricas detectadas forman parte del espectro de la infección tuberculosa controlada (126). El TCMD permite detectar estas lesiones en sus diferentes fases evolutivas y puede ser de mucha utilidad para evaluar el curso natural de la infección en el modelo animal y su posible extrapolación a la tuberculosis en humanos.

Los cambios densitométricos de las lesiones analizadas por TCMD en los diferentes grupos tratados con candidatos a vacunas y el grupo control, permiten establecer la hipótesis de que el TCMD es una herramienta diagnóstica muy útil para evaluar la eficacia del efecto protector de las vacunas en un modelo experimental de *minipig*.

Número de lesiones		
Fase según histopatología	Detectadas por visualización estereoscópica	Detectadas por TCMD
I	1	0
II	2	1
III	9	9
IV	1	1

Tabla 31. Correlación del número de lesiones detectadas por visualización estereoscópica y TCMD

5.10 LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS

El diseño de nuestro experimento está basado en establecer la hipótesis de si la TCMD puede ser una herramienta útil en la evaluación de la historia natural de la TB en un modelo *minipig* y si ésta, es capaz de evaluar el efecto protector de las nuevas vacunas frente a la TB.

En referencia a la aportación de la TCMD en la valoración de la historia natural de la infección tuberculosa en nuestro modelo de *minipig* deberíamos realizar algunas consideraciones previas. Una vez infectados todos los animales con *M. tuberculosis* vía intratraqueal, éstos fueron divididos en cuatro grupos de seis animales cada uno. Tres grupos fueron tratados con candidatos a vacunas diferentes y un grupo control. Los animales fueron observados y controlados a diario hasta que fueron sacrificados 12 semanas después de iniciar el estudio. El único estudio de diagnóstico por la imagen se realizó con TCMD semanas después de la eutanasia. No se efectuaron pruebas de imagen previas para evaluar evolutivamente las manifestaciones radiológicas de la infección pulmonar. Este hecho refleja algunas limitaciones metodológicas en nuestro trabajo ya que no podemos establecer la patocronia de las lesiones pulmonares ni tampoco los cambios evolutivos de éstas relacionados con el tratamiento.

Existen algunas referencias en la literatura de la tuberculosis experimental relacionadas con la utilización de diferentes modalidades de diagnóstico por la imagen : PET-TC (107), RM (120), Radiografía de tórax (104) y TC (117) en diferentes modelos animales y líneas de tratamiento diferentes, en las que se evaluó la progresión natural de la infección

tuberculosa y su modificación en relación a determinado tratamiento o vacuna. En estos estudios, los controles periódicos mediante técnicas de imagen, permitieron conocer de una forma más precisa la historia natural de la infección. Algunos de estos estudios verificaron las diferencias morfológicas y semiológicas observadas entre las imágenes del animal vivo y muerto para evaluar las variaciones de la infección pulmonar durante el transcurso de las diferentes etapas de la investigación (120).

Nuestra limitada experiencia en los modelos de experimentación animal, especialmente en los métodos quirúrgicos de extirpación de los paquetes pulmonares de los *minipigs*, nos condujo a realizar algunos cambios conceptuales en el análisis de las imágenes obtenidas en el pre y procesado del procedimiento. En un principio, especulamos en explorar si la distancia de cada micronódulo con el bronquio reconocible más cercano podría ser un indicador fiable para determinar la propagación endobronquial de la infección tuberculosa. Pensamos que la vía aérea podría identificarse con claridad debido a la presencia del aire residual intrabronquial.

En teoría, podíamos movilizar el aire dentro del árbol traqueobronquial mediante un cambio de posición del injerto (decúbito supino vs decúbito prono) con la consiguiente movilización del aire intrabronquial que nos permitiría distinguir entre imagen tubular bronquial o vascular en aquellas situaciones de difícil valoración radiológica.

Cuando preparamos la primera exploración TC, pudimos comprobar que la extirpación previa de los órganos cardiovasculares había propiciado la entrada de aire en el interior de los vasos pulmonares. Si a este hecho, le añadimos que las vías aéreas estaban inundadas con formol, la suma de ambas incidencias, acrecentó la dificultad para individualizar las estructuras broncovasculares de pequeño calibre. Estas dificultades técnicas no pudieron ser corregidas con los cambios de posición de los paquetes pulmonares.

Por estos motivos decidimos abandonar nuestra idea inicial y cambiamos este parámetro por la distancia más corta entre el nódulo pulmonar y la pleura más cercana, con el objetivo de diferenciar entre lesiones centrales o periféricas.

La ausencia de aire pulmonar en el animal eutanasiado representa una importante dificultad técnica en la evaluación de las lesiones del parénquima pulmonar. Esta situación desencadena dos efectos negativos: la diferencia de densidades entre el aire de los pulmones y las lesiones de mayor coeficiente de atenuación (sólidas o subsólidas) es el fundamento físico que nos permite detectar y caracterizar las lesiones pulmonares. La

ausencia de esta interfase aire-sólido, nos obligó a cambiar algunos parámetros técnicos del procesado y posprocesado de la presente tesis.

