



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

LA MULTIFARMACORRESISTENCIA EN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE LA CIUDAD DE MÉXICO

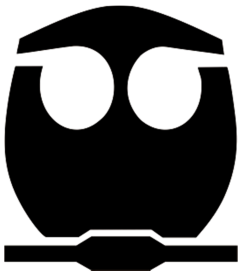
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

ERIKA ELIZABETH GONZÁLEZ ZAPATA

MÉXICO, DF. A DE JUNIO DEL 2013





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: GARZA VELASCO RAÚL
VOCAL: Profesor: GÓMEZ MARTÍNEZ ATONATIU E.
SECRETARIO: Profesor: LÓPEZ ÁLVAREZ MA. DEL ROCIO
1er SUPLENTE: Profesor: HERNÁNDEZ GÓMEZ LUCIANO
2º SUPLENTE: Profesor: ORTÍZ OSORNIO ALEJANDRO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio de Bacteriología, Hospital Regional Ignacio Zaragoza, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, DF, México.

ASESOR DEL TEMA:

M en C. María del Rocío López Álvarez

ASESOR TÉCNICO:

QFB. Rodrigo Barquera Lozano.

SUSTENTANTE:

Erika Elizabeth González Zapata.

LA MULTIFARMACORRESISTENCIA EN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE LA CIUDAD DE MÉXICO

CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES	8
1.1.	Historia	8
1.2.	Epidemiología.....	9
1.3.	Características generales.....	16
1.3.1.	Taxonomía.....	16
1.3.2.	Características microscópicas	18
1.3.3.	Estructura celular	19
1.3.4.	Propiedades culturales ¹⁰	24
1.4.	Tratamiento contra la tuberculosis.....	28
1.4.1.	Fármacos	32
1.5.	Farmacorresistencia.....	50
1.5.1	Factores de Riesgo	52
1.6.	Métodos diagnósticos fenotípicos para la determinación de cepas multifarmacorresistentes.....	54
1.7.	Definición de un Hospital de Tercer Nivel.....	62
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	63
3.	JUSTIFICACION.....	64
4.	OBJETIVOS	65
4.1.	OBJETIVO GENERAL.....	65
4.2.	OBJETIVOS PARTICULARES.....	65
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	67
5.1.	Aislados bacterianos.	67
5.2.	Metodología	70

5.2.1.	Preparación de Fármacos Antituberculosos	70
5.2.2.	Preparación del colorante	71
5.2.3.	Ensayo de susceptibilidad	72
5.2.4.	Análisis de la placa	75
5.3.	Determinación de características de los individuos en estudio.....	76
5.3.1	Definición de variables	76
5.4.	Análisis estadístico	78
6.	RESULTADOS	79
6.1	Resultados de susceptibilidad a los fármacos de primera línea	79
6.2	Correlación entre características socioeconómicas y demográficas y TB-MDR.....	81
6.3	Correlación entre estado de salud y prevalencia de TB-MDR.....	83
6.4	Correlación entre tratamiento previo y presencia de TB-MDR	85
7.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	86
7.1.	Resultados de susceptibilidad	86
7.2.	Características socio-demográficas y prevalencia de TB-MDR.	86
7.3.	Comparación entre las características clínicas de pacientes con infección por TB-MDR y pacientes con TB.....	89
7.4	Consideraciones finales.....	93
8.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	95
10.	REFERENCIAS.....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Incidencia y prevalencia de MDR-TB para México,	15
Tabla 2: Clasificación de medicamentos antituberculosos	30
Tabla 3: Dosis y reacciones adversas de fármacos de primera línea.....	31
Tabla 4 : Factores de riesgo asociados con MDR-TB.....	52
Tabla 5: Factores que propician la tuberculosis multifarmacorresistente....	53
Tabla 6 : Factores de riesgo socio-demográficos de las cepas en estudio...	69
Tabla 7: Comorbilidades y factores de riesgo de las cepas en estudio	69
Tabla 8: Concentración final de los fármacos.	73
Tabla 9: Variables recabadas para el estudio de MDR-TB.....	76
Tabla 10: Patrón de resistencia a fármacos en las cepas analizadas.....	80
Tabla 11: Comparación entre TB y TB-MDR por sexo, escolaridad y ocupación.	82
Tabla 12: Comparación entre pacientes TB y TB-MDR por contacto estrecho y hacinamiento.....	83
Tabla 13: Comparación de características clínicas entre pacientes con TB y TB-MDR.	84
Tabla 14: Comparación entre tratamiento previo y presencia de TB o TB-MDR.	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tasa estimada de incidencia, 2010.	11
Figura 2: Casos de incidencia de TB todas las formas,.....	13
Figura 3: Tasa de mortalidad de TB, todas las formas.	14
Figura 4: Entidades con la mayor tasa de incidencia de MDR-TB....	16
Figura 5: Fotografía microscópica de <i>M. tuberculosis</i> teñida por la.	19
Figura 6: Estructura celular de <i>M. tuberculosis</i>	24
Figura 7: Isómeros funcionales derivados de la INH	34
Figura 8: Sistema Fas II Fuente: Modificado de Takayama K.	36
Figura 9: Mecanismo de reacción de activación de INH Fuente: Modificado de Cade ET, 2010 (59)	36
Figura 10: Estructura del etambutol	41
Figura 11: Modelo estructural del arabinano en LAM y AG	42
Figura 12: Organización genómica de embA en <i>M. tuberculosis</i>	43
Figura 13: Ruta biosintética del arabinano y sitio de acción del ET.	45
Figura 14: Estructura de la rifampicina.	46
Figura 15: Estructura de la estreptomicina.	48
Figura 16: Conversión de resazurina a resofurina	58
Figura 17: Algoritmo general de trabajo.....	70
Figura 18: Esquema de la placa de cultivo en el ensayo de susceptibilidad	72
Figura 19 : Análisis de la placa de cultivo en la prueba REMA	75
Figura 20: Gráfica de distribución de cepas de <i>M. tuberculosis</i> por resistencia	79
Figura 21: Porcentaje de cepas TB-MDR, No TB-MDR y Sensibles..	81

“Ningún médico debería tratar un paciente tuberculoso si no es consciente de las causas potenciales del fracaso”

Sir John Wenman Crofton
(1912-2009)

1. ANTECEDENTES

1.1. Historia

Se sabe que la tuberculosis (TB) ha estado presente desde épocas antiguas, tal como lo demuestra la existencia de evidencias paleopatológicas de tuberculosis vertebral en restos neolíticos precolombinos, así como en momias egipcias que datan aproximadamente del año 2400 a.C. ⁽¹⁾. La primera referencia bibliográfica que se puede consultar se encuentra en los libros del Antiguo Testamento, donde se alude a la enfermedad consuntiva que afectó al pueblo judío durante su estancia en Egipto, zona tradicional de gran prevalencia de tuberculosis ⁽²⁾.

Aproximadamente en el año 380 A.C., Hipócrates efectuó una descripción detallada de un trastorno pulmonar llamado "tisis". Aristóteles, al observar que los contactos cercanos de los pacientes con tisis tendían a desarrollar la enfermedad, sugirió que ésta era causada por alguna sustancia exhalada hacia el aire en el aliento del paciente ⁽³⁾.

El médico griego Galeno, que practicó y escribió en Roma durante el siglo II D.C, describió principios del tratamiento que no se modificaron durante el siguiente milenio: reposo, eliminación de la tos, emplastos sobre el tórax, uso de astringentes para la hemorragia

y opio para la tos violenta. El Renacimiento trajo consigo un nuevo interés por la observación. Andrés Vesalio en 1478 y Francisco Silvio en 1678, describieron magistralmente la mayoría de los hallazgos anatomopatológicos en la tuberculosis pulmonar con una precisión tal que hasta la fecha permanecen vigentes ⁽²⁾.

En 1839, Johann Schölein sugirió por primera vez el nombre de tuberculosis y, en 1861, Oliver Wendell Holmes empleó el término peste blanca para llamar la atención sobre la prevalencia devastadora de la tuberculosis entre la sociedad ⁽²⁾.

Fue en 1882 cuando Robert Koch desarrolló algunas de las técnicas más importantes en la historia de la bacteriología: los medios sólidos (agar) para aislar bacterias y la forma de teñirlas, así como sus famosos experimentos inoculando ratones con sangre de enfermos; de esta manera pudo concluir que la septicemia es producida por microorganismos ⁽⁴⁾ y como pudo cultivar al bacilo de la tuberculosis, demostrando el origen microbiano de la tuberculosis al descubrir a *Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis)* ⁽⁵⁾.

1.2. Epidemiología

En el año 2011 la mayoría de casos de TB se registró en Asia (59%) y en África (26%) con una menor proporción de casos en las regiones

de Mediterráneo oriental (7.7%), la región europea (4.3%) y la región americana (3%). Los cinco países con mayor incidencia en el 2011 fueron la India (2.0 – 2.5 millones), China (0.9 – 1.1 millones), Sudáfrica (0.4 – 0.6 millones), Indonesia (0.4 – 0.5 millones) y Pakistán (0.3 – 0.5 millones). De los 8.7 millones que ocurrieron en el 2011, 1.1 millones (13%) se asociaron a individuos VIH positivos ⁽⁶⁾.

Los casos estimados prevalentes en el 2011 fueron 12 millones (170 por cada 100,000 habitantes) y los incidentes de 8.8 millones (128 por 100,000). Tanto en la tasa de incidencia como en la de prevalencia se ha observado una disminución desde el año 2002 hasta la fecha (Fig.1). La tasa de disminución varió desde menos del 1% por año en la regiones del Mediterráneo Oriental a 1.8% por año en la región de África y 3.7% por año en la región de las Américas ⁽⁶⁾.

Se calcula que en el 2011 hubieron 990 000 muertes, (esto es un equivalente a 14 muertes por cada 100,000 habitantes), ocurridas entre personas VIH negativas. Entre las personas VIH positivas se estima que hubo 430 000 muertes. Por lo tanto en total, aproximadamente 1.4 millones de personas murieron de TB en el 2011 de las cuales 500 000 fueron mujeres ⁽⁶⁾.

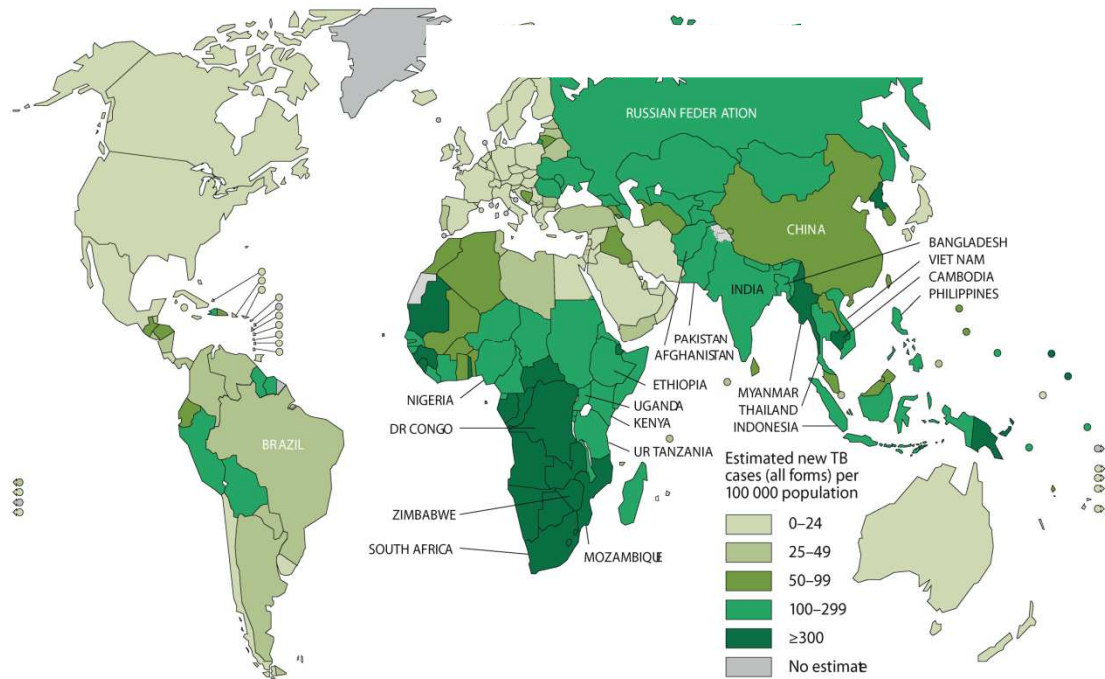


Figura 1: Tasa estimada de incidencia, 2010. Fuente: Global Tuberculosis Control 2011. WHO, 2011.

En 2011 hubo un estimado de 630,000 casos de tuberculosis multifarmacorresistente (TB-MDR) entre los 12 millones de casos prevalentes de TB. Si bien hubo un incremento en el número de pacientes con tratamiento para TB-MDR en los últimos cinco años, en el 2011 se les realizó la prueba de sensibilidad de medicamentos de primera línea a menos del 4% de los casos nuevos y al 6% de los casos de retratamiento. Globalmente, 3.7% de los nuevos casos y 20% de los casos de retratamiento presentaron TB-MDR ^(5; 6)

En América, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que se presentaron 272,000 casos incidentes en el año 2009 (equivalente a 19 casos por cada 100,000 habitantes), destacando Haití, Surinam y Bolivia como los países con mayor incidencia. Con relación a la prevalencia, hubo 340,000 casos (equivalente a 37 casos por 100,000 habitantes) y 19,000 muertes entre los casos de TB que correspondían a individuos VIH negativos ⁽⁷⁾.

En 2010, se presentaron 6300 casos de TB-MDR en la región de las Américas. Seis países (Perú, Brasil, México, Ecuador, República Dominicana y Haití) abarcaron el 80% del total ⁽⁷⁾.

En México, según el registro y notificación del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Tuberculosis, en 2010 se reportó un total de 18,848 casos nuevos en todas las formas, para una tasa de incidencia de 16.8 casos por cada 100,000 habitantes. Las tres tasas más elevadas se ubicaron en Baja California (54.1 casos), Tamaulipas (35.9 casos) y Guerrero con (32 casos) ⁽⁸⁾.

La distribución por localización muestra que la mayor proporción de casos (81.6%) corresponden a tuberculosis pulmonar, con una tasa de 13.7 casos por cada 100,000 habitantes, equivalente a 15,384 casos nuevos ⁽⁸⁾.

En el 2009, el índice de mortalidad por TB, en todas sus formas, fue de 2,225 defunciones en este país; la tasa de mortalidad de TB ha

presentado una notoria disminución: la tasa de TB en todas las formas ha pasado de 8.0 a 2.1 defunciones por cada 100 mil habitantes y, para TB pulmonar, de 6.5 a 1.7 defunciones ⁽⁸⁾.

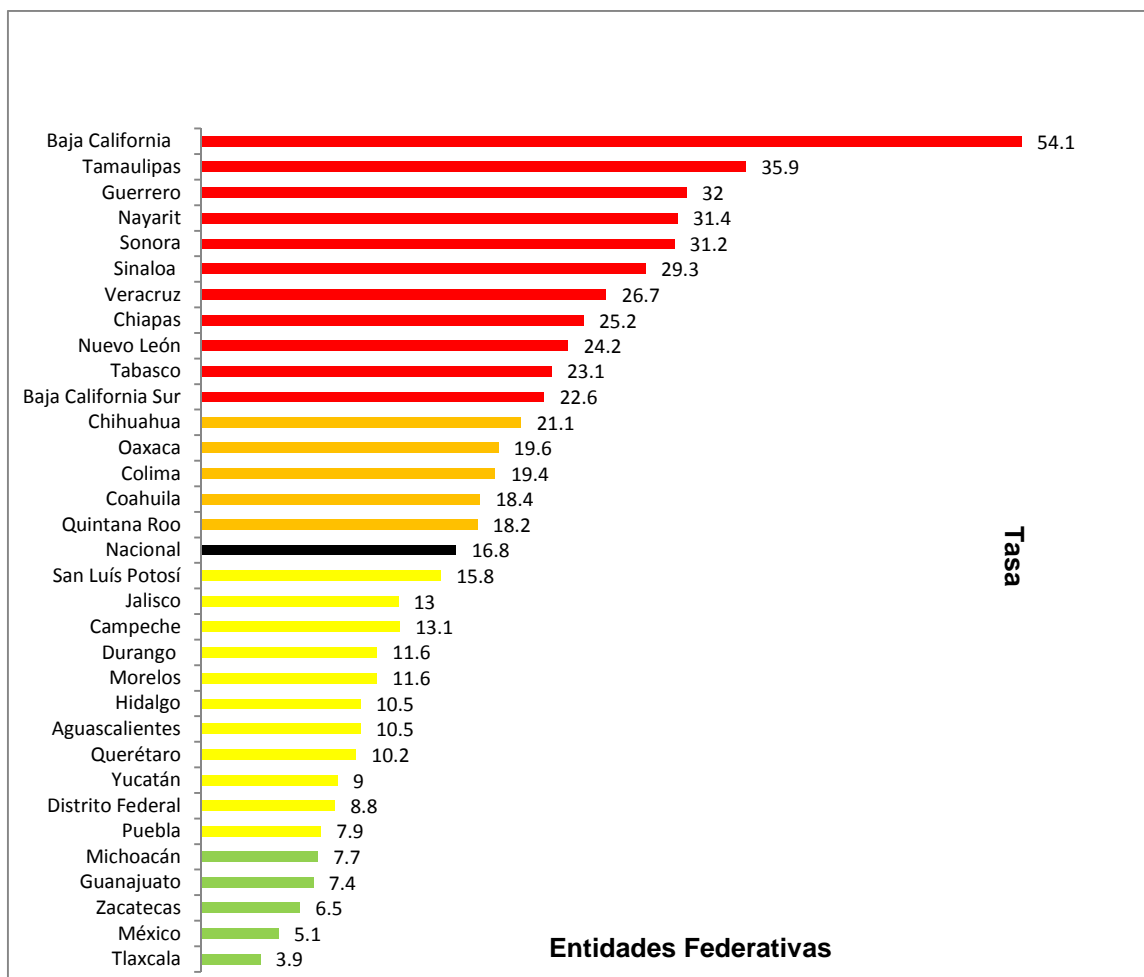


Figura 2: Casos de incidencia de TB todas las formas, México 2010.

Fuente: Plataforma única de información, módulo Tuberculosis, corte 2010, Marzo 2011. Dirección General de Epidemiología/Salud.

En el año 2009 se notificaron 2225 defunciones por TB, de las cuales el 69% correspondieron al sexo masculino (1,535 defunciones). La razón hombre:mujer fue de 2.2 defunciones en varones por cada

mujer fallecida y, acerca de la localización, 1875 defunciones (el 84.3%) se asociaron a TB respiratoria.

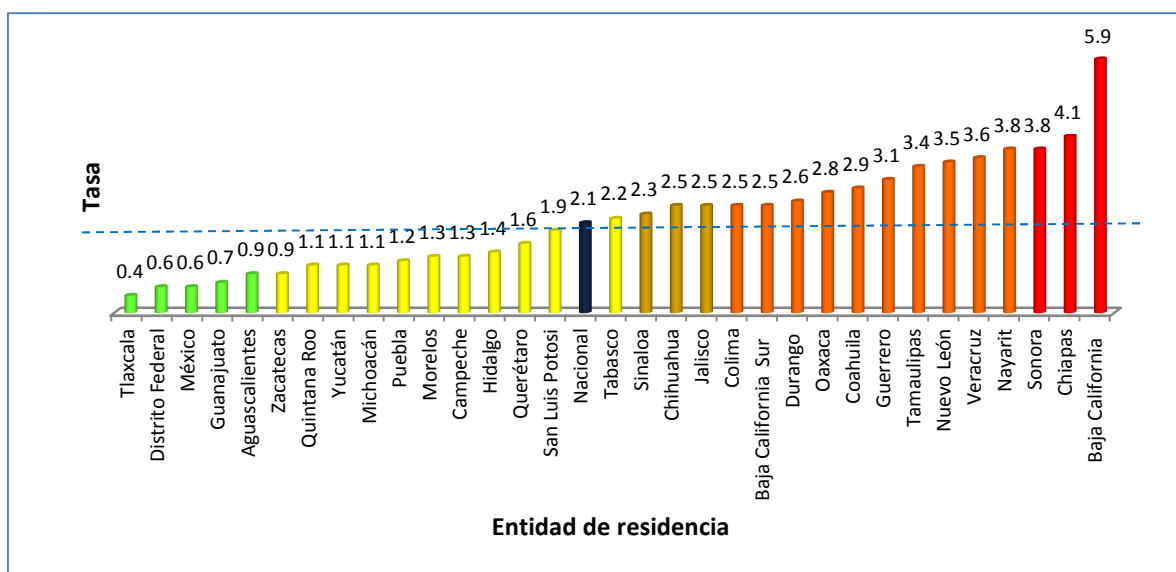


Figura 3: Tasa de mortalidad de TB, todas las formas.