Los programas de detección automática de nódulos pulmonares mediante sistemas CAD, son una herramienta muy útil para la detección, caracterización y el análisis multifase de los nódulos pulmonares. Son métodos precisos y rápidos que nos hubiesen sido de mucha utilidad si no fuera porque la base tecnológica de estos sistemas radica en la diferencia entre los valores de pixel del aire pulmonar (densidad negativa) y las lesiones de mayor densidad. Obviamente, no pudimos utilizar estas herramientas en nuestro estudio.

Una importante limitación técnica a considerar está relacionada con los métodos de medición manuales utilizados. El tamaño milimétrico de las lesiones analizadas no nos permitió utilizar métodos automáticos o semiautomáticos para calcular con precisión el volumen o el diámetro de las imágenes pulmonares. Estos programas dibujan el contorno de la imagen a evaluar y en base a estos parámetros, calculan su volumen y/o diámetro. Pero, cuando la lesión es muy pequeña, las imágenes deben ajustarse manualmente con el consiguiente error de precisión.

El cálculo manual del diámetro de todas las imágenes mediante la aplicación de un DFOV de 5.0 cm en todos los nódulos detectados está sujeto a imprecisiones en el cálculo de las medidas e incrementa la variabilidad intra e interobservador. Este sesgo debería ser solucionado en el diseño de nuevos trabajos con métodos de trabajo similares. El uso de software más potentes y precisos, evitaran este tipo de limitaciones tecnológicas.

La tecnología de nuestro equipo TCMD de 64 detectores tiene algunas limitaciones de resolución espacial, especialmente en aquellas estructuras de tamaño inferior a 5 milímetros. No es eficaz en la detección de las lesiones submilimétricas.

Su limitada resolución anatómica en este tipo de lesiones, no nos permite determinar la arquitectura interna de estas estructuras de pequeño tamaño. Por este motivo, en nuestro estudio no pudimos establecer patrones semiológicos por TC para identificar las características estructurales de los granulomas pulmonares. En conclusión, podemos decir que la TCMD detecta y localiza con precisión las lesiones de nuestra tesis pero no permite su correcta caracterización. En estudios posteriores debería contemplarse la posibilidad de usar equipos de mayor resolución espacial para avanzar en este campo.

5.10.1 Perspectivas

Algunos aspectos del método de trabajo utilizado en esta tesis merecen ser objeto de estudios posteriores para mejorar algunos de sus puntos débiles.

La principal dificultad a considerar está relacionada con las características morfológicas de las lesiones derivadas de la infección tuberculosa en un modelo de *minipig*. Todas las imágenes consideradas como patológicas, requerirían de una tecnología TCMD capaz de proveer imágenes de calidad con algoritmos eficaces que dieran como resultado una gran resolución espacial y de densidad.

Sería aconsejable diseñar estudios prospectivos con equipos de mayor poder de resolución para evitar las limitaciones detectadas en esta tesis, derivadas fundamentalmente del tamaño submilimétrico de los granulomas pulmonares. El incremento del poder de resolución de los equipos TCMD de alta gama, también podría informarnos con mayor precisión de aquellas lesiones cuyo tamaño está por debajo de nuestro umbral de visión.

Es incuestionable que necesitamos equipos de TC con mejores prestaciones técnicas que las utilizadas en nuestro trabajo, para corregir algunas de las debilidades detectadas.

Los artefactos derivados del tipo y vías de inoculación del *M. tuberculosis* producen alteraciones en la localización de la infección inicial tuberculosa y condicionan nuestra comprensión sobre la etiopatogenia de la diseminación pulmonar de la infección tuberculosa. Debería explorarse la vía aerosol que, a opinión de algunos autores (115), es la ruta de transmisión natural y produce una infección pulmonar diseminada a diferencia de las otras vías de inoculación (intratraqueal, broncoscópica, transtorácica, etc) utilizadas.

La uniformidad nosológica de todas las lesiones pulmonares analizadas en los 23 *minipigs* infectados y la ausencia de signos clínicos derivados de la infección experimental, nos transporta hacia la hipótesis de que las imágenes nodulares observadas forman parte del espectro de la ITBL, si nos atenemos a las descripciones ampliamente difundidas en la literatura.

No existen experiencias previas en la literatura de la TB experimental en las que se haya utilizado nuestro método de trabajo basado en la valoración conjunta, mediante TCMD y la histología, de la infección pulmonar y el efecto protector de las vacunas centrado exclusivamente en las características individuales de cada una de las lesiones diagnosticadas. Nuestra experiencia aporta un valor añadido a los experimentos realizados

hasta la fecha y puede abrir nuevas líneas de investigación en este campo en los próximos años.

Debería considerarse a corto-mediano plazo realizar estudios con TCMD a baja dosis en pacientes humanos previamente seleccionados, siguiendo nuestro método de trabajo basado en la caracterización individualizada de cada una de las lesiones, con el objetivo de establecer patrones radiológicos de la ITBL en humanos y sus cambios evolutivos relacionados con el tratamiento farmacológico y/o con vacunas.

Los resultados del contaje y descripción morfológica de las lesiones realizados en el marco de este trabajo están siendo usados por el grupo MOSIMBIO de la Universitat Politècnica de Barcelona (UPC), en colaboración con la UTE y nuestro grupo, con el fin de desarrollar y publicar un modelo experimental in silico (matemático) que pueda explicar cómo se desarrolla la enfermedad a partir de la ITBL.

6. CONCLUSIONES

- 1- Los parámetros técnicos del procesado y posprocesado del estudio, ajustados a las características volumétricas de los paquetes pulmonares, permiten realizar estudios TC con criterios de calidad válidos y reproducibles en la evaluación de la TB pulmonar en un modelo de *minipig* eutanasiado.
- 2- Las normas de seguridad formalizadas durante el procedimiento evitaron cualquier tipo de riesgo biológico o de radiación al personal sanitario y a los pacientes.
- 3- El TCMD de 64 coronas es una herramienta muy útil para la detección de las lesiones producidas por el *M. tuberculosis* en un modelo experimental de *minipig*; ya que permite identificar, cuantificar, caracterizar y situar en los tres planos del espacio todas las lesiones descubiertas.
- 4- La morfología de todas las lesiones detectadas por TCMD asociada a la ausencia de signos clínicos derivados de la infección experimental durante todas las fases del estudio, son compatibles con infección tuberculosa latente. La ausencia de hallazgos TC de TB activa corrobora esta hipótesis.
- 5- El diámetro de las lesiones es directamente proporcional a su densidad.
- 6- No existe relación alguna entre el diámetro y la densidad de las lesiones con su localización.
- 7- La efectividad del efecto protector de las vacunas no parece estar relacionada con el número de imágenes patológicas encontradas ni con su localización.
- 8- El diámetro medio de las lesiones tratadas es mayor que las del grupo control, debido a su mayor rapidez de crecimiento.
- 9- El efecto terapéutico principal de los *minipigs* tratados con vacunas está relacionado con el incremento de la velocidad de calcificación de las lesiones.
- 10- La TCMD es capaz de detectar granulomas en fases II, III y IV debido a su elevado coeficiente de atenuación. Detecta un mayor número de lesiones con respecto al estudio histopatológico, sin embargo, tiene poca resolución anatómica para determinar la arquitectura interna de cada una de ellas.
- 11- Un aspecto innovador en nuestra tesis es el análisis densitométrico de las lesiones con el propósito de distinguir entre granulomas simples o calcificados.

12- La mineralización de los granulomas es un buen indicador de la respuesta favorable frente a la infección tuberculosa. En un futuro puede utilizarse este parámetro para evaluar la eficacia del efecto protector de las vacunas o antimicrobianos.

13- Los resultados de nuestra tesis sugieren que la TCMD es una herramienta diagnóstica apropiada para evaluar nuevas estrategias terapéuticas y profilácticas en otros modelos experimentales animales o en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gutierrez MC, Brisse S, Brosch R, Fabre M, Omais B, Marmiesse M et al. Ancient Origin of Gene Mosaicism of the Progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathogens. 2005 ;1 (1): 55-60.
2. Báguena Cervera MJ. La tuberculosis en la historia. An. R. Acad. Med. Comunitat Valenciana. 2011; 12: 1-8.
3. Koch R. Die Ätiologie del Milzbrand-Krankheit,begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. Berliner Mediscinische Wochenschrift. 1882: 5- 25.
4. Vilaplana C, Cardona PJ. Tuberculin immunotherapy: its history and lessons to be learned. Microbes Infect. 2010 Feb;12 (2): 99-105.
5. Sakula A . Robert Koch: Centenary of the Discovery of the Tubercle Bacillus, 1882. Can Vet J. 1983; 24 (4): 127-31.
6. Caminero Luna JA, Casal Román M, Ausina Ruiz V, Pina Gutiérrez JM, Sauret Valet J. Diagnóstico de la tuberculosis. Grupo de Trabajo de la SEPAR. J. Arch. Bronconeumol. 1996; 32 (2): 85-99.
7. Walter Lederman D. La tuberculosis después del descubrimiento de Koch. Revista chilena de infectología. Edición aniversario. 2003; 20: 48-50.
8. Ryan F. Tuberculosis: the greatest story never told. Bromsgrove, England. Swift Publishers; 1992.
9. González-Martin J. Microbiología de la tuberculosis. Semin Fund Esp Reumatol. 2014; 15 (1): 25-33.
10. Polanco F. Monografías: Tuberculosis. Publicado el 25.06.2000. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos5/tuber/tuber.shtml>.
11. Starke JR. Tuberculosis En: Katz SL, Gershon AA, Hotez PJ, editores. Krugman. Enfermedades Infecciosas Pediátricas. 10ª Edición. Madrid: Ediciones Harcourt España; 1999. P. 571-604.