Fuente: SINAVE/DGE/SALUD, 2012⁽⁹⁾

La tasa de mortalidad general correspondió a 2.1 defunciones por cada 100 mil habitantes, reportándose 17 entidades federativas con tasas superiores a la media nacional, entre las cuales nueve alcanzaron las cifras más altas (mayores o iguales a 2.8 defunciones por 100 mil habitantes)⁽⁸⁾. En 2010 se presentaron 140 casos nuevos de TB-MDR en 23 estados notificantes, de los cuales once concentraron al 80% (Fig. 4). Cabe señalar que nueve entidades federativas no notificaron este problema de salud⁽⁸⁾.

Tabla 1: Incidencia y prevalencia de MDR-TB para México, 2010

(casos por cada 100 000 hab.)

Entidad federativa	Incidencia Casos	Prevalencia Casos	Entidad federativa	Incidencia Casos	Prevalencia Casos
Veracruz	20	34	Sonora	3	9
Guerrero	14	15	Tlaxcala	3	3
Chiapas	13	23	Querétaro	2	1
Sinaloa	10	12	Durango	1	2
Tamaulipas	10	12	Quintana Roo	1	2
Distrito Federal	9	11	Yucatán	1	6
Baja California	8	28	Zacatecas	1	0
Guanajuato	8	8	Hidalgo	0	8
Puebla	7	16	Aguascalientes	0	5
México	6	5	Morelos	0	5
Oaxaca	6	16	Colima	0	4
Baja California Sur	4	6	Tabasco	0	3
Coahuila	4	23	San Luis Potosí	0	2
Chihuahua	3	3	Nayarit	0	1
Michoacán	3	6	Campeche	0	0
Nuevo León	3	28	Jalisco	0	0

Fuente: Modificado de SINAVE/DGE/SALUD,2012⁽⁹⁾.

Considerando los casos acumulados de TB-MDR en el año 2010, la prevalencia a nivel nacional fue de 297 casos y 14 entidades federativas concentraron al 82% del total (Tabla 1). Veracruz posee el mayor registro de casos nuevos y acumulados, mientras Zacatecas reporta la cifra menor⁽⁸⁾.



Figura 4: Entidades con la mayor tasa de incidencia de MDR-TB, México 2010

Fuente: Organización Panamericana de la Salud, Reporte Regional, 2009 ⁽⁸⁾.

1.3. Características generales

1.3.1. Taxonomía

El género *Mycobacterium* se encuentra ubicado dentro del orden *Actinomycetales* (por tratarse de actinomicetos), precisamente en la familia *Mycobacteriaceae* ⁽¹⁰⁾. Hasta hace algunos años, se aceptaba que el origen de la TB no era tan antiguo y tenía a *M. bovis* como punto de partida; sin embargo, nuevos estudios sobre las variedades genéticas en África oriental demostraron la existencia de un ancestro común que data de hace unos 3 millones de años ⁽¹¹⁾.

Hoy en día, dentro del género *Mycobacterium* se han descrito más de 125 especies de micobacterias diferentes ⁽¹²⁾ que pueden clasificarse en:

Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT): Engloba a un grupo de micobacterias que presentan > 95% de homología en su DNA, está compuesto por *M. tuberculosis*; *M. caprae* sensible a pirazinamida ^(12; 13; 14); *M. bovis* BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*, una cepa variante utilizada en vacunación y en instilaciones vesicales de pacientes con neoplasia de vejiga ⁽¹⁵⁾); *M. africanum* (principal causante de TB en África tropical ⁽¹⁶⁾) y *M. microti* (causante de TB en roedores y con escasa frecuencia en el ser humano, principalmente en inmunosuprimidos ^(12; 17)). Los integrantes incluidos recientemente en el complejo son *M. cannetti* y *M. pinnipeddi*, esta última causante de TB en lobos, elefantes y leones ^(18; 19).

Micobacterias no tuberculosas: El 10-30% de las micobacterias aisladas en laboratorios clínicos corresponden al grupo de las micobacterias no pertenecientes al complejo *M. tuberculosis*. Este grupo heterogéneo ha recibido históricamente otros nombres tales como micobacterias atípicas, *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT), micobacterias ambientales o micobacterias oportunistas ⁽¹²⁾.

M. avium, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. intracellulare* y *M. fortuitum*, figuran como las principales representantes de este grupo, cuyas integrantes provocan afecciones indiferenciables clínicamente de la TB ⁽¹⁰⁾.

Mycobacterium leprae: Esta especie produce la enfermedad infecciosa llamada lepra ⁽¹⁵⁾.

1.3.2. Características microscópicas

M. tuberculosis es un bacilo largo o curvo de 3 a 5 μm de longitud por 0.2 a 0.8 μm de ancho, aerobio, inmóvil, con abundantes gránulos citoplasmáticos, no formador de esporas, ni cápsula ^(10; 20). Posee una resistencia mayor a la tinción por colorantes comunes, pero una vez teñidos son resistentes a la decoloración con una mezcla de alcohol ácido, por lo que se les clasifica como bacilos alcohol-ácido resistentes (BAAR). La tinción de Ziehl-Neelsen utiliza fucsina y fenol en conjunto, con el paralelo calentamiento de las preparaciones. Las micobacterias se tiñen de rojo, coloración que perdura pese su posterior exposición a una mezcla de alcohol etílico y ácido - clorhídrico, sobre un fondo azul o verde, según se utilice como colorante de contraste al azul de metileno o al verde de malaquita ⁽¹²⁾. Se considera que la acidorresistencia es debida al alto contenido lipídico de estas bacterias, fundamentalmente fosfolípidos, ceras y ácidos micólicos ^(16; 20).

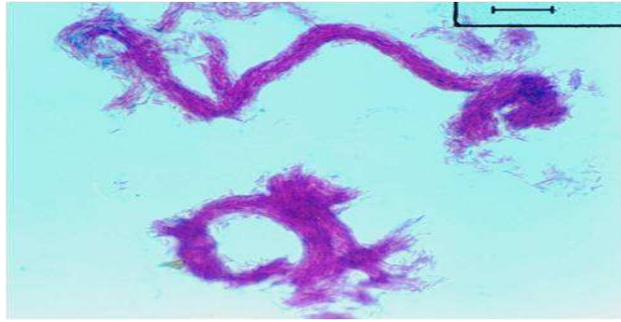


Figura 5: Fotografía microscópica de *M. tuberculosis* teñida por la técnica de Kinyoun

1.3.3. Estructura celular

La envoltura celular de *M. tuberculosis* se conforma de tres componentes principales: membrana citoplasmática, pared micobacteriana y una cápsula rica en polisacáridos ⁽²¹⁾.

La **membrana plasmática** de *Mycobacterium* tiene las características biológicas y bioquímicas de otros organismos Gram positivos aunque, en las micobacterias, los derivados fosfolípidos se caracterizan por estar altamente glicosilados dando lugar a moléculas como la lipoarabinomanana (LAM), que tiene un papel fundamental en la patogénesis de la tuberculosis ^(22; 21) ya que se es capaz de ejercer un cierto efecto inmunomodulador sobre algunos componentes de la respuesta inmune ⁽²³⁾.

En los primeros estados de la infección, la LAM interactúa con las células de la respuesta inmune innata, macrófagos y células dendríticas, modificando en ellos su patrón de producción de citocinas,

la tasa de presentación de antígenos y la activación de la respuesta mediada por células T, incluyendo la inhibición de diferentes mecanismos microbicidas⁽²⁴⁾.

Los dominios terminales ricos en manosa de la LAM son importantes en la unión de la micobacteria a receptores del macrófago tales como el receptor de manosa (RM), los TRL 2 y 4, el C3R y el DEC 205^(25; 26).

Las cepas de *M. tuberculosis* que presentan ManLAM, utilizan al RM y a los receptores del complemento C1R, C3R y C4R para internalizarse en el macrófago⁽²⁶⁾. El uso simultáneo de ambos tipos de receptores confiere ventajas a la micobacteria, pues no se activa la enzima NADPH oxidasa, requerida para que se produzca el estallido respiratorio. Además, la entrada de la micobacteria evita que se activen las señales que dan origen a la maduración del fagosoma, estrategia que permite al microorganismo crecer en el interior del macrófago⁽²⁷⁾.

Las moléculas que poseen manooligosacáridos terminales parecen desempeñar un papel importante en la inhibición de TNF- α e IL2 en células dendríticas y macrófagos, pero incrementan la producción de GM-CSF e IL-10, los cuales favorecen la prevalencia de la infección. El primero estimula la producción de granulocitos y células mononucleares precursoras de los macrófagos, los últimos de los cuales representan las células hospederas de las micobacterias; por su parte, la IL-10 disminuye la respuesta inmune del hospedero,

inhibiendo la producción de otras citocinas tales como la IL-12 y al TNF- α , que reprimen la expresión de moléculas coestimuladoras y moléculas MHC clase II en el macrófago; por ello, los macrófagos se ven limitados en su función como células presentadoras de antígeno⁽²⁸⁾. Una de las principales funciones de la IL-12 es inducir la diferenciación de los linfocitos TCD4+ a células efectoras Th1. Esta población está directamente asociada al control de las infecciones intracelulares, por lo que la ausencia de dicha subpoblación también favorece la prevalencia de la infección⁽²⁹⁾.

La ***pared micobacteriana*** se localiza por debajo de la cápsula, separada por un espacio periplasmático, posee un elevado contenido en lípidos (50-60%) que le confieren un carácter hidrofóbico y la hace refractaria al ataque por hidrólisis enzimática⁽²⁹⁾. Es la responsable de muchas de las propiedades características de las micobacterias⁽³⁰⁾ (por ejemplo: su ácido-resistencia, crecimiento lento, resistencia a detergentes, resistencia a los antibióticos antibacterianos frecuentes, antigenicidad, formación de agregado). Está constituida por el complejo macromolecular formado por ácidos micólicos-arabinogalactano-peptidogluano (mAGP)⁽³¹⁾ (Fig. 6).

El ***peptidogluano***, el cual representa aproximadamente un 15% de su peso seco, está constituido por unidades repetitivas de N-acetil glucosamina unidos 1 \rightarrow 4 con ácido N-glucolilmurámico. Una cadena

de tetrapéptidos unidos a los residuos de ácido murámico entrecruzan las cadenas de glicanos. Entre los péptidos presentes se encuentra la L-alanina-D-isoglutaminil-*meso*-diaminopimelil-D-alanina(L-Ala-D-glu-A2pm-D-Ala) ⁽³²⁾. Su principal función es proteger a los microorganismos de la lisis osmótica.

Es el que desencadena la respuesta inmune celular y las reacciones de hipersensibilidad retardada ⁽³³⁾.

Unidos de forma covalente al peptidoglucano se encuentran los **arabinogalactanos**, los cuales son polisacáridos ramificados formados por D-arabinofuranosa y D-galactofuranosa, que son raros en la naturaleza. En cantidades minoritarias aparece manosa, un disacárido de ramnosilpiranosa y N-acetil-glucosamina que constituye el nexo de unión con el peptidoglucano a través del enlace fosfodiéster. El arabinogalactano representa el 35% de la pared celular ⁽³⁴⁾.

El residuo terminal de D-arabinosa se esterifica para dar lugar a **ácidos micólicos** hidrofóbicos de alto peso molecular a los que se anclan moléculas de glucolípidos ⁽³⁰⁾. Estos ácidos micólicos son los principales constituyentes de la pared celular (50% de su peso seco) y son β -hidroxiácidos de cadena larga (C₆₀ – C₉₀) ⁽³⁵⁾ (Fig. 6).

La **cápsula** es la capa externa de la envoltura de las micobacterias. Los componentes mayoritarios de la envoltura de las micobacterias son lípidos asociados a carbohidratos (glicolípidos), fosfolípidos

glicosilados o carbohidratos complejos sustituidos con ácido micólico o péptidos. Se estima que el 25% del peso seco de las micobacterias corresponden a lípidos o glicolípidos. El 40% de ellos son moléculas de ácidos micólicos unidos al disacárido trehalosa los cuales se clasifican en micolatos de trehalosa y sulfolípidos de trehalosa. Los micolatos de trehalosa cuando están acetilados constituyen parte del dimicolato de trehalosa o *factor cuerda*, el cual impide la fusión de las vesículas de fosfolípidos –esencial para evitar la formación del fagolisosoma- y la migración de neutrófilos. Este factor es abundante en todas la micobacterias patógenas y recibe ese nombre porque en los cultivos, los microorganismos forman agregados semejantes a cordones ^(29; 36). Los sulfolípidos de trehalosa localizados en la periferia de la pared celular, facilitan que la bacteria escape de la acción de los macrófagos, mediante la inhibición de la fusión del fagosoma con el lisosoma ⁽³⁶⁾. En la membrana plasmática se encuentran ancladas proteínas, manosidos de fosfatidilinositol y lipoarabinomanano (LAM). El lipoarabinomanano es otro elemento importante de la superficie de *M. tuberculosis* el cual se encuentra anclado en la membrana plasmática y que atraviesa las estructuras descritas ⁽³⁵⁾. Arabinosa, manosa, inositol, fosfato, glicerol y ácidos grasos (láctico, succínico, palmítico) son los componentes básicos de su estructura. La columna vertebral de su estructura la forma un polisacárido de α -D-manosa-(1-6)-(homomanano) ⁽³⁴⁾ (Fig. 6).

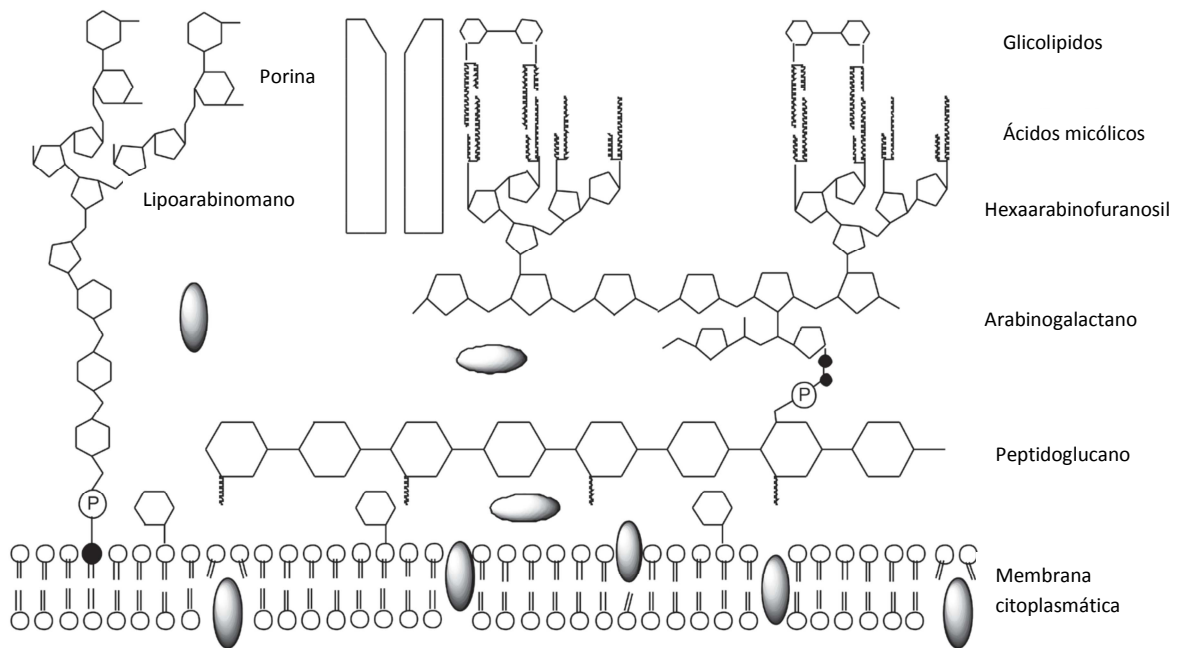


Figura 6: Estructura celular de *M. tuberculosis*

Fuente: Modificado de Ranji NR et al, 20011 y Kleinnijenhuis et al, 2011 ^(36; 37)

1.3.4. Propiedades culturales¹⁰

Desde el punto de vista de los requerimientos atmosféricos, *M. tuberculosis* y la mayoría de la micobacterias son aerobios estrictos, excepto *M. bovis* que es microaerófilo ⁽³⁸⁾. Las condiciones ideales de multiplicación del bacilo son pH de 7.40, una presión de oxígeno entre 100 y 140 mm Hg. ⁽³³⁾ y un ambiente húmedo con 5 a 10 % de CO₂. Por lo tanto se observa una interdependencia entre la disposición anatómica de la enfermedad y la tensión de oxígeno disponible en la zona ⁽³⁸⁾.

En condiciones de laboratorio *M. tuberculosis* se multiplica de 16-24 horas. Las colonias se hacen visibles en 3 a 8 días ⁽¹²⁾. Son bastante exigentes y requieren medios ricos y frescos. Los medios más utilizados para obtener el desarrollo de las micobacterias son los siguientes ⁽³⁰⁾:

- Medios de cultivo sólidos con huevo: Lowenstein-Jensen y Coletsos. Son medios hechos a base de huevo, glicerol (proporcionan las proteínas) y ácidos grasos necesarios para el metabolismo de las micobacterias. En el medio Lowenstein-Jensen el verde de malaquita inhibe parcialmente el desarrollo bacteriano mientras que en el medio Coletsos se utiliza el azul de tornasol ^(39; 40). La adición de piruvato favorece el desarrollo de *M. bovis*.
- Medios de cultivo sólidos con agar: Middlebrook[®] 7H10 y 7H11. Son transparentes y permiten una detección rápida de crecimiento micobacteriano. Se utilizan para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. En este medio crecen menos contaminantes que en el medio a base de huevo ⁽⁴¹⁾. Contienen una fórmula que contiene ácido oleico y albúmina como elementos clave para favorecer el crecimiento de los bacilos y proteger los organismos contra varios agentes tóxicos, además de citrato sódico (convertido en ácido cítrico el cual retiene

determinados cationes inorgánicos en la solución) y glicerol (fuente abundante de carbono y energía) ⁽⁴²⁾.

- Medios de cultivo líquidos: Youmans, Caldo Dubos, Middlebrook[®]7H9. Son medios muy enriquecidos que recuperan un mayor número de micobacterias y más rápidamente que los medios sólidos ⁽⁴³⁾. Estos medios pueden ser usado para pruebas de sensibilidad y para subcultivos adicionando un suplemento de crecimiento OADC y glicerol. El OADC contiene ácido oleico, albúmina bovina, cloruro de sodio, dextrosa (fuente de energía) y catalasa (neutraliza los peróxidos tóxicos) ⁽⁴²⁾.
- Sistema de detección automatizada o semiautomatizada: Existen medios comercializados que intentan facilitar la lectura para una rápida detección del crecimiento bacteriano. Los más utilizados son:
 - ❖ BACTEC 460 TB. Utiliza Middlebrook[®] 7H9 que contiene ácido palmítico marcado con ¹⁴C. Tras ser metabolizado el substrato por las micobacterias libera ¹⁴CO₂ que es medido por el aparato ⁽⁴⁴⁾.
 - ❖ *Mycobacterial Growth Indicator Tube* (MGIT) 960[®]. Es un medio fluorométrico basado en un medio Middlebrook[®]7H9

con un componente fluorescente (pentahidrato de rutenio). Bajo la luz ultravioleta el crecimiento se aprecia mediante la visualización de un brillo fluorescente anaranjado en la superficie y en el fondo del tubo ⁽⁴⁴⁾.