12. Riley RL. Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Tuberc.* 1957; 76:931-41.
13. Mellado Peña MJ, Méndez Echevarría A, Martínez Fernández MR. Tuberculosis. En: Muñoz Calvo MT, Hidalgo Vicario MI, Clemente Pollan J editores. *Pediatría Extrahospitalaria. Fundamentos clínicos para Atención Primaria 4ªEd.* Madrid: Ergon; 2008. p. 443-9.
14. Rivas-García A, Sarria-Estrada S, Torrents-Odin C, Casas Gomila L, Franquet E. Imaging findings of Pott's Disease. *Eur Spine J.* 2013; 22 (suppl 4): 567-78.
15. Moreno Pérez D, Andrés A, Altet N, Baquero Artigao F, Escribano A, Gómez Pastrana D et al. Diagnóstico de la tuberculosis en la edad pediátrica. Documento de consenso de la Asociación Española de Pediatría. *An Pediatr (Barc).* 2010; 72 (4): 283.e1-283.e14.
16. Geng E, Kreiswirth B, Burzynski J, Schluger NW. Clinical and radiographic correlates of primary and reactivation tuberculosis: a molecular epidemiology study. *JAMA* 2005 June 8; 293 (22): 2740-5.
17. Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol.* 2001; 19: 93-129.
18. Krutzik SR, Modlin RL. The role of Toll-like receptors in combating micobacteria. *Semin Immunol.* 2004; 16: 35-41.
19. Kaufmann SH, Parida SK. Tuberculosis in Africa: learning from pathogenesis for biomarker identification. *Cell Host Microbe.* 2008; 4 (3): 219-28.
20. Kaufmann SH. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? *Nat Rev Immunol.* 2001; 1(1):20-30.
21. Cardona PJ. 2015. The key role of exudative lesions and their encapsulation: lessons learned from the pathology of human pulmonary tuberculosis, *Front Microbiol* 2015; 6: 612. Doi: 10.3389/fmicb.2015.00612.
22. Barrios-Payán JA, Castañón-Arreola M, Flores-Valdez M, Hernández-Pando R. *Salud pública Mex.* 2010; 52 (1): 70-8.

23. Cardona PJ. A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection. *Infection*. 2009; 37 (2):80-6.
24. Cardona PJ. Revisiting the natural history of tuberculosis. The inclusion of constant reinfection, host tolerance, and damage-response frameworks leads to a better understanding of latent infection and its evolution towards active disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2010; 58 (1): 7-14.
25. Bru A, Cardona PJ. Mathematical modeling of tuberculosis bacillary counts and cellular populations in the organs of infected mice. *PLoS One*. 2010 Sep 23; 5(9): e12985.
26. Ozcaglar C, Shabbir A, Vandenberg SL, Yener B, Bennett P. Epidemiological Models of Mycobacterium tuberculosis complex infections. *Math Biosci*. 2012; 236 (2): 77-96.
27. Cardona PJ. New insights on the nature of latent tuberculosis infection and its treatment. *Inflam Allergy Drug Targets*. 2007; 6 (1): 27-39.
28. WHO (2015). Global Tuberculosis report 2015, World Health Organization.
29. WHO (2014). Global Tuberculosis report 2014, World Health Organization.
30. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Informe epidemiológico sobre la situación de la tuberculosis en España. Año 2013. Madrid, 2014.
31. Ordobás M, Cañellas S, García Fernández C, García L, Gutierrez MA, Rodero I, et al. Tuberculosis en la Comunidad de Madrid. Incidencia en personas extranjeras y españolas durante el periodo 1996-2004. *Rev Esp Pública*. 2007; 81(6): 597-603.
32. Chaves Sánchez F, Iñigo Martínez J. Tuberculosis e inmigración en España. *Rev Esp Salud Pública*. 2007;81:585-7.
33. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. Situació epidemiològica i tendència de l'endèmia tuberculosa a Catalunya. Informe anual 2014.

www.canalsalut.gencat.cat/web/content/home_canal_salut/professionals/temes_de_salut/tuberculosis/documents/arxiu/informe_anual_tuberculosis_2014.pdf