Con base en las distintas características del medio, se admiten que existen cuatro posibilidades de crecimiento del bacilo, que son las que condicionan los fundamentos de las actuales asociaciones de fármacos y la duración del tratamiento ⁽³³⁾:

- ❖ Metabólicamente activas y en crecimiento continuo (están situadas en las cavernas, en donde las condiciones de pH y presión de oxígeno son las óptimas).
- ❖ En fase de inhibición ácida (su crecimiento es inhibido por el medio ácido de los fagolisosomas de los macrófagos o por el pH ácido existente en zonas inflamatorias de la pared cavitaria).
- ❖ En fase de multiplicación esporádica (localizados preferentemente en el *caseum* sólido, donde el pH es neutro; presentan largos periodos durmientes, con ocasionales y cortos periodos metabólicos, generalmente horas).
- ❖ Población persistente o totalmente durmiente (este estado del bacilo aparece cuando no encuentra a su alrededor una situación favorable como tensión de oxígeno y pH bajo,

pudiendo demorar su duplicación desde varios días hasta muchos años e incluso nunca hacerlo.

1.4. Tratamiento contra la tuberculosis

El objetivo del tratamiento es interrumpir la cadena de transmisibilidad de *M. tuberculosis*, lograr la curación, prevenir las complicaciones y evitar la muerte mediante el ataque a las cuatro poblaciones de bacilos presentes en los casos de tuberculosis ⁽⁴⁵⁾.

Los progresos en la terapéutica se han sucedido de forma lenta pero continua desde que Waksman descubrió la estreptomina en 1944. A partir de ese momento en el tratamiento de la TB existen tres fechas decisivas: el descubrimiento de la isoniacida en 1952, la introducción de la rifampicina en 1967 y cuando la pirazinamida se incorpora al tratamiento como medicamento de primera línea al final de la década de 1970, lo que permitió acortar el tratamiento a 6 meses ⁽⁴⁶⁾.

Una terapia farmacológica eficaz reduce rápidamente la población de bacilos viables y con ello el riesgo de transmisión. Los fármacos que se emplean en la pauta corta de 6 meses son la isoniacida (INH), rifampicina (RMP), pirazinamida (PZ), etambutol (ETB) y estreptomina (SM) ⁽⁴⁵⁾. Son considerados fármacos de primera línea en función de su eficacia y tolerancia. Sin embargo, el tratamiento de

pacientes tuberculosos plantea diversas dificultades: los bacilos son sólo sensibles a los fármacos bactericidas cuando están activos metabólicamente y en replicación; además durante periodos indefinidos permanecen subpoblaciones de bacilos, que sólo se activan de modo transitorio durante lapsos muy cortos y por último, puede haber mutantes resistentes incluso en poblaciones de bacilos que nunca han estado previamente expuestas a los antibióticos ⁽⁴⁶⁾.

Así pues, las características fundamentales en las que se basa la quimioterapia corta son su elevado poder bactericida contra bacilos metabólicamente activos y una actividad esterilizante contra los bacilos que persisten en estado semilátente, así como su capacidad para prevenir las farmacorresistencias mientras dure el tratamiento. Consiste en el uso simultáneo de varios fármacos (RMP, INH y PZ) para que produzca la eliminación de las distintas poblaciones bacilares y en una duración suficiente (6 meses) para evitar la aparición de recidivas ⁽⁴⁶⁾.

El tratamiento primario debe ser estrictamente supervisado por personal capacitado, ya que la supervisión del tratamiento es el único procedimiento que ofrece completa seguridad respecto a la toma de los medicamentos y asegura la curación ⁽⁴⁷⁾. Las presentaciones, dosis y reacciones adversas se señalan en la tabla 3. De los medicamentos de segunda línea o elección que se utilizan para las presentaciones de tuberculosis resistentes a los de primera o como

alternativa en situaciones clínicas aisladas, las fluorquinolonas, capreomicina, protionamida, etionamida, kanamicina y rifabutina tienen actividad bactericida. Otros medicamentos de segunda línea como: ácido paraaminosalicílico, cicloserina, clofazimina y macrólidos tienen acción bacteriostática ^(48; 49; 50) (Tabla 2).

Tabla 2: Clasificación de medicamentos antituberculosos

GRUPO DE MEDICAMENTOS	MEDICAMENTO (ABREVIATURA)
Grupo 1. Antituberculosis orales De primera línea:	Isoniazida (H); Rifampicina (R); Etambutol (E); Pirazinamida (P);
Grupo 2. Antituberculosis inyectables De segunda línea:	Estreptomina (S); Kanamicina (KM); Amikacina (Am); Capreomicina (Cm)
Grupo 3. Fluoroquinolonas: De segunda línea.	Ofloxacino (Ofx); Levofloxacino (LFX); Monoxifloxacino (MFX)
Grupo 4. Bacteriostáticos orales, Antituberculosis de segunda línea:	Etionamida (ETO); Protionamida (PTO); Cicloserina (Cs); Terizidona (TRD); Ácido p-aminosalicílico (PAS)

Fuente: Guía para la Atención de Personas con Tuberculosis Resistentes a Fármacos, 2010 ⁽⁴⁸⁾

Tabla 3: Dosis y reacciones adversas de fármacos de primera línea

FARMACOS ANTITUBERCULOSOS DE PRIMERA LÍNEA							
FÁRMACOS	PRESENTACIÓN	DOSIS DIARIA			DOSIS INTERMITENTES(*)		REACCIONES ADVERSAS
		NIÑOS MG/KG	ADULTOS MG/KG	DOSIS MÁXIMA	NIÑOS MG/KG	ADULTOS DOSIS TOTAL MÁXIMA	
ISONIAZIDA	Comp. 100 mg	10-15	5-10	300 mg	15-20 mg	600-800 mg	-Neuropatía periférica -Hepatitis
RIFAMPICINA	Caps. 300 mg; Jarabe 100 mg x 5 ml	15	10	600 mg	15-20 mg	600 mg	-Hepatitis - Hipersensibilidad -Interacciones medicamentosas
PIRAZINAMIDA	Comp. 500 mg	25-30	20-30	1.5 – 2 g	50	2.5 g	-Gota -Hepatitis
ESTREPTOMICINA (**) (***)	Fco. amp. 1g	20-30	15	1 g	18 mg	1g	-Vértigo -Hipoacusia -Dermatosis
ETAMBUTOL (****)	Comp. 400 mg	20-30	15-25	1,200 mg	50	2,400 mg	-Alteración de la visión

(*) 2 a 3 veces por semana, según la tabla de referencia. (**) Enfermos con menos de 40 kg de peso y mayores de 50 años, mitad de la dosis. (***) No utilizar durante el embarazo. (****) En menores de 8 años vigilar posible neuritis óptica la cual se puede presentar muy raramente.

Fuente: Modificación a la NOM-006-SSA2-1993⁽⁴⁷⁾

1.4.1. Fármacos

1.4.1.1 Isoniacida (INH)

La INH (hidrazida del ácido isonicotínico o 4-ácido piridincarboxílicohidraza) ⁽⁵¹⁾ es el medicamento anti-tuberculoso de primera línea más ampliamente usado. Fue introducido en terapéutica desde 1952 y ha sido la piedra angular de todos los regímenes efectivos para el tratamiento de enfermedades por TB e infecciones latentes ^(52; 53).

M. tuberculosis es altamente susceptible a la INH con una concentración mínima inhibitoria (*Minimum Inhibitory Concentration*, MIC) de 0.01-0.25 µg/mL ⁽⁵²⁾. Es activa contra bacilos tuberculosos en replicación pero no lo es contra bacilos latentes ni bajo condiciones anaerobias ⁽⁵⁴⁾. La activación de la INH es más notable a 37 °C pero es reducida en gran medida a 4°C ⁽⁵²⁾.

Se administra por vía oral principalmente y alcanza niveles séricos máximos en 1-2 hrs, con una semivida de eliminación de 1-4 hrs. Aproximadamente el 75% se excreta en la orina en forma de isoniazida sin alterar y de metabolitos, mientras que el resto se elimina en las heces, saliva y esputo.

Mecanismo de acción

La isoniazida penetra a la célula micobacterial por difusión pasiva ⁽⁵⁵⁾. Es un profármaco que es activado por la enzima catalasa-peroxidasa (KatG), codificada por el gen *KatG*, para generar un grupo de especies altamente reactivas que después atacarán múltiples blancos en *M. tuberculosis* ⁽⁵⁴⁾. KatG pertenece a la familia I de las peroxidases¹, por lo que es capaz de utilizar el peróxido de hidrógeno para catalizar la oxidación de varios sustratos a través de más de dos pasos consecutivos de la oxidación de un electrón ⁽⁵⁵⁾.

Las especies reactivas producidas por la activación de la INH incluyen tanto especies reactivas de oxígeno (superóxidos, peróxidos, radicales hidroxilos y óxidos nítricos), como especies reactivas orgánicas (radical acilisonicotínico y anión acilisonicotínico) y ciertas especies electrofílicas ⁽⁵⁴⁾ (Fig. 7). El manganeso ha mostrado mediar una activación de INH similar a la de KatG ⁽⁵²⁾.

¹Las catalasas y peroxidases son oxido-reductasas con mecanismos de acción similares. Poseen un grupo hemo que se encuentra en forma férrica (Fe³⁺) en su estado basal. En un primer paso catalizan la heterólisis del enlace O-O del peróxido de hidrógeno formándose agua y el compuesto I (catión radical oxiferrilporfirina n). En las catalasas, este compuesto es reducido por otra molécula de peróxido, mientras que en las peroxidases reacciona mediante dos transferencias de un solo electrón pasando por el compuesto II para regresar a su estado basal.

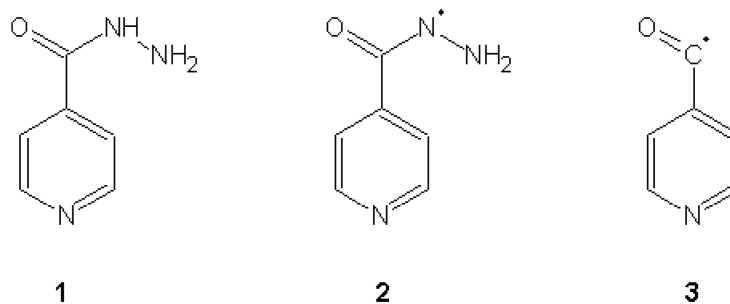


Figura 7: Isómeros funcionales derivados de la INH 1) Estructura de la isoniácida; 2) Radical hidracilisonicotínico; 3) Radical isonicotinóil.

El principal blanco de inhibición de la INH activa es la proteína *InhA*, codificada por el locus *inhA* de la micobacteria, la cual es una proteína enoil-acilreductasa transportadora que está involucrada en la elongación de los ácidos grasos en la síntesis del ácido micólico ⁽⁵⁴⁾.

M. tuberculosis, a diferencia de otros microorganismos, contiene dos sintetetasas de ácidos grasos, la sintetetasa de ácidos grasos de tipo I (*Fatty Acid Synthetase I*, FAS-I), una enzima multidominio que codifica para todas las actividades necesarias para la síntesis de ácidos grasos ⁽⁵⁶⁾, encontrado en células eucariotas y procariotas avanzadas, y la sintetetasa de ácidos grasos tipo II (*Fatty Acid Synthetase II*, FAS-II), un sistema de enzimas independientes, incluyendo el *InhA*, encontrado en plantas y bacterias ⁽⁵⁷⁾.

El sistema FAS I produce ácidos grasos saturados en un patrón bimodal de palmitato (C₁₆) usados principalmente para la síntesis de los fosfolípidos de la membrana y de los tetracosanoato (C₂₄), que es el punto de partida donde el sistema FAS-II toma lugar para la síntesis de los ácidos micólicos α - , metoxi- y ceto- micólicos ⁽⁵⁶⁾.

El sistema FAS-II está compuesto de varias proteínas, incluyendo Kas A/Kas B, MabA y la InhA, la cual cataliza el primero, segundo y cuarto paso de las rondas de elongación respectivamente ⁽⁵⁸⁾. A través de sucesivas reacciones R-CO-S-ACP es convertido a R-CHOH-CH₂-CO-S-ACP por la β -hidroxiacil-ACP sintasa (Kas A / Kas B) y β -ketoacil-ACP reductasa (Reacción 1 y 2). Este producto es después convertido a trans-R-CH=CH-CO-S-ACP por una β -hidroxiacil-ACP deshidrasa (Reacción 3). El producto de la reacción 3 es reducido por 2-trans-enoil-ACP reductasa (InhA) para formar R-CH₂-CH₂-CO-S-ACP el cual es dos carbonos más largo que el sustrato inicial (Reacción 4) ⁽⁵⁷⁾. Por lo tanto la enoil-acilreductasa convierte los ácidos grasos insaturados a ácidos grasos saturados involucrados y participa en la elongación de los ácidos grasos de cadena larga convirtiéndolos en ácidos micólicos ⁽⁵⁶⁾ (Fig. 8).

Las especies activas (radical acil-isonicotínico o el anión acil-isonicotínico) derivadas de la activación de la INH mediada por KatG reaccionan con NADH (cofactor de la reacción catalizada por InhA) para formar un aducto INH-NAD que reacciona con InhA, causando su inactivación ⁽⁵⁹⁾ (Fig. 9). Este aducto puede ser formado durante la oxidación de la INH en presencia de NADH libre en solución, a través de la adición Minisci del radical isonicotinoil al NAD⁺ que ocurre en un rango de $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ⁽⁵⁵⁾.

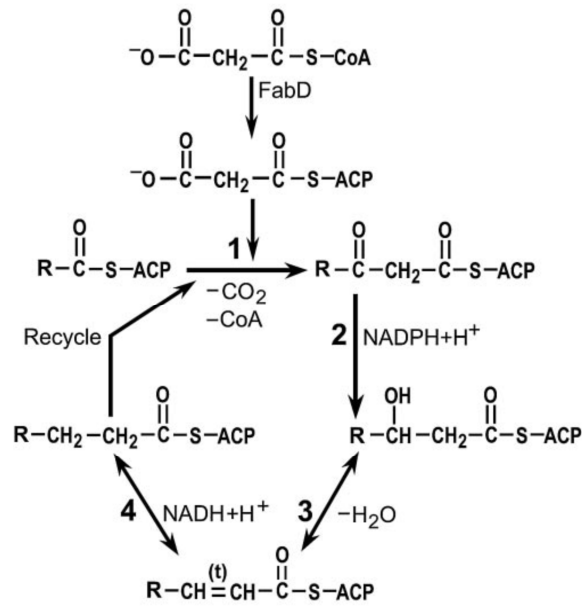


Figura 8: Sistema Fas II Fuente: Modificado de Takayama K. and et al, 1972 ⁽⁵⁷⁾.

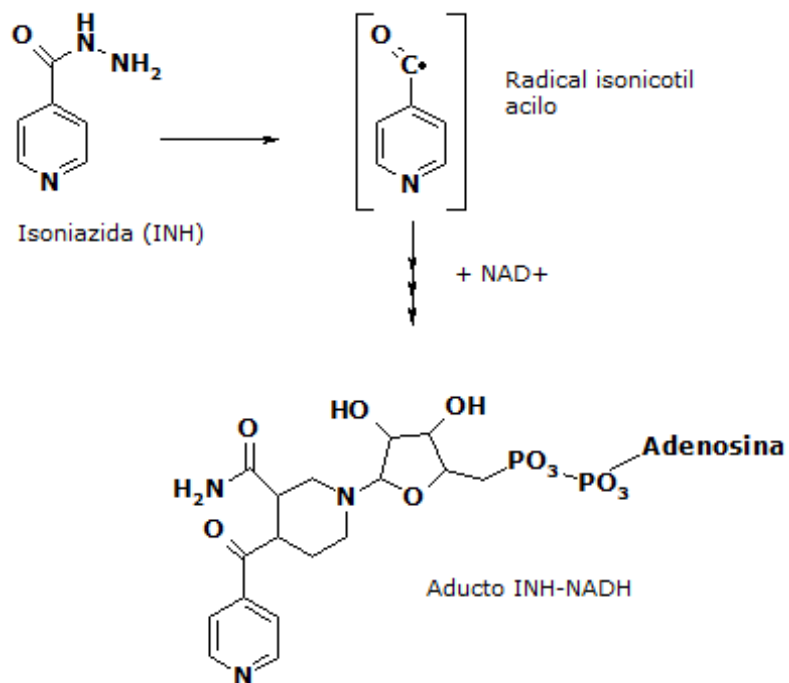


Figura 9: Mecanismo de reacción de activación de INH

Fuente: Modificado de Cade ET, 2010 ⁽⁵⁹⁾

Un reciente estudio muestra que el aducto INH-NAD(P) reacciona con otra proteína blanco además de InhA, tal como DfrA (una dihidrofolato reductasa dependiente de NADPH involucrada en la síntesis de NADH deshidrogenasa) ⁽⁵⁴⁾.

Mecanismos de resistencia.

La resistencia a la INH es más frecuente que con otros medicamentos anti-tuberculosos, en una frecuencia de 1 en 10⁵⁻⁶ bacilos *in vitro* ⁽⁵⁴⁾.

Inactivación del gen *KatG*

La presencia de una mutación en *KatG* reduce la habilidad de la proteína *KatG* para activar la INH que se encuentra como pro-droga, lo que conduce a la aparición de la resistencia a INH ⁽⁶⁰⁾.

La mutación más comúnmente observada en *KatG* es en el codón 315, que causa el cambio de aminoácidos serina por treonina en la posición 315 (Ser315Thr) ⁽⁶¹⁾. Ocurre entre un 50 y un 93% de aislados clínicos de *M. tuberculosis* ⁽⁶²⁾ con una mutación en *katG* y da como resultado una enzima sin la habilidad para activar la isoniazida pero que retiene aproximadamente el 50% de su actividad peroxidasa. Por lo tanto la catalasa peroxidasa alterada confiere un alto nivel de resistencia a la isoniazida, mientras que retiene un nivel de protección oxidativa que es suficiente para permitir al organismo mantener una actividad detoxificante contra radicales antibacteriales

⁽⁶³⁾. Esta mutación está relacionada con altos niveles de resistencia a la INH (MIC=5-10 µg/ml) ⁽⁶¹⁾.

El gen *katG* forma un operón río arriba con el gen *FurA* el cual es un regulador negativo de *KatG*. La supresión de *FurA* causa una sobreexpresión de *KatG* y una hipersensibilidad a INH, mientras que la sobreexpresión de *FurA* reduce la expresión de *KatG* ⁽⁶⁰⁾.

Sobreexpresión o alteración del gen codificante para *InhA*

Mutaciones en *InhA* o su región promotora ocurren en un 15-46% de las cepas de *M. tuberculosis* resistentes a INH y son usualmente asociadas con una baja resistencia (MICs = 0.2 – 1 µg/mL), aunque usualmente se encuentran con menor frecuencia que las mutaciones *KatG* ⁽⁵⁴⁾.

La mutación -15C→T en la región promotora del operón *MabA/InhA* causa un incremento de 20 veces en la transcripción de mRNA para *inhA* lo que causa una sobreexpresión de *InhA*. También puede haber mutaciones en el sitio activo de *InhA*, disminuyendo la afinidad de *InhA* al aducto INH-NAD ⁽⁶⁰⁾.

Mutaciones en *InhA* también confiere resistencia cruzada a la etionamida (medicamento de segunda línea), el cual tiene una estructura análoga a la de INH ⁽⁶²⁾.

Mutación del gen *oxyR-ahpC*

Se ha observado que la pérdida de la actividad *katG* está acompañada por un incremento en la expresión de la proteína alquil hidropéroxido reductasa (*ahpC*) ⁽⁶³⁾. Mutaciones en la región intergénica *oxyR-ahpC* donde se encuentra el promotor de *ahpC*, son consideradas como un mecanismo compensatorio para la pérdida de la función *KatG* en cepas resistentes ⁽⁶⁴⁾. La sobreexpresión de *AhpC* ejerce un efecto desintoxicante en el peróxido orgánico dentro de la célula y protege a la bacteria contra daños oxidativos, pero no proporciona protección contra INH ⁽⁶³⁾.

Mutación en *ndh*

El gen *ndh* codifica la NADH deshidrogenasa tipo II. Mutaciones en este gen causan defectos en la actividad enzimática. Defectos en la oxidación de NADH para producir NAD provoca una acumulación de NADH y una disminución de NAD⁺. Los altos niveles de NADH pueden inhibir la unión de aducto INH-NAD al sitio activo de la enzima InhA ⁽⁶⁴⁾.