34. Programa de prevenció i control de la tuberculosi de Barcelona. La tuberculosi a Barcelona. Informe 2013. Edita: Agència de Salut Pública. Ajuntament de Barcelona.
35. Villaronga Luque A. Anàlisi de la incidència de la tuberculosi al districte de Ciutat Vella (Barcelona) mitjançant la modelització basada en l'individu. Centre d'Estudis Ramar 2, Sabadell.
36. Montes-Santiago J, Fernández C, Rey G, Mediero A. Hospitalizaciones por tuberculosis en España: análisis de sus costes. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28 (6): 358-61.
37. Diel R, Vandeputte J, de Vries G, Stillo J, Wanlin M, Nienhaus A. Cost of tuberculosis disease in the European Union: a systematic analysis and cost calculation. *Eur Respir J.* 2014; 43 (2): 554-65.
38. Sellar RS, Corbett EL, D'Sa S, Linch DC, Ardeschna KM. Treatment for lymph node tuberculosis. *BMJ.* 2010 Mar 10; 340: c63.
39. Mostaza JL, García Y, Fernández S, Bahamonde A, Fuentes MI, Palomo MJ. Análisis y factores predictores del retraso en la sospecha diagnóstica y tratamiento de los pacientes hospitalizados por tuberculosis pulmonar. *An Med Interna (Madrid).* 2007; 24 (10): 478-83
40. Solsona J, Cayla JA, Nadal J, Bedia N, Mata C, Brau J. Screening for tuberculosis upon admission to shelters and free-meal services. *Eur J Epidemiol.* 2001; 17 (2): 123-8.
41. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. 2010. Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis.
42. Cascante JA, Pascal I, Eguía VM, Hueto J. Diagnóstico de la enfermedad tuberculosa. *An Sist Sanit Navar.* 2007; 30 (Supl. 2): 49-65.

43. Calvo Bonachera J, Bernal Rosique MS, Medina Gallardo JF. Tuberculosis. Diagnóstico y tratamiento. Manual de diagnóstico y terapéutica en neumología. Segunda edición. Editorial Ergon. ISBN:978-84-8473-784-1. 2010 : 541-553.
44. Ruiz-Manzano J, Blanquer R, Calpe JL, Caminero JA, Caylà J, Domínguez JA et al. Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. Arch Bronconeumol. 2008;44 (10): 551-66.
45. Cruz AT, Starke JR. Clinical manifestations of tuberculosis in children. Pediatr Resp Rev. 2007; 8 (2): 107-17.
46. Generalitat de Catalunya. Agència de Salut Pública de Catalunya. Recomanacions per a la prevenció i el control de la tuberculosi pediàtrica a Catalunya. 2014.
47. González-Martin J. Microbiología de la tuberculosis. Semin Fund Esp Reumatol. 2014; 15 (1): 25-33.
48. González-Martin J, García-García JM, Anibarro L, Vidal R, Esteban J, Blanquer R et al. Documento de consenso sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010; 28 (5): 297.e1-20.
49. Sakamoto K. The Pathology of Mycobacterium tuberculosis Infection. Vet Pathol. 2012; 49 (3): 423-39.
50. Cordero Cruz AM, Gil Prieto R, Gil de Miguel A. Actualización de las nuevas vacunas frente a la tuberculosis. Medicina respiratoria. 2013; 6 (1): 45-52.
51. White AD, Sibley L, Dennis MJ, Gooch K, Betts G, Edward N et al. Evaluation of the safety and immunogenicity of candidate tuberculosis vaccine, MVA85A, delivered by aerosol to the lungs of macaques. Clin Vaccine Immunol. 2013; 20 (5): 663-72.
52. Cardona PJ, Amat I. Origin and development of RUTI, a new therapeutic vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* infection. Arch Bronconeumol. 2006; 42 (1): 25-32.

53. Seon HJ, Kim YI, Lim SC, Kim YH, Kwon YS. Clinical significance of residual lesions in chest computed tomography after anti-tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014; 18 (3): 341-46.
54. Burrill JB, Williams CJ, Bain G, Conder G, Hine AL, Misra RR. Tuberculosis: a radiologic review. *Radiographics.* 2007; 27 (5):1255-73.
55. Rakesh K, Gupta, Kumar S. Central nervous system tuberculosis. *Neuroimag Clin N Am* 2011; 21 (4):795-814.
56. MacLean KA, Becker AK, Chang SD, Harris AC. Extrapulmonary tuberculosis: imaging features beyond the chest. *Can Assoc of Radiol J.* 2013; 64 (4): 319-24.
57. Jeong YJ, Paeng JC, Nam HY, Lee JS, Lee SM, Yoo GG, et al. (18)F-FDG positron-emission tomography/computed tomography of radiographic lesions suggesting old healed tuberculosis. *J Korean Med Sci.* 2014; 29 (3): 386-91.
58. Jeong YJ, Lee KS. Pulmonary tuberculosis: up-to-date imaging and management. *AJR Am J Roentgenol.* 2008; 191 (3): 834-44.
59. Andreu J, Cáceres J, Pallisa E, Martinez-Rodriguez M. Radiological manifestations of pulmonary tuberculosis. *Eur J Radiol.* 2004; 51 (2): 139-49.
60. Leung AN. Pulmonary Tuberculosis: the essentials. *Radiology.* 1999; 210 (2):307-22.
61. Im JG, Itoh H, Shim YS, Lee JH, Ahn JA, Han MC, Noma S. Pulmonary tuberculosis: CT findings early active disease and sequential change with antituberculous therapy. *Radiology.* 1993;186 (3): 653-60.
62. Collins J, Blankenbaker D, Stern EJ. CT patterns of bronchiolar disease: what is “tree-in-bud”? *AJR Am J Roentgenol.* 1998; 171 (29): 365-70.
63. Franquet T, Stern EJ. Bronchiolar inflammatory diseases: high-resolution CT findings with histologic correlation. *Eur Radiol.* 1999; 9 (7): 1290-303.
64. Long R, Maycher B, Dhar A, Manfreda J, Hershfield E, Anthonisen N. Pulmonary tuberculosis treated with directly observed therapy. Serial changes in lung structure and function. *Chest.*1998;113 (4): 933-43.