M. tuberculosis es más susceptible a la INH que otras bacterias inclusive las micobacterias no tuberculosas. Las razones para esta diferencia pueden ser las siguientes: A) la actividad peroxidasa de la enzima *KatG* es más alta en *M. tuberculosis* que en otras bacterias ⁽⁵²⁾. B) El blanco InhA que está involucrado en la biosíntesis del ácido

micólico puede ser más sensible a las especies reactivas derivadas de la activación de la INH en *M. tuberculosis* que sus contrapartes en otras micobacterias o bacterias ⁽⁵²⁾. C) *M. tuberculosis* puede tener un flujo de salida deficiente para los radicales tóxicos y para el ácido isonicotínico derivados de la activación de la INH, comparado con otras micobacterias o bacterias ⁽⁵²⁾. D) *M. tuberculosis* carece de una adecuada defensa anti-oxidativa. La catalasa KatE puede remover el peróxido producido durante la activación de INH y provee protección contra INH en micobacterias no tuberculosas ⁽⁵²⁾.

1.4.1.2 Etambutol (ETB)

El ETB, etilen-diamino-dibutanol, es un producto sintético derivado de la etilendiamina (Fig. 10). Ha sido prescrito para el tratamiento contra la tuberculosis desde 1966 ⁽⁶⁵⁾. Es utilizado en combinación con INH, RMP y PZA para prevenir la aparición de farmacorresistencia ⁽⁵²⁾. La MIC del EMB para *M. tuberculosis* es de 0.5-2 µL/MI ⁽⁵²⁾. Al igual que INH, se trata de un agente bacteriostático que es activo contra bacilos en fase de replicación y que no tienen ningún efecto sobre bacilos latentes ^(52; 54). Tiene actividad contra bacilos tanto intracelulares como extracelulares ⁽⁵⁴⁾. Se administra por vía oral con una absorción del 75-80%. Las concentraciones séricas máximas (3,25-5,62 µg/mL) se obtienen de 2-4 horas después de su

administración, con una semi-vida de eliminación de $4,06 \pm 0,53$ horas –que puede aumentar hasta 15 horas en la insuficiencia renal-. Se encuentra en altas concentraciones en riñones, pulmón y saliva. Se metaboliza parcialmente en el hígado, con una eliminación sin metabolizar del $61,1 \pm 3,8$ % en la orina y en las heces ⁽⁶⁶⁾.

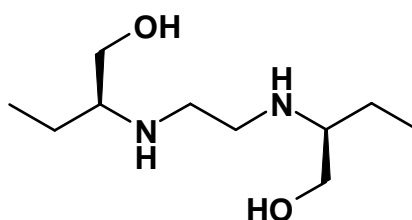


Figura 10: Estructura del etambutol

Mecanismo de acción

ETB inhibe la transferencia de los ácidos micólicos a la pared celular, lo que resulta en la acumulación de monomicolato de trehalosa, dimicolato de trehalosa y ácidos micólicos en el medio. Se ha relacionado esta acumulación con la inhibición de la biosíntesis del arabinogalactano, que conduce a una falta de receptores arabinanos para los ácidos micólicos. Se ha observado que el ETB también inhibe la síntesis del arabinano del lipoarabinomanano, una molécula de superficie clave en la interacción huésped-patógeno ^(65; 67).

El D-arabinano es un particular homopolímero de 40-70 unidades de D-arabinofuranosa (Araf) ⁽⁶⁸⁾. Hay dos formas de arabinano encontradas en la pared celular de micobacterias, una como parte del arabinogalactano (AG) y la otra como parte del lipoarabinogalactano (LAM). Las dos formas de D-arabinano difieren en que en la forma del AG es el punto de apoyo para la fijación de los residuos de los ácidos micólicos, la base de la barrera lipídica de las micobacterias, mientras que el arabinano de LAM está cubierto con residuos de manosa-carbohidrato responsable en gran medida de sus funciones biológicas. La característica distintiva del arabinano de LAM es una terminación lineal tetraarabinósido (Ara₄) mientras que el arabinano de AG está caracterizado por un hexaarabinósido ramificado (Ara₆) ⁽⁶⁹⁾ (Fig. 11).

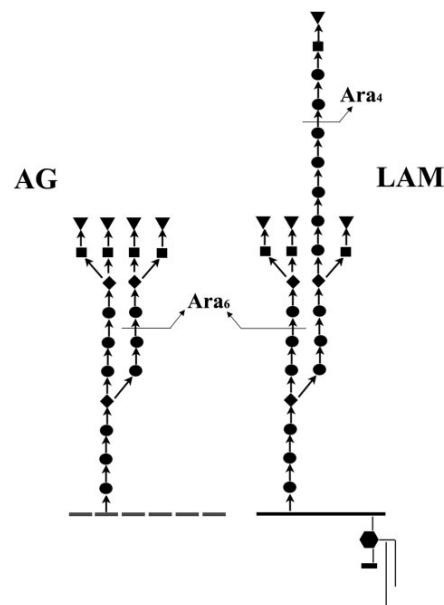


Figura 11: Modelo estructural del arabinano en LAM y AG ⁽⁶⁸⁾. Los símbolos representan: ▼terminal β-D-Araf, ■2-α-Araf, ▲ 3,5-α-Araf, ● 5-α-Araf

La biosíntesis del arabinano, que se compone de uniones $\alpha 1 \rightarrow 5$ -, $\alpha 1 \rightarrow 3$ - y $\beta 1 \rightarrow 2$ glicosil, resulta de una adición secuencial de residuos de arabinofuranosa, en el que el donador del carbohidrato es el β -D-arabinofuranosil-1-monofosforildecaprenol (DPA), el cual es sintetizado a partir del 5-fosfo-D-ribosa pirofosfato ⁽⁶⁹⁾.

Un conjunto de arabinosil transferasas denominadas proteínas Emb son las responsables de la síntesis del arabinano y han sido propuestas como el blanco para ETB en *M. tuberculosis*. El locus *embB*, el cual está organizado dentro de un operón con *embC* y *embA* en el orden *embCAB* ⁽⁵²⁾, codifica tres arabinosil transferasas EmbC, EmbA y EmbB ⁽⁶⁵⁾ las cuales forman una familia de proteínas transmembranales (1100 residuos) con un dominio citoplasmático N-terminal, de 13-15 segmentos transmembranales y un dominio extracitoplasmático C-terminal. EmbC está involucrada en la biosíntesis de la porción arabínica de LAM, mientras que EmbA y EmbB están involucradas en la síntesis de AG ⁽⁷⁰⁾.

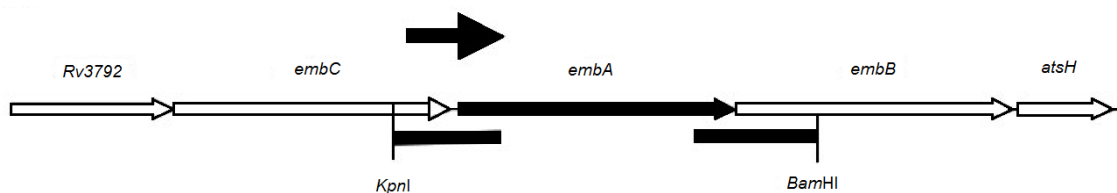


Figura 12: Organización genómica de embA en *M. tuberculosis* Fuente:

Modificado de Amin AG, 2008 ⁽⁷⁰⁾

El blanco molecular de ETB es el locus *embBCA* por lo que inhibe de esta manera la acción de las arabinotransferasas *embC*, *embA*, *embB* y por lo tanto la biosíntesis del arabinogalactano y del lipoarabinogalactano⁽⁶⁵⁾ (Fig. 13).

Mecanismos de resistencia.

Mutaciones para resistencia a ETB ocurren con una frecuencia baja de 10^{-5} ⁽⁵²⁾. Mutaciones en el operón *embCAB*, en particular *embB*, y ocasionalmente *embC*, son responsables de la resistencia a ETB. La mutación en el codón 306 de *embB* es la más frecuente en aislados clínicos resistentes a ETB, representan el 68% de las cepas resistentes⁽⁵²⁾. Varios estudios han identificado cinco mutaciones en el codón 306 [(ATG-GTG), (ATG-CTG), (ATG-ATA), (ATG-ATC) y (ATG-ATT)] los cuales se traducen en tres diferentes sustituciones de aminoácidos en aislados resistentes a ETB. Estas cinco mutaciones están asociadas con 70-90% de todos los aislados resistentes a ETB. Mutaciones sin sentido fueron identificadas en tres codones adicionales: Phe215Leu, Phe330Val y Thr630Ile en aislados resistentes a ETB. Mutaciones fuera de codón 306 existen pero muy raras⁽⁶³⁾.

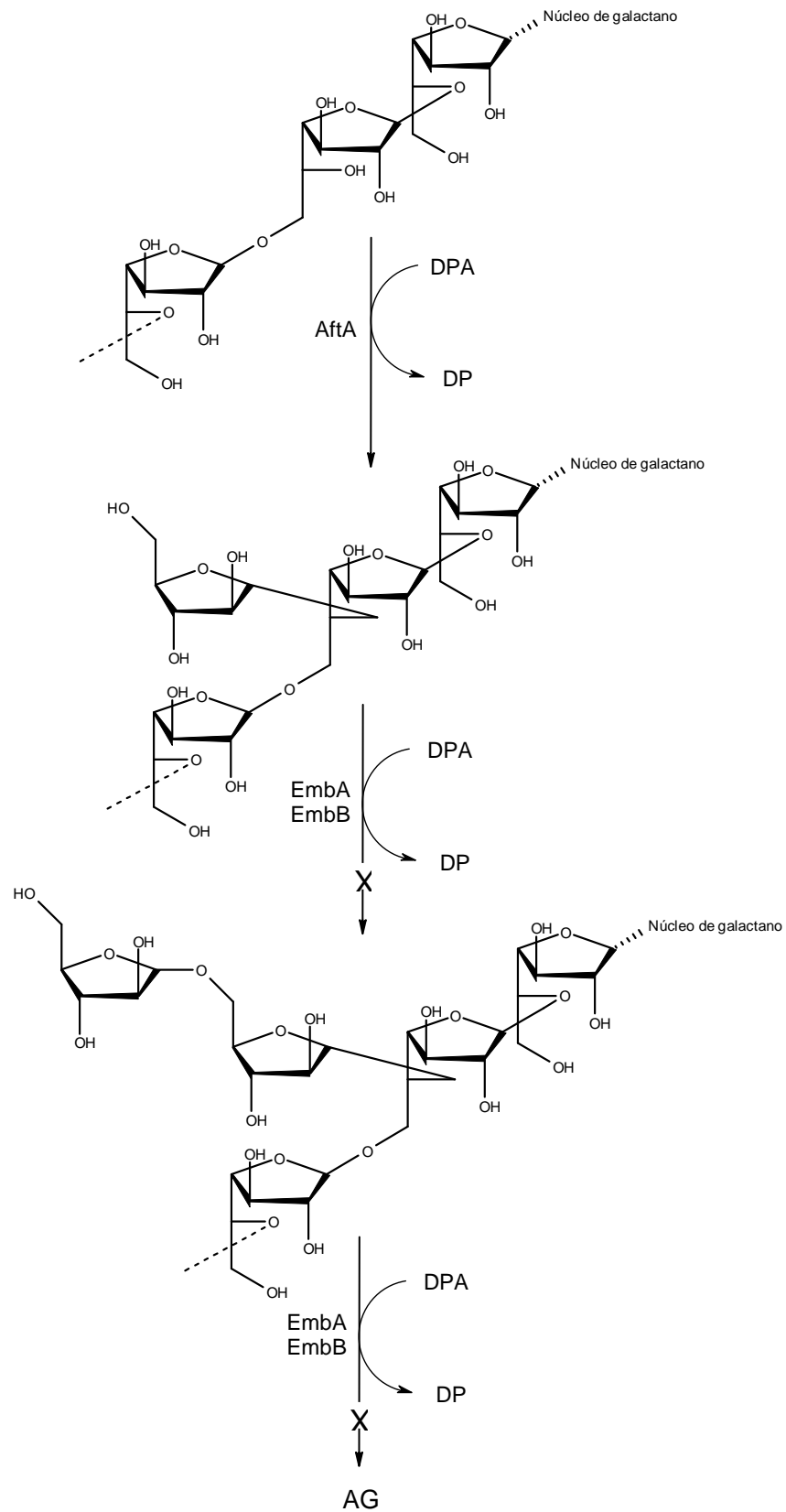


Figura 13: Ruta biosintética del arabinano y sitio de acción del ETB.

(X) indica el sitio de acción de ETB. Fuente: Alderwick LJ et al, 2006. ⁽⁷¹⁾

1.4.1.3 Rifampicina (RMP)

La rifampicina es un fármaco con potente actividad bactericida contra *M. tuberculosis* con MIC que va desde 0,05 a 1,00 µg/mL (Fig.14). Este medicamento es activo tanto en bacilos en fase de crecimiento como en bacilos en fase estacionaria. Esta última propiedad permite acortar el tratamiento de TB de 12-18 meses a 9 meses⁽⁵⁴⁾. Es usado desde 1970 debido a su alta actividad bactericida junto con la INH y por ello forma la columna vertebral de la quimioterapia de curso corto, aunque su mala administración ha generado gran cantidad de cepas resistentes^(72; 73).

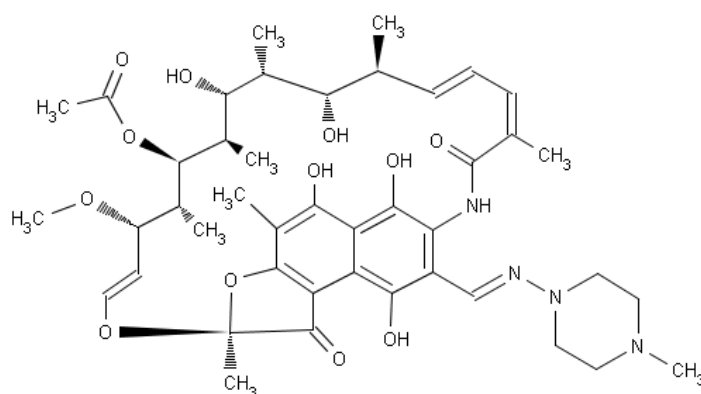


Figura 14: Estructura de la rifampicina.

Mecanismos de acción.

La RMP interfiere con la síntesis de RNA mediante la unión a la subunidad β de la RNA polimerasa dependiente de DNA⁽⁶³⁾. La RNA polimerasa es un complejo oligomérico compuesto por cuatro

subunidades ⁽⁶¹⁾ (α , β , β' y σ ; las cuales están codificadas por *rpoA*, *rpoB*, *rpoC* y *rpoD*, respectivamente ⁽⁶³⁾) y ensamblada en dos formas principalmente: la enzima principal ($\alpha_2\beta\beta'$) y una holoenzima (una subunidad σ). La enzima principal puede realizar la polimerización de RNA pero requieren una subunidad σ para iniciar en el sitio específico la transcripción en el sitio promotor ⁽⁷²⁾. El sitio de unión de la RMP se localiza río arriba del sitio catalítico y físicamente bloquea la elongación de la cadena de RNA ⁽⁵⁴⁾.

El efecto predominante de la RMP es el bloqueo directo de la vía de elongación de la transcripción del RNA de la terminación 5' y cuando el transcripto alcanza los 2-3 nucleótidos de longitud ⁽⁴⁶⁾.

Mecanismos de resistencia.

En *M. tuberculosis* la resistencia a RMP ocurre con una frecuencia baja de 10^{-7} a 10^{-8} ⁽⁵⁴⁾. Mutaciones en el locus *rpoB* producen cambios conformacionales en la subunidad β de la RNA polimerasa, disminuyendo la afinidad por la RMP y consecuentemente confiriendo resistencia a este compuesto ⁽⁷²⁾.

El 96 % de las cepas de *M. tuberculosis* resistentes a RMP presentan este tipo de mutaciones y las más comunes encontradas en esta región están relacionadas con los codones Ser531 e His526 ^(52; 54), dando como resultado un alto nivel de resistencia (MIC \geq 32 μ g / mL) y una resistencia cruzada a todas las rifampicinas ⁽⁷⁴⁾. Mutaciones en

los codones 511, 516, 518 y 522 están relacionados con nivel bajo de resistencia ⁽⁷⁴⁾. Más del 95% de las mutaciones se encuentran en una región de 81 pb (codones 507- 533) del gen *rpoB* ⁽⁷⁵⁾.

1.4.1.4 Estreptomicina (SM)

Es un antibiótico aminoglucósido que mata a bacilos tuberculosos en replicación a un pH neutral o alcalino con MIC de 2-8 µg/mL, pero es inactivo contra bacilos tuberculosos que no están en crecimiento o intracelulares. La frecuencia con la que aparecen mutantes resistentes en *M. tuberculosis* es de 10^{-6} ⁽⁷⁵⁾ (Fig. 15).

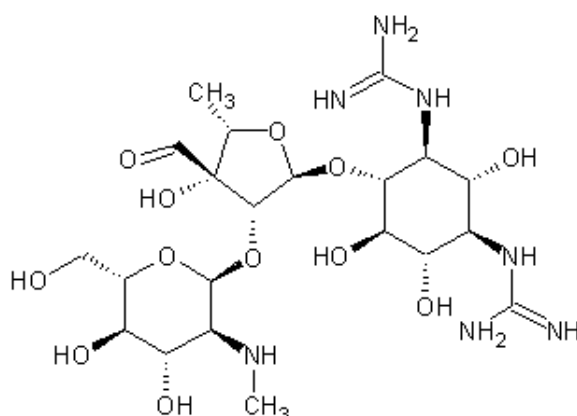


Figura 15: Estructura de la estreptomicina.

Mecanismos de acción.

SM inhibe la síntesis de proteínas por la unión con la subunidad 30S del ribosoma micobacterial mediante el bloqueo la traducción del mRNA y provocando un daño en la membrana celular. El sitio de acción del SM es la pequeña subunidad 30S del ribosoma, específicamente la proteína ribosomal S12 y el rRNA de 16S ⁽⁵⁴⁾.

Mecanismos de resistencia.

La resistencia a SM es causada por mutaciones en la proteína S12 codificada por el gen *rpsL* y la 16S rRNA codificada por el gen *rrs*. Mutaciones en *rpsL* y en *rrs* son el principal mecanismo de resistencia a SM, representan respectivamente el 50% y el 20% de las cepas resistentes a SM. La mutación más común en *rpsL* es una sustitución en el codón 43 de lisina por arginina, causando un alto nivel de resistencia a SM. Una mutación en el codón 88 es también común ⁽⁶⁵⁾.

Mutaciones del gen *rrs* ocurren en los bucles del 16S rRNA y son agrupados en dos regiones alrededor de los nucleótidos 530 y 915. Cepas de *M. tuberculosis* resistentes a SM parecen ser causadas por una inserción de citosina en el bucle 530. Sin embargo, entre el 20 y el 30% de cepas resistentes a SM con un bajo nivel de resistencia (MIC \leq 32 μ g/mL) no tienen mutaciones en *rpsL* o en *rrs*, lo cual indica otros mecanismos de resistencia. Recientemente una mutación en *gidB* que codifica una 7-metilguanosina (m(7)G) metiltransferasa específica para 16S rRNA se ha encontrado que causa un bajo nivel de resistencia en 33% de los aislados de *M. tuberculosis* resistentes ⁽⁵⁴⁾.

1.5. Farmacorresistencia

La aparición de resistencias en *M. tuberculosis* a los agentes antituberculosos no constituyen un evento excepcional, ya que se trata de un hecho conocido desde poco después de la aparición de los primeros antifímicos⁽⁷⁶⁾.

La quimioterapia antituberculosa efectiva depende de regímenes con múltiples drogas administradas por largos períodos de tiempo. Los bacilos tuberculosos en forma individual generalmente no desarrollan resistencia. Más bien la resistencia es un fenómeno del “todo o nada” a causa de una mutación al azar que puede ocurrir en un microorganismo entre un millón de ellos. En presencia de una dosis normalmente mortal del fármaco muere el millón de microorganismos sensibles, en tanto que el que ha experimentado la mutación sobrevive y transmite el gen de la resistencia a sus descendientes.