65. Lee KS, Kim YH, Kim WS, Hwang SH, Kim PN, Lee BH. Endobronchial tuberculosis: CT features. *J Comput Assist Tomogr.* 1991; 15 (3): 424-8.
66. Poey C, Verhaegen F, Giron J, Lavayssiere J, Fajadet P, Duparc B. High resolution chest CT in tuberculosis: evolutive patterns and signs of activity. *J Comput Assist Tomogr.* 1997; 21 (4): 601-7.
67. Jeong YJ, Lee KS. Pulmonary Tuberculosis: Up-to-date imaging and management. *AJR Am J Roentgenol.* 2008; 191 (3): 834-44.
68. Harisinghani MG, McLoud T, Shepard JA, Ko JP, Shroff MM, Mueller PR. Tuberculosis from head to toe. *Radiographics.* 2000; 20 (2): 449-70.
69. Auerbach, O. Acute generalized miliary tuberculosis. *Am J Pathol.* 1944; 20 (1): 121-36.
70. Boloursaz MR, Khalilzadeh S, Baghaie N, Khodayari AA, Velayati AA. Radiologic manifestation of pulmonary tuberculosis in children admitted in pediatric ward-massih daneshvari hospital: A 5-year retrospective study. *Acta Medica Iranica.* 2010; 48(4): 244-9.
71. Kim WS, Moon WK, Kim IO, Lee HJ, Im JG, Yeon KM et al. Pulmonary tuberculosis in children: evaluation with CT. *AJR Am J Roentgenol.* 1997; 168 (4): 1005-9.
72. Kim WS, Choi JI, Cheon JE, Kim IO, Yeon KM, Lee HJ. Pulmonary tuberculosis in infants: radiographic and CT findings. *AJR Am J Roentgenol.* 2006; 187 (4): 1024-33.
73. MacLean KA, Becker AK, Chang SD, Harris AC. Extrapulmonary tuberculosis: imaging features beyond the chest. *Can Assoc of Radiol J.* 2013; 64 (4): 319-24.
74. Gibson MS, Puckett ML, Shelly ME. Renal tuberculosis. *Radiographics.* 2004; 24 (1): 251-56.
75. Wong A, Dhingra S, Surabhi VR. AIRP Best cases in radiologic-pathologic correlation: Genitourinary tuberculosis. *Radiographics.* 2012; 32 (3): 839-44.

76. Mateo L, Ruiz-Manzano J, Olivé A, Manterola JM, Pérez R, Tena X et al. Tuberculosis osteoarticular: estudio de 53 casos. *Med Clin (Barc)*. 2007; 129 (13): 506-9.
77. Nwawka OK, Nadgir R, Fujita A, Sakai O. Granulomatous disease in the head and neck: developing a differential diagnosis. *Radiographics*. 2014; 34 (3): 1240-1256.
78. Patkar D, Narang J, Yanamandala R, Lawande M, Shah GV. Central nervous system tuberculosis. Pathophysiology and imaging findings. *Neuroimaging Clin N Am*. 2012; 22 (4): 677-705.
79. Pinto LM, Dheda K, Theron G, Allwood B, Calligaro G, VanZil-Smit R et al. Development of a Simple Reliable Radiographic Scoring System to Aid the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One*. 2013; 8 (1): e 54235.
80. Sánchez Gómez SM. Sistemas de lectura asistida por ordenador. *Radiología*. 2010; 52 (Suppl 1): 14-7.
81. Den Boon S, Bateman ED, Enarson DA, Borgdorff MW, Verver S, Lombard CJ et al. Development and evaluation of a new chest radiograph reading and recording system for epidemiological surveys of tuberculosis and Lung Disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005; 9 (10): 1088-96.
82. Dawson R, Masuka P, Edwards DJ, Bateman ED, Bekker LG, Wood R et al. Chest radiograph reading and recording system: evaluation for tuberculosis screening in patients with advanced VIH. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010; 14 (1): 52-8.
83. Waitt CJ, Joekes EC, Jesudason N, Waitt PI, Goodson P, Likumbo G et al. The effect of a tuberculosis chest X-ray image reference set on non-expert reader performance. *Eur Radiol*. 2013; 23 (9): 2459-68.
84. Maduskar P, Muyoyeta M, Hogeweg L, Peters-Bax L, van Ginneken B. Detection of tuberculosis using digital chest radiography: automated reading vs. interpretation by clinical officers. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013; 17 (12): 1613-20.