La frecuencia de mutantes naturales en una población bacilar ha sido calculada de 1×10^6 para INH, 1×10^8 para RMP, 1×10^6 ETB y 1×10^5 para SM. De manera general, los bacilos de *Mycobacterium* desarrollan mutaciones espontáneas en genes específicos. Estos mutantes son seleccionados tras la exposición a un tratamiento farmacológico mal administrado, pasan a constituir la población microbiana predominante y son causa de fracaso clínico⁽⁷⁷⁾. La resistencia de *M. tuberculosis* puede ser primaria o secundaria

(también llamada *adquirida*). La primaria se define como aquella en la que se presentan cepas aisladas en pacientes que nunca antes han recibido tratamiento antituberculoso. La secundaria es la consecutiva a una quimioterapia incorrecta provocada por la utilización de un esquema terapéutico inicial erróneo, una indicación inadecuada de tratamiento de infección tuberculosa (quimioprofilaxis) al no descartar enfermedad activa, o un incumplimiento del tratamiento. La resistencia se puede clasificar con base en el número de antituberculosos implicados en monorresistencia o multifarmacorresistencia ⁽⁷⁶⁾. La multifarmacorresistencia se define cuando las micobacterias causantes de la tuberculosis son resistentes por lo menos a la INH y a la RMP, los medicamentos antituberculosos más potentes ^(7; 78; 79).

La tuberculosis ultrarresistente (TB-XR) se define como la tuberculosis resistente al menos a la INH y la RMP y algún tipo de fluoroquinolona, así como alguno de los tres fármacos inyectables de segunda línea (amikacina, capreomicina y kanamicina) ^(79; 78). Términos como “totalmente farmacorresistente” no se han definido con claridad. Si bien en la práctica el concepto de farmacorresistencia total es fácil de comprender en general, existen dificultades técnicas para realizar pruebas de farmacosenibilidad *in vitro* y sigue habiendo limitaciones para el uso de los resultados: las pruebas de sensibilidad convencionales a los fármacos implicados en la TB-MR y la TB-XR se

han estudiado exhaustivamente y existe consenso acerca de los métodos apropiados, las concentraciones críticas de los fármacos que definen la resistencia, y la fiabilidad y la posibilidad de reproducción de las pruebas ⁽⁸⁰⁾.

1.5.1 Factores de Riesgo

La tuberculosis multifarmacorresistente es multifactorial y su origen se centra en tres grandes componentes: tratamiento inadecuado, calidad de los medicamentos y mala administración de fármacos (Tabla 5). Existen factores de riesgo que también pueden jugar un papel en el aumento de la carga global y la intensificación de la TB-MDR (Tabla 4).

Tabla 4 : Factores de riesgo asociados con MDR-TB

FACTOR DE RIESGO	AUTOR
VIH	Skrahina, A (2013) ⁽⁸¹⁾ ; Sethi, S (2013) ⁽⁸²⁾ , Faustini, A (2006) ⁽⁸³⁾ ; Dubrovina, I. (2008) ⁽⁸⁴⁾ ; Carvalho, A. (2010) ⁽⁸⁵⁾ ; Wells, C (2007) ⁽⁸⁶⁾ ; Suchindran, S. (2009) ⁽⁸⁷⁾ ; Conaty, S.J (2004) ⁽⁸⁸⁾ ; Terlikbayeva, A (2012) ⁽⁸⁹⁾ ; Chung,K (2011) ⁽⁹⁰⁾
DIABETES	Chhavi, P ⁽⁹¹⁾ . (2013); Chang, J. (2011) ⁽⁹²⁾ ; Fisher, S. (2008) ⁽⁹³⁾
EDAD	Skrahina, A (2013) ⁽⁸¹⁾ ; Faustini, A (2006) ⁽⁸³⁾ ; Conaty, S.J (2004) ⁽⁸⁸⁾ ; Zhao, P. (2012) ⁽⁹⁴⁾ ; Chung,K (2011) ⁽⁹⁰⁾
ALCOHOLISMO	Skrahina, A (2013) ⁽⁸¹⁾ ; Miller, A. (2012) ⁽⁹⁵⁾ ; Zetola, N. (2012) ⁽⁹⁶⁾ ; Kurbatova, E. (2012) ⁽⁹⁷⁾ ; Chung,K (2011) ⁽⁹⁰⁾
TABAQUISMO	Skrahina, A (2013) ⁽⁸¹⁾ ; Chung,K (2011) ⁽⁹⁰⁾
DROGAS	Carvalho, A. (2010) ⁽⁸⁵⁾ ; Chung,K (2011) ⁽⁹⁰⁾
MIGRACION	Skrahina, A(2013) ⁽⁸¹⁾ ; Faustini, A (2006) ⁽⁸³⁾ ; Carvalho, A. (2010) ⁽⁸⁵⁾ ; Conaty, S.J (2004) ⁽⁸⁸⁾ ; Terlikbayeva, A (2012) ⁽⁸⁹⁾
ENCARCELAMIENTO	Skrahina, A(2013) ⁽⁸¹⁾ ; Carvalho, A. (2010) ⁽⁸⁵⁾ ; Terlikbayeva, A (2012) ⁽⁸⁹⁾

Tabla 5: Factores que propician la tuberculosis multifarmacorresistente.

Personal de salud: Tratamientos inadecuados	Medicamentos:	Pacientes: Ingesta inadecuada de medicamentos
<p>La existencia de una prescripción de dosis no suficiente para que sea efectiva.</p> <p>Prescripción incompleta o inadecuada de quimioterapia</p> <p>Adición de un fármaco suplementario en un caso de fracaso o recaída.</p> <p>Empleo de medicamentos o combinaciones de fármacos con eficacia no demostrada.</p> <p>Fracaso organizacional del Programa de Tuberculosis</p>	<p>Mala calidad de los medicamentos</p> <p>Tratamientos incompletos</p> <p>Falta de disponibilidad de medicamentos</p> <p>Malas condiciones de almacenamiento</p>	<p>Poca adherencia al tratamiento.</p> <p>Información incompleta sobre el tratamiento.</p> <p>Efectos adversos.</p> <p>Falta de recursos económicos para transporte.</p> <p>Barreras sociales.</p> <p>Mala absorción.</p> <p>Presencia de toxicomanías.</p> <p>Factores socioculturales :</p> <ul style="list-style-type: none"> -El paciente se siente avergonzado. -El paciente se siente culpable. <p>-Falta de comunicación con el personal de salud.</p>

1.6. Métodos diagnósticos fenotípicos para la determinación de cepas multifarmacorresistentes

Se ha establecido una clasificación de los métodos en fenotípicos, considerando el cultivo microbiológico de la muestra a diagnosticar, y genotípicos, basados en el empleo de DNA de micobacterias provenientes de la muestra ⁽⁷⁷⁾.

Existen 3 métodos recomendados por la OMS: el de las proporciones modificadas de Canetti y Groset, concentraciones absolutas y cociente de resistencia ⁽⁴⁸⁾.

Métodos fenotípicos:

- **Método de las proporciones**

Este método descrito por Cannetti y Groset, mide la proporción de colonias que han crecido en medios con concentraciones críticas de antibióticos. Para cada droga está definida una proporción de mutantes resistentes por debajo de la cual la cepa es considerada sensible ⁽⁹⁸⁾.

- **Método de las concentraciones absolutas**

Se utilizan diferentes concentraciones de la droga para determinar la concentración más baja que inhibe el crecimiento. Se puede emplear

una concentración crítica y la cepa se considera resistente cuando hay un crecimiento de 20 o más colonias sobre esta concentración ⁽⁹⁸⁾.

- **Método del cociente de resistencia**

Es una variante del método de concentraciones absolutas. Se define como el cociente entre las CMI de la droga para la cepa problema y la cepa de referencia sensible (H37Rv). Un cociente ≤ 2 indica sensibilidad mientras que uno ≥ 8 define la cepa como resistente ⁽⁹⁸⁾.

- **Métodos de las proporciones BACTEC**

Este método descrito por Canneti y Groset, mide la proporción de colonias que han crecido en medios con concentraciones críticas de antibióticos. Dicho método es la base del sistema automatizado BACTEC, el cual consiste en el sembrado de los bacilos previamente cultivados en un medio líquido Middlebrook, rico en ácido palmítico con carbono 14 (C^{14}). El C^{14} es un isótopo radioactivo natural que emite radiaciones beta, de que cuando las micobacterias metabolizan el ácido palmítico liberan al medio ambiente dicho isótopo en forma de CO_2 marcado con C^{14} . Este CO_2 es aspirado y llevado a una cámara de ionización, en donde se transforma en una corriente eléctrica que se cuantifica y es proporcional a la cantidad de bacilos que se encuentran en crecimiento. En cuanto al diagnóstico de resistencia se emplean frascos con medio de cultivo, en los cuales se inocula la cepa a estudiar y se agrega el fármaco antituberculoso, de

modo que la emisión de radioactividad en un medio de cultivo con determinada droga, significa que el bacilo se está multiplicando y por tanto es resistente. Este es un sistema completamente automatizado y presenta sensibilidad y especificidad superiores al 90%. Entre sus inconvenientes se encuentra el generar desperdicios radioactivos, la importante inversión inicial en la compra del equipo, reactivo y materiales, y la necesidad de contar con personal altamente capacitado. Su principal desventaja es el tiempo requerido para confirmar una negatividad pues incluye por lo menos de 3-4 semanas para el cultivo y una semana más para obtener resultados de farmacoresistencia ^(99; 98; 100).

- **Bactec MGIT 960**

Es un sistema para crecimiento y detección de *Mycobacterium* completamente automatizado. Funciona mediante un sensor especial de fluorescencia sensible al consumo de O₂, que permite monitorear el crecimiento microbiano. Presenta una sensibilidad del 100% y una especificidad del 89.8% para SM. Al compararlo con el sistema BACTEC tiene la ventaja de detectar el crecimiento micobacteriano en forma más rápida y evita la producción de desechos radiactivos ^(101; 102).

- **Observación Microscópica de Susceptibilidad de Medicamentos (*Microscopic Observation Drug Susceptibility assay, MODS*)**

Este método detecta la resistencia a *M. tuberculosis* a INH y RMP directamente de muestras de esputo. Consiste en examinar mediante un microscopio de luz invertida, placas de cultivo con medio Middlebrook 7H9 y el antibiótico a evaluar, inoculadas con muestras de esputo; detectando en un promedio de 7 días la forma de un cordón de las microcolonias características de las micobacterias tuberculosas. En este método se reduce de manera considerable el tiempo de diagnóstico y posee un mayor sensibilidad y especificidad que el medio sólido ⁽¹⁰³⁾.

- **Métodos de óxido reducción: alamar azul, resazurina y actividad nitroreductasa.**

El método de **alamar azul** es un método colorimétrico que se basa en la utilización del colorante alamar azul como indicador de óxido reducción. Cuando hay presencia de células viables, dicha reacción se lleva a cabo y el medio de cultivo cambia de una coloración azul a rosa. Mediante el empleo de determinados puntos de corte, es posible generar una buena detección de cepas sensibles y resistentes a INH y RMP con una sensibilidad de 89% y especificidad del 100%. La

principal ventaja de esta técnica es su bajo costo y la fácil disponibilidad de los reactivos, por lo que bien podría apoyar programas de control de TB-MDR en países con escasos recursos económicos ⁽⁷⁷⁾.

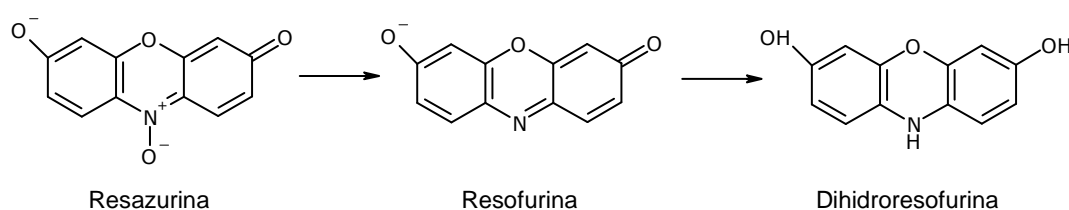


Figura 16: Conversión de resazurina a resofurina (fluorescente), y posteriormente a dihidroresofurina (no fluorescente) por acción metabólica de *Mycobacterium*.

El ensayo de micro valoración con la **resazurina (REMA)** es un método colorimétrico que permite a partir de bacilos aislados de cultivo determinar la multifarmacorresistencia en un periodo de una semana. Consiste en la incorporación del indicador de óxido reducción resazurina al medio de cultivo líquido con diferentes concentraciones de antibiótico ⁽⁷⁷⁾. La resazurina (azul no fluorescente) es reducida irreversiblemente a resofurina (rosa altamente fluorescente) ⁽¹⁰⁴⁾ por oxidoreductasas que se encuentran principalmente en la mitocondria de células viables (Fig. 15). La resofurina es excretada al medio permitiendo el continuo monitoreo de la proliferación y/o la citotoxicidad de sustancias sobre las micobacterias ⁽¹⁰⁵⁾. La resistencia es detectada por el cambio en el color del indicador el cual es directamente proporcional al número de micobacterias vivas en el

medio ⁽¹⁰⁶⁾. Esta técnica se realiza en microplacas ⁽¹⁰⁷⁾ por lo tanto es relativamente barata, sencilla y con buenos resultados de sensibilidad y especificidad. Entre sus inconvenientes está la producción de aerosoles y la posibilidad de transferir bacilos de un pozo a otro de la microplaca ⁽¹⁰⁸⁾.

Otra técnica similar es la **nitroreductasa o prueba de Griess**. Se fundamenta en la actividad de la enzima nitroreductasa que le confiere a *Mycobacterium* la capacidad para reducir el nitrito en nitrato al emplear NaNO_3 en el medio de cultivo, detectando la resistencia mediante un cambio de color, que puede ir del rosa al violeta en función de la cantidad de bacilos. Ofrece entre 10 y 14 días a partir de un cultivo positivo o de muestras de esputo con baciloscopia positiva. Entre sus ventajas se encuentra que es de bajo costo, requiere equipamiento microbiológico básico y posee buenos niveles de sensibilidad y especificidad ⁽¹⁰²⁾.

Estas pruebas de susceptibilidad a medicamentos han sido desarrolladas específicamente para lugares con acceso limitado a laboratorios con infraestructura y habilidad técnica sofisticada. En el 2009, la OMS evaluó el método MODS, los métodos colorimétricos, los ensayos de nitrato reductasa y los ensayos basados en micobacteriofagos, siguiendo estándares apropiados para la evaluación de la exactitud en el diagnóstico de nuevos casos y sus efectos en la salud de los pacientes. Los resultados mostraron que los

métodos colorimétricos, MODS y de nitrato reductasa presentaron suficiente evidencia para ser utilizados bajo programas claramente definidos. ⁽¹⁰⁹⁾.

Métodos diagnósticos genotípicos o moleculares

Estos métodos ofrecen la posibilidad de identificar mutaciones asociadas a TB-MDR de forma precisa y generar resultados a partir de 100 bacilos o menos por muestra. Lo más importante es que permiten realizar el diagnóstico en cuestión de horas ⁽⁷⁷⁾.

El primer paso es la extracción del material genético y la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), de la región que contiene la mutación responsable de la resistencia, para posteriormente identificarse mediante el empleo de alguno de los siguientes métodos:

- **Secuenciación genómica**

Consiste en identificar y analizar la secuencia nucleotídica de un fragmento de DNA específico. Solo se requiere obtener el DNA de la cepa a estudiar, amplificar por PCR la región del gen de interés y este producto es analizado por un secuenciador automático, el cual finalmente presenta la sucesión de ácidos nucleicos ⁽⁷⁷⁾.

Para el caso del diagnóstico de resistencia a fármacos en micobacterias, es posible secuenciar el gen involucrado en dicho mecanismo e identificar las mutaciones específicas mediante comparación con el gen de una cepa sensible.

Las limitaciones de esta técnica son los altos costos del equipo, los materiales y reactivos que se requieren, y la necesidad de contar con personal altamente capacitado. Pese a estas desventajas, varios estudios demuestran que la secuenciación es considerada la técnica de elección para la detección genotípica de resistencias en cepas de *M. tuberculosis* ⁽¹¹⁰⁾.

- **Sistema de detección por fluorescencia mediante PCR en tiempo real**

La técnica de PCR en tiempo real permite la detección de mutaciones con ayuda de sondas de DNA marcadas con diferentes tipos de fluorescencia. Para ello, se amplifica la región donde se ubica la mutación causante de resistencia al fármaco y se analiza la fluorescencia del producto generado.

Este sistema detecta el DNA de micobacterias provenientes de esputo, lavado bronco alveolar, fluido cerebro espinal, fluido pleural o muestras de tejido, lo que amplía su utilidad como técnica diagnóstica ⁽¹¹¹⁾. Para este procedimiento se han desarrollado

diversos tipos de sondas, con diferentes características y niveles de eficiencia, sin embargo, comparten el inconveniente de ser costosas, requerir equipo sofisticado y personal altamente especializado ⁽⁷⁷⁾.

La OMS aprobó en diciembre de 2010 la prueba Xpert MT/RIF, que es un ensayo de amplificación de nucleótidos. Detecta *M. tuberculosis* así como las mutaciones que confieren resistencia a RM directamente de muestras de esputo en un ensayo que proporciona resultados dentro de 100 minutos. Además, puede poner en manifiesto la resistencia a RM con 95,1% de sensibilidad y 98,4% de especificidad ⁽⁶⁾.

1.7. Definición de un Hospital de Tercer Nivel

Red de hospitales dotados con alta tecnología y máxima capacidad resolutive diagnóstica terapéutica, en donde las actividades son encaminadas a restaurar la salud y rehabilitar a usuarios referidos por Unidades Médicas Hospitalarias del segundo nivel, o por excepción los que envíe el primer nivel, que presentan padecimientos de alta complejidad diagnóstica y de tratamiento, a través de una o varias especialidades médicas, quirúrgicas o médico-quirúrgicas. Este nivel puede comprender también funciones de apoyo especializado para la vigilancia epidemiológica; actividades de investigación y desarrollo de recursos humanos altamente capacitados. ⁽¹¹²⁾

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La TB-MDR representa una amenaza emergente para el control mundial de la tuberculosis, además de ser uno de los principales problemas de salud pública ⁽¹¹¹⁾.

En el 2011 hubo un estimado de 630 000 casos de TB-MDR entre los 12 millones de casos de TB prevalentes en el mundo ⁽⁶⁾. La OPS ubica a México entre los cinco países con mayor incidencia de TB-MDR. En México se notificaron 140 nuevos casos de TB-MDR en el 2010 y la prevalencia a nivel nacional fue de 297 casos ⁽⁹⁾.

En México, además de lo anterior, se ha identificado una mayor asociación de casos de TB-MDR con diabetes mellitus, desnutrición y adicciones a sustancias tóxicas principalmente el alcoholismo, lo cual ha agravado el perfil de la tuberculosis ⁽¹¹³⁾.

Debido a esta situación en el presente trabajo se buscó conocer la prevalencia de cepas TB-MDR en pacientes derechohabientes del Hospital Regional "General Ignacio Zaragoza" del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) y determinar cuáles son los factores de riesgo significativos que están involucrados en la prevalencia de TB-MDR.

3.JUSTIFICACION

La identificación de grupos de riesgo ayudaría a la creación de mejores estrategias para la detección temprana y control de las personas que cursan con infección por cepas de TB-MDR en la ciudad de México.

4.OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Conocer la prevalencia de la TB-MDR e identificar los factores socioeconómicos, demográficos y de salud que presentan una asociación significativa con la TB-MDR en los pacientes derechohabientes del H. R. "Gral. Ignacio Zaragoza" ISSSTE.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Determinar la resistencia a medicamentos de primera línea (SM, INH, RMP y ETB) de cepas de *M. tuberculosis* en la población usuaria del laboratorio de bacteriología del Hospital Regional "General Ignacio Zaragoza" ISSSTE, mediante el método colorímetro REMA.
- ❖ Estimar la prevalencia de cepas de TB-MDR aisladas de muestras pulmonares y extra-pulmonares de pacientes tanto hospitalizados como de consulta externa del Hospital Regional "General Ignacio Zaragoza" del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE).

- ❖ Buscar la asociación entre los distintos factores que acompañan al paciente con TB-MDR y la presencia de esta entidad clínica en los pacientes tanto hospitalizados como de consulta externa del Hospital Regional "General Ignacio Zaragoza" del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE).

5.MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Aislados bacterianos.

Se analizaron 35 cepas provenientes de 78 pacientes del H. R. "Gral. Ignacio Zaragoza" ISSSTE, obtenidas durante el periodo 2009-2010. Este hospital concentra el 10 % de los pacientes derechohabientes del ISSSTE de todo el país.

Los criterios de inclusión utilizados fueron:

- a) Las cepas estudiadas debían pertenecer al complejo *M. tuberculosis*. La identificación de las cepas se hizo previamente en el laboratorio con el protocolo de 2 PCRs en punto final.
- b) Se debe contar con el historial clínico del paciente.
- c) La cepa debía presentar crecimiento en medio Middelbrook[®] 7H9 adicionado con OADC.

Los criterios de exclusión empleados fueron:

- a) Que la cepa estudiada no perteneciera al complejo *M. tuberculosis*.
- b) Pacientes sin historial clínico.

c) Cepas sin crecimiento en medio Middelbrook[®] 7H9 adicionado con OADC.

En la tabla 6 y 7 se muestra las frecuencias sociodemográficas y de los factores de riesgo de 35 cepas seleccionadas.

Las muestras clínicas de las que se obtuvieron las cepas fueron: esputo (42%), aspirado bronquial (17%), hemocultivo (15%), ganglio linfático (11%), líquido pleural (6%), orina (3%), biopsia pulmonar (3%), y jugo gástrico (3%).

En la mayoría de los casos las cepas habían sido preservadas en glicerol a -70°C , sin embargo algunas cepas se encontraban en fase logarítmica de crecimiento, sembradas en los medios Dubos y Lowestein-Jensen. Para la recuperación de células viables de *M. tuberculosis* se realizaron resiembras de cada una de las cepas, comprobando previamente su pureza por medio del análisis microscópico utilizando la tinción de Kinyoun.

Las cepas puras fueron resembradas en 10 ml de medio Middlebrook[®] 7H9 enriquecido con ácido oleico (0.06%), albúmina bovina (5%), dextrosa (2%), catalasa (0.003%), Tween 80 al 20% y glicerol. El periodo de incubación varió de dos a cuatro semanas, e incluso hasta seis semanas. Aquellos tubos que presentaban turbidez se les realizó un nuevo análisis microscópico para confirmar que no existiera contaminación durante el proceso de resiembra.

Tabla 6 : Factores de riesgo socio-demográficos de las cepas en estudio

GENERO		EDAD	ESCOLARIDAD							
n(%)		n(%)	n(%)							
Femenino	Masculino	26-77	Ninguna	Primaria	Secundaria	Preparatoria	Carrera técnica	Licenciatura	Posgrado	Otro
15 (42.86%)	20 (57.14%)	35 (100%)	3 (8.57%)	4 (11.43%)	7 (20.0%)	14 (40%)	1 (2.86%)	3 (8.57%)	2 (5.71%)	1 (2.86%)

Tabla 7: Comorbilidades y factores de riesgo de las cepas en estudio

CONTACTO Y HACINAMIENTO		COMORBILIDAD							TRATAMIENTO PREVIO
n(%)		n(%)							n(%)
Contacto	Hacinamiento	VIH	Inmunosupresión	Diabetes	Desnutrición	Alcoholismo	Tabaquismo	Toxicomanías	Dotbal
9 (34%)	5 (29.41%)	6 (20.69%)	9 (45.0%)	13 (41.94%)	15 (62.50%)	8 (32.0%)	7 (28%)	1 (4.0 %)	19 (86.36%)

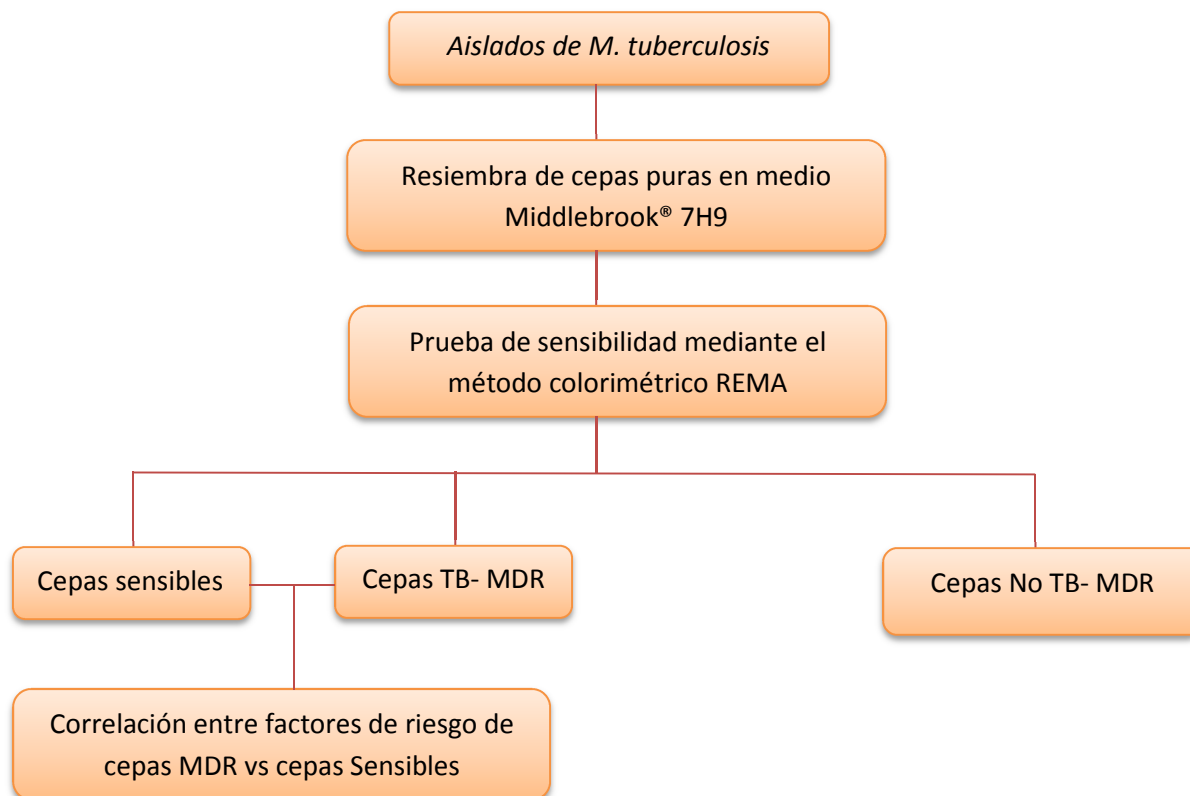


Figura 17: Algoritmo general de trabajo.

La determinación de la resistencia de las cepas aisladas a los fármacos de primera línea: INH, ETB, RMP y SM, se realizó mediante el método colorimétrico REMA, el cual consiste en la incorporación de resazurina al medio de cultivo con diferentes concentraciones de antibiótico. La resazurina es un indicador de óxido-reducción en ensayos de viabilidad celular de bacterias.

5.2. Metodología

5.2.1. Preparación de Fármacos Antituberculosos

Disoluciones *stock*.

Las disoluciones *stock* de INH, ETB y SM se prepararon a una concentración de 1 mg/mL con agua destilada, la disolución de RMP fue preparada con dimetilsulfóxido a una concentración de 1mg/mL. Cada una de ellas se esterilizó por filtración a través de una membrana de 0.2 μm . Los cuatro fármacos se conservaron en alícuotas a -20°C .

Disoluciones de trabajo.

A partir de las disoluciones *stock* se realizaron las disoluciones de trabajo de cada uno de los medicamentos y obtener las siguientes concentraciones: SM 32 $\mu\text{g/mL}$, INH 4 $\mu\text{g/mL}$, RMP 8 $\mu\text{g/mL}$ y ETB 128 $\mu\text{g/mL}$.

Para esto se colocó 1 mL de medio Middelbrook[®] 7H9 a cuatro tubos para microcentrífuga y se agregaron las siguientes cantidades respectivamente: 32 μL de SM, 4 μL de INH, 8 μL de RMP y 128 μL de ETB.

5.2.2. Preparación del colorante.

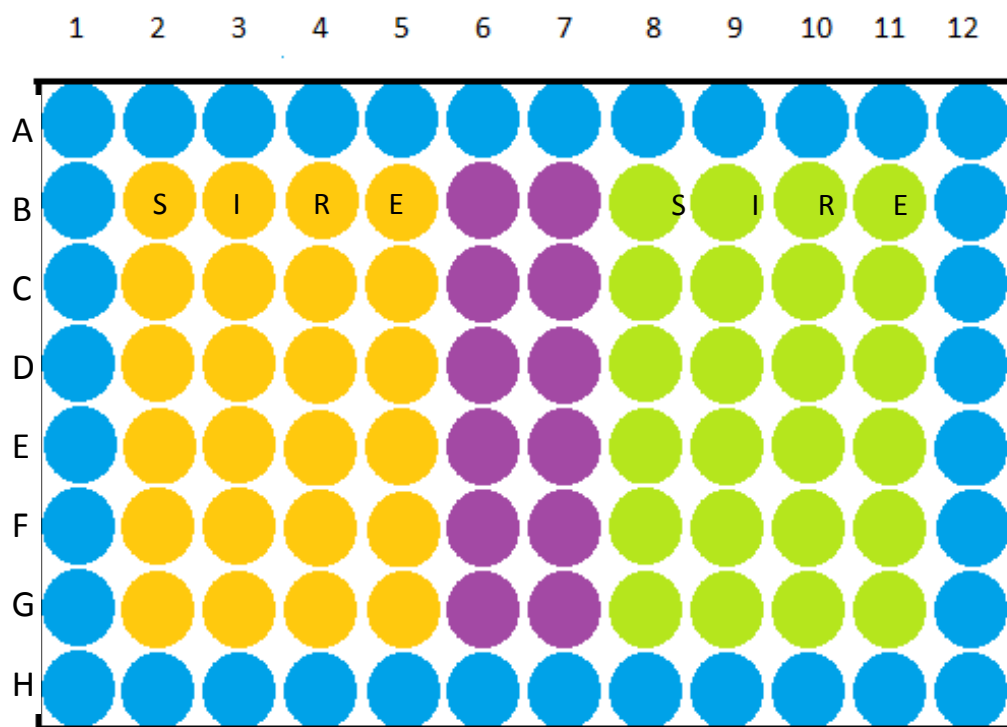
Se preparó una disolución de rezarsurina al 0,014 % en agua destilada, la cual se esterilizó por filtración a través de una membrana de 0,2 μm . La disolución se almacenó a 4 $^{\circ}\text{C}$, protegida de la luz con papel aluminio.

5.2.3. Ensayo de susceptibilidad.

A cada una de las cepas se les realizó la prueba de susceptibilidad REMA de la siguiente manera:

- ❖ Para realizar los ensayos se utilizaron placas para cultivos de 96 pozos estériles en las cuales se añadieron 200 μL de agua estéril en los pozos ubicados en la periferia de la placa (con el fin de evitar la desecación). A los 60 pozos restantes se les adicionaron 100 μL de medio Middelbrook[®] 7H9 adicionado con OADC. Las columnas 2 a la 6 se utilizaron para el análisis de una muestra y las columnas de la 7 a la 11 para el análisis de otra muestra (Figura 18).

Figura 18: Esquema de la placa de cultivo en el ensayo de susceptibilidad



- ❖ Se adicionaron 100 μL de los fármacos de la siguiente manera:
SM: se adicionó en los pozos B2 y B8 a una concentración de 32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; **INH:** se adicionó en los pozos B3 y B9 a una concentración de 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; **RMP:** se adicionó en los pozos B4 y B10 a una concentración de 8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; **ETB:** se adicionó en los pozos B5 y B11 a una concentración de 128 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.
- ❖ Se realizaron seis diluciones seriales (1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12) para evaluarla totalidad de los pozos en un volumen final de 100 μL .
- ❖ Se colocaron 100 μL de la suspensión microbiana B en cada uno de los pozos que contenían fármaco por lo que el volumen final a evaluar fue de 200 μL por pozo con las siguientes concentraciones de los fármacos:

Tabla 8: Concentración final de los fármacos.

ESTREPTOMICINA	ISONIAZIDA	RIFAMPICINA	ETAMBUTOL
Concentración final por pozo ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Concentración final por pozo ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Concentración final por pozo ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Concentración final por pozo ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
8	1	2	32
4	0.5	1	16
2	0.25	0.5	8
1	0.125	0.25	4
0.5	0.062	0.125	2
0.25	0.031	0.062	1

- ❖ Los pozos B6 al G6 y B7 al G7 se utilizaron como controles de la prueba. Los pozos B6 y B7 fueron los controles del medio a los cuales solo se les añadió 100 µL de medio Middelbrook® 7H9. Los pozos restantes se utilizaron como controles de crecimiento microbiano; a los pozos C6 al E6 y C7 al E7 se les añadió 100 µL de la solución bacteriana B, a los pozos F6 y F7 se les añadió suspensión microbiana diluida 2:10 y a los pozos G6 y G7 una suspensión microbiana diluida 2:100.
- ❖ Se cerraron las placas y se incubaron a 37°C por cinco días.
- ❖ Una vez transcurrido el tiempo de incubación se añadió el indicador de revelado (rezarsurina) a los pozos control C6 y C7 para poner en evidencia el crecimiento de la micobacteria sin retos antimicrobianos. Por pozo se colocaron 44 µL de una disolución de rezarsurina y *Tween* (32 µL de la solución de trabajo de rezarsurina y 12 µL de *Tween* 80). Las placas se incubaron por 24 horas a 37 °C. El cambio de color implicaba crecimiento microbiano en la placa, por lo que se procedió a colocar la rezarsurina en toda la placa y se incubó por 24 hrs. más. En caso de que no hubiera un virre en el color o que fuera poco cuantitativo, se dejó incubar de uno a dos días más y se agregó colorante a otro pozo control, para verificar el crecimiento microbiano.

5.2.4. Análisis de la placa

El primer paso consistió en verificar los pozos control negativo, los cuales deberían presentar aún la coloración azul. Los pozos control positivo deberían presentar un vire a color rosa que podía variar desde lavanda hasta rosa intenso.

La referencia visual de crecimiento fue el correspondiente al control con la dilución 2:100, de manera que los pozos que presentaron un color más intenso eran tomados como positivos para crecimiento microbiano.



Figura 19 : Análisis de la placa de cultivo en la prueba REMA (fotografía tomada por la autora).

- Pozos color azul: NEGATIVO para crecimiento micobacteriano
- Pozos color lavanda a rosa: POSITIVO para crecimiento micobacteriano

5.3. Determinación de características de los individuos en estudio.

Con la intención de evaluar los parámetros socioeconómicos, demográficos y de salud que afectan la prevalencia de TB-MDR en la muestra estudiada, se recabaron datos sobre variables disponibles en el expediente clínico de los pacientes cuyas cepas fueron recuperadas.

5.3.1 Definición de variables.

Tabla 9: Variables recabadas para el estudio de MDR-TB

VARIABLE	DEFINICION	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICION
Género	Características biológicas determinadas, relativamente invariables del hombre y de la mujer	Cualitativa	Hombre Mujer
Escolaridad	Último grado de estudios aprobado por la población	Cualitativa	Ninguno Primaria Secundaria Preparatoria Carrera técnica Licenciatura Posgrado Otro
Ocupación	Oficio o profesión que desempeña la población	Cualitativa	Hogar Estudio Empleado Otra actividad Ninguna

VARIABLE	DEFINICION	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICION
Contacto	Contacto estrecho con una persona infectada con una cepa de TB-MDR	Cualitativa	Si No
Hacinamiento	Aglomeración en un mismo lugar de un número de personas	Cualitativa	Si No
Comorbilidad con VIH	Presencia de TB-MDR y de VIH en un mismo paciente	Cualitativa	Si No
Inmunosupresión	Indica si el paciente se encuentra en régimen inmunosupresor con la infección con cepas de TB-MDR	Cualitativa	Si No
Comorbilidad con Diabetes Mellitus	Presencia de TB-MDR y de diabetes mellitus en un mismo paciente	Cualitativa	Si No
Comorbilidad con Desnutrición	Presencia de TB-MDR y de desnutrición en un mismo paciente	Cualitativa	Si No
Consumo de alcohol	Dependencia al uso del alcohol	Cualitativa	Si No
Consumo de tabaco	Dependencia al uso del tabaco	Cualitativa	Si No
Toxicomanías	Dependencia al uso de drogas	Cualitativa	Si No
Tratamiento previo	Administración de Dotbal previamente	Cualitativa	Si No

5.4. Análisis estadístico.

Para identificar que variables presentan una asociación significativa con la TB-MDR se utilizó la herramienta estadística Chi-cuadrada en la cual se realiza una comparación de los datos casos TB-MDR VS cepas TB-Sensibles. Los valores de $p < 0,05$ son considerados como significativos.

6.RESULTADOS

6.1 Resultados de susceptibilidad a los fármacos de primera línea.

Para llevar a cabo el estudio se seleccionaron 35 aislados de *M. tuberculosis* que cumplieron con los criterios de inclusión. En el Anexo I se muestran los resultados de susceptibilidad de las 35 cepas aisladas obtenidos para cada uno de los fármacos en estudio. En la Figura 20 se observa que el 11.43% (4 aislados) mostraron resistencia a 1 fármaco, 17.14% (6 aislados) a 2 fármacos, 11.43 % (4 aislados) mostraron resistencia a 3 fármacos, 14.29% (5 aislados) a los 4 fármacos y el 45.71% (16 aislados) a ningún medicamento.

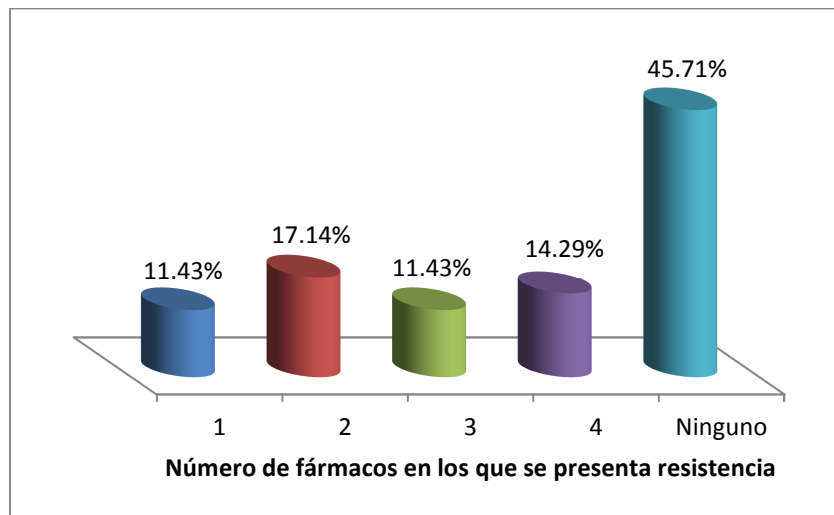


Figura 20: Gráfica de distribución de cepas de *M. tuberculosis* por resistencia 1=resistencia a un fármaco, 2=resistencia a dos fármacos, 3=resistencia a tres fármacos, 4=resistencia a cuatro fármacos, Ninguno=sensible a todos los fármacos.

La tabla 10 describe la distribución de las 35 cepas de acuerdo a sus patrones de resistencia. El único patrón de resistencia presentado en las cepas monorresistentes fue al fármaco INH.

De los 15 aislados estudiados que presentaron resistencia a 2,3 y 4 fármacos, 14 fueron cepas TB-MDR, es decir, presentaron resistencia a INH y a RMP. El 14.29% de las cepas TB-MDR (5 aislados) solo presentaron resistencia a los dos fármacos INH y RPMP pero algunas cepas además de ser TB-MDR presentaron resistencia a 1 ó 2 fármacos más. El 11.43% (4 aislados) fueron cepas MDR y expresaron también resistencia a SM y el 14.29% fueron cepas MDR además de presentar resistencia a ETB y SM.

El único caso de fármacorresistencia presente en el estudio fue el patrón de resistencia INH y ETB.

Tabla 10: Patrón de resistencia a fármacos en las cepas analizadas.

Patrón de resistencia	No. de aislados	% de aislados
Monorresistencia		
INH	4	11.43
Multifarmacorresistencia		
INH+RMP	5	14.29
INH+RMP+SM	4	11.43
INH+RMP+SM+ETB	5	14.14
Farmacorresistentes		
INH+ETB	1	14.29

Para identificar los factores que tienen una relación significativa con la TB-MDR, se tomaron en cuenta solamente las cepas que eran TB-MDR (40.0%=14 aislados) vs cepas TB-sensibles (45.71%=16 aislados) (Figura 21).