85. Jaeger S, Karargyris A, Candemir S, Folio L, Siegelman J, Callaghan F, et al. Automatic tuberculosis screening using chest radiographs. *IEEE. Trans Medical Imaging*. 2014; 33 (2): 233-45.
86. Cardona PJ. Ventajas y limitaciones de los modelos de experimentación animal para el estudio de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003; 21 (7): 327-8.
87. Boada M, Colom A, Castelló N. La experimentación animal. Recuperado de [http://ddd.uab.cat/pub/therecpro/2011/800847la experimentación animal.pdf](http://ddd.uab.cat/pub/therecpro/2011/800847la%20experimentaci%C3%B3n%20animal.pdf).
88. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *Biomedicina*. 2006;2(3):252-6.
89. Acosta A, Norazmi MN, Hernandez-Pando R, Alvarez N, Borrero R, Infante JF et al. The importance of animal models in tuberculosis vaccine development. *Malaysian J Med Sci*.2011;18(4):5-12.
90. Kaufmann SHE. Immune response to tuberculosis: experimental animal models. *Tuberculosis (Edinb)*. 2003; 83: 107-11.
91. McShane H, Williams A. A review of preclinical animal models utilised por TB vaccine evaluation in the context of recent human efficacy data. *Tuberculosis (Edinb)*. 2014; 94 (2): 105-110.
92. Ronan O'Toole. Experimental Models Used to Study Human Tuberculosis. In. Laskin I, Sariaslani S and Gadd GM editors. *Advances in Applied Microbiology*. 2010. Volume 71. Burlington:Academic Press 2010. p. 75-89.
93. Mitchison DA, Chang KC. Experimental models of tuberculosis: can we trust the mouse. *Am J of Respir Clit Care Med*. 2009;180 (3): 201-2.
94. Borrero R, Álvarez N, Reyes F, Sarmiento ME,Acosta A. Mycobacterium tuberculosis: factores de virulencia. *VacciMonitor*. 2011; 20 (1): 34-8.

95. Gil O, Díaz I, Vilaplana V, Tapia G, Díaz J, Fort M et al. Granuloma encapsulation is a key factor for containing tuberculosis infection in *minipigs*. PLoS One. 2010; 5 (4): e10030. doi: 10.1371/journal.pone.0010030.
96. Capuano SV 3rd, Croix DA, Pawwar A, Zinovik A, Myers A, Lin PL et al. Experimental Mycobacterium tuberculosis of cynomolgus macaques closely resembles the various manifestations of human *M. tuberculosis* infection. Infect Immun. 2003; 71 (10): 5831-44.
97. Basaraba JR. Experimental tuberculosis : the role of comparative pathology in the discovery of improved tuberculosis treatment strategies. Tuberculosis. 2008; 88 (suppl 1): S35-S47.
98. Cardona PJ, Ausina V. Histopatología de la tuberculosis. Aproximación a la evolución de las lesiones pulmonares en modelos de experimentación animal inducidos mediante aerosol. Archivos de Bronconeumología. 2000 ; 36: 645-50.
99. Bode G, Clausing P, Gervais F, Loegsted J, Luft J, Nogues V et al. The utility of the *minipig* as an animal model in regulatoty toxycology. J Pharmacol Toxicol Methods. 2010; 62 : 196-220.
100. Judge EP, Hughes JM. Egan JJ, Maguire M, Molloy EL, O'Dea S. Anatomy and bronchoscopy of the porcine lung. A model for Translational Respiratory Medicine. Am J Respir Cell and Mol Biol. 2014; 51 (3): 334-43.
101. Ramírez Zarzosa G, Gil Cano F. Anatomía interactiva del cerdo. Universidad de Murcia 2008. Depósito legal : MU 2945-2008. ISBN : 978-84-691-7841-6 Murcia. España. (Anatomía 1).
102. Iglesias Gonzalo MJ. Presente y futuro de la vacuna de la Tuberculosis. Asociación Española de Vacunología; 2007. <http://www.vacunas.org/presente-y-futuro-de-la-vacuna-de-la-tuberculosis-2/>
103. Sharpe SA, Eschelbach E, Basaraba RJ, Gleeson F, Hall.GA, McIntyre A et al. Determination of lesions volume by MRI and stereology in a macaque model of tuberculosis. Tuberculosis (Edinb). 2009; 89: 405-16.

104. Domingo M, Gil O, Serrano E, Guirado E, Nofrarias M, Grassa M et al. Effectiveness and safety of a treatment regimen based on isoniazid plus vaccination with *Mycobacterium tuberculosis* cell's fragments: field-study with natural *Mycobacterium caprae*-infected goats. *Scand J Immunol*. 2009; 69 (6): 500-7.
105. Coleman MT, Chen RY, Lee M, Lin PL, Dodd LE, Maiello P et al. PET/TC imaging reveals a therapeutic response to oxazolidinones in macaques and humans with tuberculosis. *Sci Trnsl Med*. 2014; 6 (265): 265ra167.
106. Barry 3rd CE, Boshoff H, Dartois V, Dick T, Ehrt S, Flynn J et al. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the goals of prophylaxis. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7 (12): 845-55.
107. Lin PL, Coleman T, Carney JP, Lopresti BJ, Tomko J, Fillmore D. Radiologic responses in cynomolgous macaques for assessing tuberculosis chemotherapy regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57 (9): 4237-44.
108. Goo LM, Im JG, Do KH, Yeo JS, Seo JB, Kim HY et al. Pulmonary tuberculoma evaluated by means of FDG PET: findings in 10 cases. *Radiology*. 2000; 216 (1): 117-21.
109. Popesko P. Atlas de anatomía topográfica de los animales domésticos. 2ª edición. Tomo II : Tronco. 1998. Pag 100-8. Editorial Masson, S.A. ISBN: 9788445807507. Anatomia 3.
110. Monteiro A, Smith RL. Bronchial tree Architecture in Mammals of Diverse Body Mass. *Int. J. Morphol*. 2014; 32 (1): 312-6.
111. Bode G, Clausing P, Gervais F, Loegsted J, Luft J, Nogues V et al. The utility of the minipig as animal model in regulatoty toxicology. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2010; 62 (3): 196-220.
112. Krejci J, Nechvatalova K, Blahutkova M, Faldyna M. The respiratory tract in pigs and its immune system: a rewiew. *Veterinari Medicina*. 2013; 58 (6) : 206-20.

113. Xu Z, Bagci U, Mansoor A, Kramer-Marek G, Luna B, Kubler A et al. Computer-aided pulmonary image analysis in small animal models. *Med Phys*. 2015; 42 (7): 3896-910.
114. Pérez de Val B, López-Soria S, Nofrarías M, Martín M, Vordermeier HM, Villarreal-Ramos B et al. Experimental model of tuberculosis in the domestic goat after endobronchial infection with *Mycobacterium caprae*. *Clin Vaccine Immunol*. 2011; 18 (11): 1872-81.
115. Pérez de Val B, Villarreal-Ramos B, Nofrarías M, López-Soria S, Romera N, Singh M et al. Goats primed with *Mycobacterium bovis* BCG and boosted with a recombinant adenovirus expressing Ag85A show enhanced protection against tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2012; 19 (9): 1339-47.
116. Sibley L, Dennis M, Sarfas C, White A, Clark S, Gleeson F et al. 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)*. 2016; 96: 141-9.
117. Lewinsohn DM, Tydeman IS, Frieder M, Grotzke JE, Lines RA, Ahmed S et al. High resolution radiographic and fine immunologic definition of TB disease progression in the rhesus macaque. *Microbes and Infection*. 2006; 8 (11): 2587-98.
118. White AD, Sarfas C, West K, Sibley LS, Wareham AS, Clark S et al. Evaluation of the immunogenicity of *Mycobacterium bovis* BCG delivered by aerosol to the lungs of macaques. *Clin Vaccine Immunol*. 2015; 22 (9): 992-1003.
119. Sharpe S, White A, Gleeson F, McIntyre A, Smyth D, Clark S et al. Ultra low dose aerosol challenge with *Mycobacterium tuberculosis* leads to divergent outcomes in rhesus and cynomolgus macaques. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016; 96: 1-12.
120. Kraft SL, Dailey D, Kovach M, Stasiak KL, Bennett J, McFarland CT et al. Magnetic resonance imaging of pulmonary lesions in guinea pigs infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 2004; 72 (10): 5963-71.

121. Marchini GS, Remer EM, Gebreselassie S, Liu X, Pynadath C, Snyder G et al. Stone characteristics on noncontrast Computed Tomography: establishing definitive patterns to discriminate calcium and uric acid compositions. *Urology*. 2013; 82 (3): 539-46.
122. Motley G, Dalrymple N, Keesling C, Fischer J, Harmon W. Hounsfield unit density in the determination of urinary stone composition. *Urology*. 2001; 58 (2): 170-3.
123. Eliahou R, Hidas G, Duvdevani M, Sosna J. Determination of renal stone composition with Dual-Energy Computed Tomography: an emerging application. *Semin Ultrasound CT MR*. 2010; 31 (4): 315-20.
124. Manglaviti G, Tresoldi S, Guerrer CS, Montanari E, Sardanelli F, Cornalba G. In vivo evaluation of the chemical composition of urinary stones using Dual-Energy CT. *AJR Am J Roentgenol*. 2011; 197 (1): W76-83.
125. Canetti G. The tubercle bacillus in the pulmonary lesion of man. *Histobacteriology and its bearing on the therapy of pulmonary tuberculosis*. New York: Springer Publishing Company, Inc.1955.
126. Lyu J, Lee SG, Hwang S, Lee SO, Cho OH, Chae EJ et al. Chest Computed tomography is more likely to show latent tuberculosis foci than simple chest radiography in liver transplant candidates. *Liver Transpl*. 2011; 17 (8): 963-8.