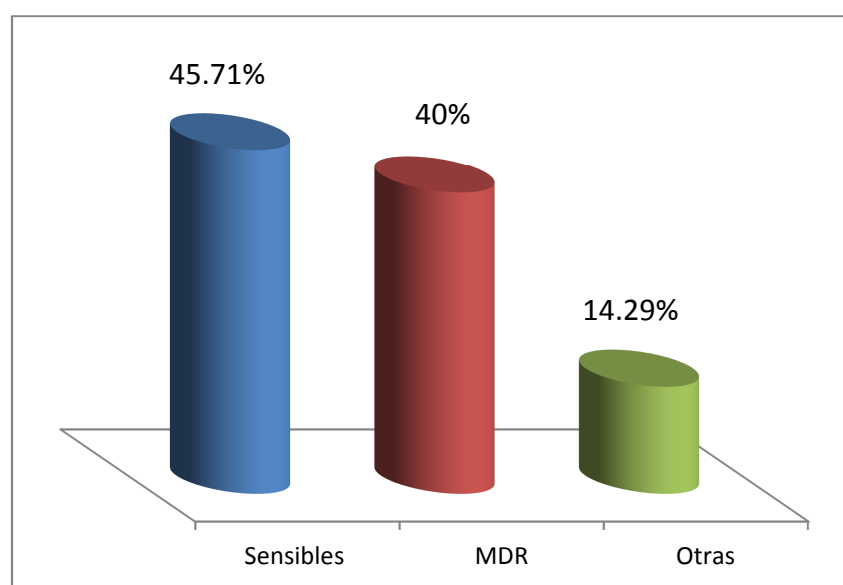


Figura 21: Porcentaje de cepas TB-MDR, No TB-MDR y Sensibles.

Otras = Cepas que no son TB-MDR pero que presentan resistencia a otros fármacos.

6.2 Correlación entre características socioeconómicas y demográficas y TB-MDR.

Las características socioeconómicas y demográficas de las poblaciones de pacientes con TB resultan muy heterogéneas, por lo que estudiarlas puede conducir a encontrar patrones que indiquen riesgo de adquisición de la TB-MDR. Estudios diversos ^(83; 114; 115; 116; 117; 118) han encontrado asociación con al menos un puñado de factores socioeconómicos: pobreza, recursos inadecuados, inestabilidad política y la poca importancia que se le brinda a la TB en

la salud pública. La tabla 11 brinda una visión a la exploración de estos factores como posibles desencadenantes de la TB-MDR.

Tabla 11: Comparación entre TB y TB-MDR por sexo, escolaridad y ocupación.

CARACTERISTICAS	PACIENTES TB- MDR			PACIENTES TB- SENSIBLES	
	n	(%)	p	n	(%)
Sexo					
Masculino	7	53.85	0.340	7	36.84
Femenino	6	46.15		12	63.16
Escolaridad					
Ninguna	1	12.50	0.188	1	5.89
Primaria	1	12.50		2	11.76
Secundaria	0	0.00		6	35.29
Preparatoria	5	62.50		2	11.76
Carrera técnica	0	0.00		1	5.89
Licenciatura	1	12.50		2	11.76
Posgrado	0	0.00		2	11.76
Otro	0	0.00		1	5.89
Ocupación					
Labores del hogar	1	12.50	0.270	2	12.50
Estudio	0	0.00		0	0.00
Empleado	7	87.50		13	81.25
Otra actividad	0	0.00		0	0.00
Ninguna actividad	0	0.00		1	6.25

Se sabe que uno de los factores de transmisión de la TB (independientemente de su estatus de MDR o no-MDR) es el contacto estrecho con portadores de la micobacteria. A este respecto, se analizaron los datos de contacto estrecho y hacinamiento entre pacientes con TB-Sensibles y aquellos con TB-MDR (Tabla 12).

Tabla 12: Comparación entre pacientes TB y TB-MDR por contacto estrecho y hacinamiento.

CARACTERISTICAS	PACIENTES TB-MDR			PACIENTES TB-SENSIBLES	
	n	(%)	p	n	(%)
Contacto					
Si	7	57.14	0.870	5	33.33
No	4	42.86		10	66.67
Hacinamiento					
Si	2	50.00	0.300	3	23.08
No	2	50.00		10	76.92

6.3 Correlación entre estado de salud y prevalencia de TB-MDR.

El estado de salud de un individuo participa en la prevalencia de TB-MDR y modifica las tasas de incidencia, en tanto afecta dos instancias principalmente: las que predisponen al individuo a contraer cepas de TB-MDR, y aquellas que modifican la capacidad del individuo para responder a la micobacteria. Son muchos los factores que entran en juego para determinar la susceptibilidad a padecer de infección por TB-MDR, pero entre los más importantes se pueden enunciar: falla en tratamientos previos (recaída), coinfección con HIV y otras entidades inmunosupresoras, la presencia de problemas en la administración, farmacocinética y farmacodinamia de los medicamentos y la falta de adherencia al tratamiento, entre otros ⁽¹¹⁸⁾. En este apartado se

exponen los resultados de comparar estos parámetros entre pacientes TB-Sensibles y los que padecen TB-MDR.

Tabla 13: Comparación de características clínicas entre pacientes con TB y TB-MDR.

CARACTERISTICAS	PACIENTES TB-MDR			PACIENTES TB-SENSIBLES	
	n	(%)	p	n	(%)
VIH					
Si	4	36.36	0.1000	2	11.11
No	7	63.64		16	88.89
Inmunosupresion					
Si	4	57.14	0.4200	5	38.46
No	3	42.86		8	61.54
Diabetes					
Si	6	46.15	0.6800	7	38.88
No	7	53.85		11	61.12
Desnutrición					
Si	11	91.67	0.0030	4	33.33
No	1	8.33		8	66.67
Cirrosis					
Si	3	30.00	1.0000	0	0.00
No	7	70.00		12	100.00
Pérdida de peso					
Si	7	77.78	0.2800	6	54.55
No	2	22.22		5	45.45
Bronquitis					
Si	1	10.00	0.8900	1	8.33
No	9	90.00		11	91.67
Alcoholismo					
Si	3	37.50	0.6800	5	29.41
No	5	62.50		12	70.59
Tabaquismo					
Si	5	62.50	0.0080	2	11.76
No	3	37.50		15	88.24
Toxicomanias					
Si	1	12.50	0.1300	0	0.00
No	7	87.50		17	100.00

6.4 Correlación entre tratamiento previo y presencia de TB-MDR

Está reportado en la literatura que uno de los principales factores que desencadena la farmacorresistencia en una cepa es un tratamiento inadecuado. Es por esto que se analizó la correlación que hay entre un tratamiento previo y el desarrollo de TB-MDR (Tabla 14)

Tabla 14: Comparación entre tratamiento previo y presencia de TB o TB-MDR.

CARACTERISTICAS	PACIENTES MDR			PACIENTES NO-MDR	
	n	(%)	p	n	(%)
Tratamiento Dotbal					
Si	5	83.33	0.940	14	87.50
No	1	16.67		2	12.50

7.DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1. Resultados de susceptibilidad

La prevalencia de cepas TB-MDR en nuestra población de estudio fue de 39.8%. Los resultados obtenidos en la prueba de susceptibilidad a los fármacos de primera línea nos muestran que el 45.71% de las cepas estudiadas fueron sensibles a los cuatro fármacos y que el 54.29 % de las cepas presentaron algún patrón de farmacoresistencia. Estos resultados son similares a estudios realizados previamente en México en donde se han reportado valores de prevalencia del 12-33% ^{(113), (119), (120)}

En cuanto a los patrones de resistencia la TB-MDR fue el tipo de resistencia más frecuente. Becerril y colaboradores en el estado de Monterrey ⁽¹¹³⁾ y Zazueta y colaboradores en el estado de Sinaloa, México ⁽¹²¹⁾ reportaron frecuencias similares a las encontradas en el presente estudio.

7.2. Características socio-demográficas y prevalencia de TB-MDR.

Los resultados en torno al estudio de las características socioeconómicas y demográficas no mostraron diferencias

significativas ($p > 0,05$ para todas las comparaciones; tablas 11 y 12). Los datos no mostraron diferencias significativas entre el sexo masculino y el femenino, aunque la proporción de hombres fue mayor que el de las mujeres. Estudios reportados en México muestran que la proporción de sexos en el presente estudio es similar a investigaciones anteriores, donde además se encontró que las mujeres tuvieron mayor adherencia al tratamiento y mejores tasas de remisión ⁽¹²²⁾. Sin embargo, los estudios alrededor del mundo muestran un panorama dividido: mientras que algunos muestran prevalencias superiores en hombres (OR = 1.54, en pacientes de Europa occidental), otras indican menor prevalencia en sujetos de sexo masculino (OR = 0.86, en la ex-URSS) (compilados por (83)), e incluso, hay reportes que indican como factor de riesgo ser del sexo femenino ⁽¹²³⁾. La explicación puede versar sobre papeles diferenciales en actividades que impliquen mayor riesgo o contacto con casos de TB-MDR, o incluso, algunos autores suponen que las mujeres son más apegadas al tratamiento y por tanto, menos propensas a recibir un esquema deficiente ⁽⁸³⁾. Esta enfermedad afecta en gran proporción a la población económicamente activa lo cual tiene congruencia con la edad que presentaron los pacientes del grupo de estudio.

Pocos estudios han buscado asociaciones con escolaridad y presencia de TB-MDR; uno de ellos en particular demuestra, por medio de un

análisis multivariado, que un nivel educativo más elevado correlaciona con menor tasa de éxito en el tratamiento e incluso, con un riesgo incrementado de muerte tras la falla del tratamiento ⁽¹²⁴⁾. La escolaridad baja no se ha encontrado relacionada con mayor prevalencia de TB-MDR ⁽¹²⁵⁾, pero sí lo ha sido la escolaridad preparatoria ^{(124) (113)}. En el caso de los pacientes del Hospital, no se encontró una asociación entre escolaridad y la presencia de TB-MDR ($p = 0.188$).

A pesar de no encontrarse diferencias significativas entre las distintas ocupaciones de los pacientes con infección por TB y por TB-MDR ($p = 0.270$), otros autores han encontrado que aquellas ocupaciones con un incremento en la exposición a portadores de TB-MDR representan un factor de riesgo de adquisición de esta entidad clínica ⁽¹²⁶⁾, en particular en personal de servicios de salud ^(127; 128).

Las variables de contacto y hacinamiento muestran una presencia mayor en los pacientes con TB-MDR, aunque esta diferencia no es significativa ($p > 0,05$; contacto: 57,14 % vs 33,33 %; hacinamiento: 50,00 % vs 20,00 %; TB vs TB-MDR, respectivamente), en concordancia con estudios previos ⁽¹²⁹⁾. Pocos estudios contemplan el hacinamiento o el contacto con portadores como variables de riesgo; aunque estudios en prisiones y hospitales, y la habitación en viviendas que no ofrecen condiciones adecuadas a sus inquilinos ^(124; 130) muestran que estas acciones correlacionan con una mayor tasa

de transmisión de cepas MDR ^(131; 132). Sin embargo, dado que ambas variables pueden ser consideradas como indicadores de pobreza, existen datos en la literatura que apoyan esta variable como un factor de predisposición a padecer de infección por TB-MDR ⁽¹²⁴⁾. Nuevamente, se encuentran discrepancias entre distintos reportes, pues un estatus socioeconómico bajo no se ha encontrado asociado a infección por TB-MDR en otras sociedades, como en Francia ⁽¹³³⁾. Un aspecto a considerar es que gran parte de los pacientes que atiende el nosocomio provienen de zonas con rezago social bajo a medio del Distrito Federal y el Estado de México, como las demarcaciones Iztapalapa, Ciudad Nezahualcóyotl, Los Reyes, Ixtapaluca, Texcoco, Amecameca, Valle de Aragón y de las colonias Aragón, Moctezuma, Balbuena y parte de Tepito ^(134; 135). Dado que tanto el grupo de TB como el de TB-MDR provienen de la misma zona, expuestos a los mismos factores de riesgo ⁽¹³⁶⁾, es de esperarse que no se encuentren diferencias significativas entre ambos grupos.

7.3. Comparación entre las características clínicas de pacientes con infección por TB-MDR y pacientes con TB.

Posiblemente la comorbilidad más estudiada a nivel mundial es aquella entre la infección por el complejo *M. tuberculosis* y HIV, aunque sus resultados no son consistentes. Aun cuando hay datos

que demuestran que la presencia de HIV correlaciona con la aparición de TB-MDR ⁽¹³⁷⁾, existen una gran cantidad de ellos que prueban lo contrario ^(83; 138; 139) o que no arrojan pruebas concluyentes ⁽¹⁴⁰⁾. Los estudios realizados con pacientes mexicanos reportan haber encontrado una asociación entre T-MDR y VIH ^{(113) (141)}. En el caso de los pacientes del Hospital Ignacio Zaragoza, no se encontró que la presencia de HIV fuera un factor de predisposición al padecimiento de TB-MDR ($p = 0.100$), si bien si existe una mayor proporción de pacientes con HIV en el grupo de TB-MDR (36,4 % vs 11,1 % en TB). Algunos factores que pueden incrementar el desarrollo de TB-MDR en individuos infectados con VIH incluyen la mala absorción de los medicamentos, interacción medicamentosa, residencia en instituciones (cárceles, dormitorios, albergues, etc.) ⁽¹⁴²⁾

Al revisar los datos de inmunosupresión, tampoco se observa una diferencia significativa entre TB y TB-MDR ($p = 0.420$), lo cual está en concordancia con reportes previos ^(131; 132). Al estudiar ambos casos en conjunto, se puede observar que los factores que controlen o afecten la inmunidad del hospedero no son determinantes para la adquisición de la TB-MDR, pues el estado inmune del paciente no influye en su situación como portador de una cepa TB-MDR.

La prevalencia de diabetes en el paciente con TB-MDR no presentó diferencias con respecto al grupo de TB ($p = 0.680$), lo cual está en concordancia con trabajos de otros autores ^(143; 144), aunque existen

reportes que consideran la diabetes como un factor de riesgo al requerir un mayor tiempo de tratamiento que aquellos que no padecen diabetes ⁽⁹²⁾.

A pesar de que la pérdida de peso *per se* no fue un factor de riesgo de padecer infección por cepas de TB-MDR (77,7 % vs 54,6 %; $p = 0.280$), sí lo fue la desnutrición ($p < 0.05$), en consonancia con reportes previos ⁽¹⁴⁵⁾. La desnutrición frecuentemente se encuentra asociada a otras características como la pobreza extrema, que también se ha relacionado con mayor incidencia y prevalencia de infección por cepas de TB-MDR ^(146; 83).

Ni el consumo de alcohol ni las toxicomanías fueron identificados como factor de riesgo en este estudio ($p = 0.680$ y $p = 0.130$, respectivamente), si bien existen opiniones encontradas respecto a la participación del alcoholismo en el desarrollo de la TB-MDR: mientras que hay estudios que lo sitúan como factor –en compañía de otras actividades como tabaquismo– ^(130; 147; 124), existen otros más que no han encontrado asociación del abuso en el consumo de alcohol con TB-MDR ^(146; 148; 125; 149). Por su parte, el historial de uso de drogas sí ha sido correlacionado con la presencia de TB-MDR ⁽¹²⁴⁾. El tabaquismo sí mostró una correlación con la presencia de TB-MDR ($p < 0.05$) y es confirmada por reportes previos que también asocian esta actividad a la presencia de TB-MDR ^(147; 140).

A pesar de una mayor proporción –no significativa ($p = 0.340$)- de casos de TB-MDR en pacientes con tuberculosis pulmonar con respecto a la tuberculosis extrapulmonar, sí existen reportes acerca del incremento gradual en casos de TB-MDR extrapulmonar ⁽¹⁵⁰⁾ y debe ser un punto de cuidado al momento de diagnosticar la TB-MDR. Incluso cuando estas prácticas no se encuentren en el rango de significancia estadística, deben ser consideradas como parte de un conjunto de factores que incrementan la vulnerabilidad del individuo, con posibles consecuencias clínicas ⁽¹⁵¹⁾.

El tratamiento previo con ningún fármaco, solo o en conjunto, mostró ser un factor de predisposición para el desarrollo de la TB-MDR ($p > 0.05$ en todos los casos). La resistencia individual o el tratamiento previo no parecen estar relacionados con la migración hacia la entidad clínica de TB-MDR, y esto se encuentra respaldado por varios estudios a nivel mundial ^(83; 152; 153). Sin embargo, la prevalencia de TB-MDR sí se encuentra relacionada con el manejo anterior de la TB, el manejo actual de la enfermedad en el paciente y la transmisión de cepas TB-MDR ⁽⁸³⁾. Empero, la TB-MDR depende de más factores y un reflejo de ello es que las tendencias proyectadas para TB y TB-MDR a nivel mundial varían considerablemente.

7.4 Consideraciones finales.

Aún cuando no se encuentran asociaciones significativas entre diversas prácticas “de riesgo” y el desarrollo de TB-MDR, el tabaquismo, las enfermedades pulmonares, la diabetes y el abuso en el uso de drogas y alcohol impactan en la vulnerabilidad total del individuo, lo cual puede tener efectos adversos en la erradicación de la TB y de su complicación, la TB-MDR.

Estudios como el realizado por Gler y colaboradores ⁽¹⁵⁴⁾ enfatizan la importancia de encontrar nuevas líneas terapéuticas para hacer frente a la multifarmacorresistencia. Estas nuevas estrategias deberán administrarse a la luz de la pregunta: ¿Cómo deben usarse estos fármacos? ⁽¹⁵⁵⁾. Es imperativo aprender de los errores pasados y recalcar la necesidad de combinaciones que maximicen la efectividad del tratamiento mientras que minimicen las interacciones negativas entre fármacos, combinaciones que deben ser consideradas en los nuevos esquemas terapéuticos. Las lecciones experimentadas con la rifampicina ⁽¹⁵⁶⁾ y las fluoroquinolonas ⁽¹⁵⁷⁾ deben ser entendidas para no ser repetidas. Dado que el uso de nuevos fármacos individuales será un hecho inevitable sin importar su origen o las regulaciones en su uso, la exigencia será anticipar los retos que impliquen los nuevos esquemas terapéuticos antes de que se conciba siquiera el nuevo régimen terapéutico ⁽¹⁵⁸⁾.

Los programas nacionales de control de la tuberculosis, aún con el empleo únicamente de los fármacos tradicionales, pueden disminuir e incluso revertir la tendencia de la epidemia de TB-MDR ⁽¹⁵⁹⁾. Este panorama no puede estar completo sin la incorporación de mejoras en la capacidad de respuesta de los laboratorios, en las tecnologías diagnósticas y en la vigilancia por parte de centinelas sociales, todo ello a través de la inversión y la investigación, lo cual llevará eventualmente a una estimación más precisa de los alcances reales de la resistencia a fármacos ⁽¹⁶⁰⁾. Es en esta aplicación práctica donde se sitúa el presente trabajo, al incorporar una metodología validada para el diagnóstico oportuno de la multifarmacorresistencia, y en la identificación de los factores de riesgo a los que hay que poner especial atención en el paciente tuberculoso para evitar la aparición de la TB-MDR.

8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Conocer la complejidad de la tuberculosis –en particular de la tuberculosis multifarmacorresistente- y la dificultad de limitar el peligroso mal uso de los fármacos en la comunidad de pacientes, deben ser los ejes rectores para quienes se encuentran dentro de la salud pública, en la elaboración de políticas de salud, y en el tratamiento de pacientes con tuberculosis.

El estudio de los factores que acompañan la aparición de la multifarmacorresistencia a los fármacos de primera línea (y, una vez llegado el momento, a los de segunda línea y nuevas generaciones) debe entenderse no sólo como un conjunto de parámetros que deben evaluarse y que deberían replicarse en los ambientes donde consideremos que las circunstancias favorecen la presencia de la TB-MDR, sino como un capítulo más en la relación humano-patógeno-entidad clínica, que debe abarcar, desde un punto de vista transdisciplinario, la aplicación de estrategias que abatan los puntos esenciales de la resistencia a fármacos: la mala administración de los esquemas terapéuticos, la falta de adherencia al tratamiento, y la falta de detección oportuna tanto de los casos de infección primaria, como la secundaria.

En lo general, se puede pensar en México como un país que reúne varias de las características sociales que, según diversos autores, suponen un panorama idóneo para la aparición y diseminación de casos de TB-MDR; sin embargo, los datos aquí expuestos hacen ver que la interpretación no es tan sencilla. Aún cuando el diagnóstico temprano de TB-MDR está poco difundido en nuestro entorno, no debe asumirse que su implementación es una problemática en sí; la incorporación de metodologías como la evaluación de MDR por el método de la resarzurina abre las puertas a que personal no altamente capacitado pueda implementarla a un bajo costo, lo que mejora de esta manera la observación y cuantificación de datos de resistencia a fármacos y por ende, magnifica los beneficios de contar con un programa de vigilancia epidemiológica en tuberculosis.

De acuerdo a lo reportado en el presente trabajo, la asociación entre los factores de riesgo estudiados y la TB-MDR no mostró una correlación de causalidad directa pero puede ser el resultado de las interrupciones en el tratamiento que son atribuibles a las mismas actitudes comportamentales de los pacientes con tuberculosis que regularmente descuidan su salud y que tienden a tomar decisiones pobres con respecto a esta, incluyendo de que no se adhieren al tratamiento.

Anexo I Resultados de resistencia a los fármacos SM, INH, RMP y ETB de las cepas estudiadas

NO. DE CEPA	SM	INH	RMP	ETB
1	—	+	+	—
2	—	+	+	—
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	—
6	—	+	—	—
7	+	+	+	—
8	+	+	+	+
9	—	+	—	—
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
12	—	—	—	—
13	—	+	+	—
14	—	+	—	+
15	—	—	—	—
16	—	—	—	—
17	—	+	+	—
18	+	+	+	—
19	—	—	—	—
20	—	+	+	—
21	—	—	—	—
22	—	—	—	—
23	—	+	—	—
24	—	—	—	—
25	—	—	—	—
26	—	+	—	+
27	—	—	—	—
28	—	+	—	—
29	+	+	+	—
30	—	—	—	—
31	—	—	—	—
32	—	—	—	—
33	—	—	—	—
34	—	—	—	—
35	—	—	—	—
36	—	—	—	—

(-) Cepas sensibles, (+) Cepas resistentes, RM = Rifampicina , INH = Isoniacida , SM = Estreptomicina y ETB= Etambutol. Las casillas con el signo (-) indican que en el valor de corte para dicho fármaco no hubo crecimiento micobacteriano. Las casillas con signo (+) indican que si hubo crecimiento microorganismo en el valor de corte. Los valor de corte para los diferentes fármacos fueron: SM 2 µg/ml, IHN 0.25 µg/ml, RM 0.25 µg/ml y ETB 8 µg/ml.

10. REFERENCIAS

1. *A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex.* **Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, Garnier T, Gutierrez C, Hewinson G, Kremer K, Parsons LM, Pym AS, Samper S, van Soolingen D, Cole ST.** 99, 2002, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, Vol. 6, págs. 3684-3689.
2. *Breve recuerdo histórico de la tuberculosis.* **Torrico, R.** 1/2, 2004, Archivos Bolivarianos de Historia de la Medicina, Vol. 10, págs. 54-63.
3. **Hospital General de México.** *Guías diagnósticas de Neumología.* Servicio de Neumología. México : Guías de Diagnóstico y Tratamiento, 2010. págs. 1-5.
4. *Desde las fuerzas mágicas hasta Roberto Koch: un enfoque epidemiológico de la tuberculosis.* **L, Moreno.** 2, 2004, Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México, Vol. 17, págs. 117-125.
5. *La tuberculosis después del descubrimiento de Koch.* **Ledermann, W.** 2003, Revista Chilena de Infectología, Vol. Edición de Aniversario, págs. 48-50.
6. **Organización Mundial de la Salud.** *Global Tuberculosis Control: WHO Report 2012.* Francia : Organización Mundial de la Salud, 2012.
7. —. *Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response.* Francia : WHO Press, 2010.
8. **Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud.** *Tuberculosis en las Américas. Reporte Regional 2009.* Washington : Organización Panamericana de la Salud, 2009.
9. **Secretaría de Salud.** *Perfil Epidemiológico de la Tuberculosis en México.* Dirección General de Epidemiología, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Secretaría de Salud. Distrito Federal : SINAVE/DGE/SALUD, 2012.
10. **Garza R, Cortés M, Hernández L.** Micobacterias. [aut. libro] Garza R. *Manual de Prácticas de Bacteriología.* Distrito Federal : Facultad de Química, UNAM, 2004, págs. 81-88.
11. *Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of Mycobacterium tuberculosis.* **Gutierrez MC, Brisse S, Brosch R, Fabre M, Omais B, Marmiesse M, Supply P, Vincent V.** 1, 2005, PLoS Pathogens, Vol. 1, pág. e5.
12. *Microbiology of tuberculosis.* **Doroso I, Torroba L.** 2007, Anales del Sistema Sanitario de Navarra, Vol. 30, págs. 67-84.
13. *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae subsp. nov.: a taxonomic study of a new member of the Mycobacterium tuberculosis complex isolated from goats in Spain.* **Aranaz A, Liébana E, Gómez-Mampaso E, Galán JC, Cousins D, Ortega A, Blázquez J, Baquero F, Mateos**

A, Suárez G, Domínguez L. Pt 3, 1999, International Journal of Systematic Bacteriology, Vol. 49, págs. 1263-1273.

14. *Demonstration of homology between IS6110 of Mycobacterium tuberculosis and DNAs of other Mycobacterium spp.?* **Kent L, McHugh TD, Billington O, Dale JW, Gillespie SH.** 9, 1995, Journal of Clinical Microbiology, Vol. 33, págs. 2290-2293.

15. *Differentiation between Mycobacterium bovis-Infected Cattle by Using Recombinant Mycobacterial Antigens.* **Buddle B, Parlane N, Keen D, Aldwell F, Pollock J, Lightbody K, Andersen P.** 1, 1999, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Vol. 6, págs. 1-5.

16. *Mycobacterium Africanum-Review of an Important Cause of Human Tuberculosis in West Africa.* **Jong B, Antonio M, Gagneux S.** 9, 2010, PLoS Neglected Tropical Diseases, Vol. 4, pág. e744.

17. *Mycobacterium microti llama-type infection presenting as pulmonary tuberculosis in a human immunodeficiency virus-positive patient.* **Horstkotte MA, Sobottka I, Schewe CK, Schäfer P, Laufs R, Rüscher-Gerdes S, Niemann S.** 1, 2001, Journal of Clinical Microbiology, Vol. 39, págs. 406-407.

18. *Two cases of pulmonary tuberculosis caused by Mycobacterium tuberculosis subsp canetti.* **Miltgen J, Morillon M, Koeck JL, Varnerot A, Briant JF, Nguyen G, Verrot D, Bonnet D, Vincent V.** 11, 2002, Emerging Infectious Diseases, Vol. 8, págs. 1350-1352.

19. *Tuberculosis in seals caused by a novel member of the Mycobacterium tuberculosis complex: Mycobacterium pinnipedii sp. nov.* **Cousins DV, Bastida R, Cataldi A, Quse V, Redrobe S, Dow S, Duignan P, Murray A, Dupont C, Ahmed N, Collins DM, Butler WR, Dawson D, Rodríguez D, Loureiro J, Romano MI, Alito A, Zumarraga M, Bernardelli A.** Pt 5, 2003, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Vol. 53, págs. 1305-1314.

20. *Mycobacterium tuberculosis: bringing down the wall.* **Clemens, DL.** 10, 1997, Trends in Microbiology, Vol. 5, págs. 383-385.

21. *Lipoarabinomannan and related glycoconjugates: structure, biogenesis and role in Mycobacterium tuberculosis physiology and host-pathogen interaction.* **Mishra AK, Driessen NN, Appelmelk BJ, Besra GS.** 6, 2011, FEMS Microbiology Reviews, Vol. 35, págs. 1126-1157.

22. **Pumarola A, Rodríguez A, García J.** *Microbiología y parasitología médica.* Segunda edición. Barcelona : Masson, S.A., 1995.

23. *Lipoarabinomannano (LAM) de Mycobacterium spp: Respuesta inmune inducida en terneros.* **Jolly A, Colavecchia S, Jar A, Fernández E, Bernardelli A, Mundo S.** 1, 2006, InVet, Vol. 8, págs. 103-109.

24. *Divergent effects of mycobacterial cell wall glycolipids on maturation and function of human monocyte-derived dendritic cells.* **Mazurek J, Ignatowicz L, Kallenius G, Svenson SB, Pawlowski A, Hamasur B.** 8, 2012, PLoS One, Vol. 7, pág. e42515.

25. *Regulation of antigen presentation by Mycobacterium tuberculosis: a role for Toll-like receptors.* **Harding CV, Boom WH.** 4, 2010, Nature Reviews. Microbiology, Vol. 8, págs. 296-307.
26. *Binding of the terminal mannosyl units of lipoarabinomannan from a virulent strain of Mycobacterium tuberculosis to human macrophages.* **Schlesinger LS, Hull SR, Kaufman TM.** 8, 1994, Journal of Immunology, Vol. 152, págs. 4070-4079.
27. *Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of Mycobacterium tuberculosis is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors.* **LS, Schlesinger.** 7, 1993, Journal of Immunology, Vol. 150, págs. 2920-2930.
28. **Abbas A, Pober J.** *Cellular and molecular immunology.* Quinta edición. Filadelfia : Elsevier, 2004. págs. 275-308.
29. *Componentes glicosilados de la envoltura de Mycobacterium tuberculosis que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis.* **Gorocica P, Jiménez M, Garfias Y, Sada I, Lascurain R.** 2, 2005, Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México, Vol. 18, págs. 142-153.
30. **P, Murray.** *Microbiología Medica.* Quinta edición. Madrid : Elsevier, 2006. págs. 297-311.
31. *Exposure of mycobacteria to cell wall-inhibitory drugs decreases production of arabinoglycerolipid related to Mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan metabolism.* **Rombouts Y, Brust B, Ojha AK, Maes E, Coddeville B, Ellass-Rochard E, Kremer L, Guerardel Y.** 14, 2012, The Journal of Biological Chemistry, Vol. 287, págs. 11060-11069.
32. **Sempere Alcocer MA, Valero Guillén PL, Martín-Luengo F.** *Composición química, biosíntesis, actividad biológica y estructuración de lípidos y polisacáridos de Mycobacterium.* [ed.] Secretariado de Publicaciones. Cuarta edición. Murcia : Universidad de Murcia, 1993. págs. 8-9.
33. **JA, Caminero.** *Guía de la tuberculosis para médicos especialistas.* París : Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER), 2003.
34. *Topology and mutational analysis of the single Emb arabinofuranosyltransferase of Corynebacterium glutamicum as a model of Emb proteins of Mycobacterium tuberculosis.* **Seidel M, Alderwick LJ, Sahm H, Besra GS, Eggeling L.** 2, 2007, Glycobiology, Vol. 17, págs. 210-219.
35. *Situación actual y perspectivas clínicas de la Tuberculosis. Problemas terapéuticos.* **Pérez Arellano JL, Sanz Peláez Ó, Hernández Cabrera M, Ángel-Moreno Maroto A.** 1, 2005, Enfermedades Emergentes, Vol. 7, págs. 6-11.
36. *Biosynthesis and Virulent Behavior of Lipids Produced by Mycobacterium tuberculosis: LAM and Cord Factor: An Overview.* **Rajni NR, Meena LS.** 2011, Biotechnology Research International, Vol. 2011, pág. 274693.

37. *Innate immune recognition of Mycobacterium tuberculosis*. **Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R**. 2011, *Clinical & Developmental Immunology*, Vol. 2011, pág. 405310.
38. **G, Rodríguez**. *Mycobacterias*. [aut. libro] Departamento de Bacteriología. Instituto de Higiene. Universidad de la República. *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. Segunda edición. Montevideo : Facultad de Medicina, 2006, págs. 381-385.
39. *Systematic cultures in Löwenstein-Jensen and Coletsos (base, ossein, monkey) media of 4,067 diverse pathological products for the purpose of revealing Mycobacterium tuberculosis*. **Seigneurin R, Duborgel S**. 12, 1965, *Revue de Tuberculose et de Pneumologie*, Vol. 29, págs. 1021-1036.
40. *Comparison of the mycobacteria growth indicator tube with solid culture for the detection of tuberculosis complex mycobacteria from blood*. **Gérôme P, Fabre M, Soler CP, De Pina JJ, Simon F**. 1, 2009, *Pathologie-biologie*, Vol. 57, págs. 44-50.
41. **Sequeira de Latini MD, Barrera L**. *Manual para el diagnóstico bacteriológico. Normas y Guías técnicas. Parte II. Cultivo*. s.l. : Organización Panamericana de la Salud/Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud, 2008.
42. *Bacteriology of tuberculosis: laboratory methods*. **Middlebrook G, Cohn ML**. 7, 1958, *American Journal of Public Health and the Nation's Health*, Vol. 48, págs. 844-853.
43. **Caballero I, Rodríguez M**. *Micobacterias. Medios de cultivos e identificación. Patología y tipos de tuberculosis: Pruebas de laboratorio*. España : CEP, 2004.
44. *Comparison of the recovery of Mycobacterium bovis isolates using the BACTEC MGIT 960 system, BACTEC 460 system, and Middlebrook 7H10 and 7H11 solid media*. **Hines N, Payeur JB, Hoffman LJ**. 3, 2006, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Vol. 18, págs. 243-250.
45. *Antimicrobial therapy of tuberculosis: justification for currently recommended treatment regimens*. **DA, Mitchison**. 3, 2004, *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 25, págs. 307-315.
46. *Tratamiento actual de la tuberculosis*. **García Ramos R, Lado Lado FL, Túnez Bastida V, Pérez del Molino Bernal ML, Carbacos Ortíz de Barrón A**. 2, 2003, *Anales de Medicina Interna*, Vol. 20, págs. 91-100.
47. **Comité Consultivo Nacional de Normalización de Prevención y Control de Enfermedades**. *Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-1993 para la Prevención y Control de la Tuberculosis en la Atención Primaria a la Salud*. Ciudad de México : Diario Oficial de la Federación, 2000.
48. **Secretaría de Salud**. *Guía para la Atención de Personas con Tuberculosis Resistente a Fármacos*. Ciudad de México : Secretaría de Salud, 2010.

49. **The WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis, Drug Resistance Surveillance.** *Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Fourth Global Report.* Ginebra : WHO Press, 2008.
50. *Strategies for reducing treatment default in drug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis.* **Toczek A, Cox H, Cros PD, Cooke G, Ford N.** 2012 (en línea, dic. 4), The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, pág. En prensa.
51. *Enzyme-catalyzed mechanism of isoniazid activation in class I and class III peroxidases.* **Pierattelli R, Banci L, Eady NA, Bodiguel J, Jones JN, Moody PC, Raven EL, Jamart-Grégoire B, Brown KA.** 37, 2004, The Journal of Biological Chemistry, Vol. 279, págs. 39000-39009.
52. *Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis.* **Wade MM, Zhang Y.** 2004, Frontiers in Bioscience, Vol. 9, págs. 975-994.
53. *La tuberculosis, una perspectiva histórico-epidemiológica.* **S, Ospina.** 4, 2001, Infectio, Vol. 5, págs. 241-250.
54. *Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis.* **Zhang Y, Yew WW.** 11, 2009, The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, Vol. 13, págs. 1320-1330.
55. *Mechanisms of action of isoniazid.* **Timmins GS, Deretic V.** 5, 2006, Molecular Microbiology, Vol. 62, págs. 1220-1227.
56. *Inactivation of the inhA-Encoded Fatty Acid Synthase II (FASII)Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase Induces Accumulation of the FASII End Products and Cell Lysis of Mycobacterium smegmatis.* **Vichèze C, Morbidoni H, Welabrod T, Iwamoto H.** 14, 2000, Journal of Bacteriology, Vol. 182, págs. 4059-4067.
57. *Effect of Isoniazid on the In Vivo Mycolic Acid Synthesis, Cell Growth, and Viability of Mycobacterium tuberculosis.* **Takayama K, Wang L, David HL.** 1, 1972, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 2, págs. 29-35.
58. *In Vitro Inhibition of the Mycobacterium tuberculosis β -Ketoacyl-Acyl Carrier Protein Reductase MabA by Isoniazid.* **Ducasse-Cabanot S, Cohen-Gonsaud M, Marrakchi H, Nguyen M, Zerbib D, Bernadou J, Daffé M, Labesse G, Quémard A.** 1, 2004, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 48, págs. 242-249.
59. *Isoniazid-resistance conferring mutations in Mycobacterium tuberculosis KatG: catalase, peroxidase, and INH-NADH adduct formation activities.* **Cade CE, Dlouhy AC, Medzihradzsky KF, Salas-Castillo SP, Ghiladi RA.** 3, 2010, Protein Science, Vol. 19, págs. 458-474.
60. **Zhang Y, Jacobs WRJ.** Mechanisms of drug action, drug resistance and drug tolerance in Mycobacterium tuberculosis: Expected phenotypes from evolutionary pressures from a highly successful pathogen. [ed.] Rubin E Kaufmann SH. *Handbook of tuberculosis.* Weinheim : Wiley-VCH Verlag, 2008, págs. 335-341.

61. *Mecanismos de acción y de resistencia a rifampicina e isoniacida en Mycobacterium tuberculosis: nueva información sobre viejos conocidos.* **de la Iglesia AI, Morbidoni HR.** 2006, Revista Argentina de Microbiología, Vol. 38, págs. 97-109.
62. *Molecular characterization of isoniazid-resistant clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from the USA.* **Guo H, Seet Q, Denkin S, Parsons L, Zhang Y.** Pt 11, 2006, Journal of Medical Microbiology, Vol. 55, págs. 1527-1531.
63. *Drug resistance in Mycobacterium tuberculosis.* **Johnson R, Streicher EM, Louw GE, Warren RM, van Helden PD, Victor TC.** 2, 2006, Current Issues in Molecular Biology, Vol. 8, págs. 97-111.
64. *Detection of mutations associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from China.* **Zhang M, Yue J, Yang YP, Zhang HM, Lei JQ, Jin RL, Zhang XL, Wang HH.** 11, 2005, Journal of Clinical Microbiology, Vol. 43, págs. 5477-5482.
65. *The arabinosyltransferase EmbC is inhibited by ethambutol in Mycobacterium tuberculosis.* **Goode R, Amin AG, Chatterjee D, Parish T.** 10, 2009, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 53, págs. 4138-4146.
66. *Kinetics of oral ethambutol in the normal subject.* **Lee CS, Gambertoglio JG, Brater DC, Benet LZ.** 5 Pt 1, 1977, Clinical Pharmacology and Therapeutics, Vol. 22, págs. 615-621.
67. *Recognition of multiple effects of ethambutol on metabolism of mycobacterial cell envelope.* **Deng L, Mikusová K, Robuck KG, Scherman M, Brennan PJ, McNeil MR.** 3, 1995, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 39, págs. 694-701.
68. *The carboxy terminus of EmbC from Mycobacterium smegmatis mediates chain length extension of the arabinan in lipoarabinomannan.* **Shi L, Berg S, Lee A, Spencer JS, Zhang J, Vissa V, McNeil MR, Khoo KH, Chatterjee D.** 28, 2006, The Journal of Biological Chemistry, Vol. 281, págs. 19512-19526.
69. *The Emb proteins of mycobacteria direct arabinosylation of lipoarabinomannan and arabinogalactan via an N-terminal recognition region and a C-terminal synthetic region.* **Zhang N, Torrelles JB, McNeil MR, Escuyer VE, Khoo KH, Brennan PJ, Chatterjee D.** 1, 2003, Molecular Microbiology, Vol. 50, págs. 69-76.
70. *EmbA is an essential arabinosyltransferase in Mycobacterium tuberculosis.* **Amin AG, Goode R, Shi L, Zhang J, Chatterjee D, Parish T.** Pt 1, 2008, Microbiology, Vol. 154, págs. 240-248.
71. *Identification of a novel arabinofuranosyltransferase (AftA) involved in cell wall arabinan biosynthesis in Mycobacterium tuberculosis.* **Alderwick LJ, Seidel M, Sahm H, Besra GS, Eggeling L.** 23, 2006, Journal of Biological Chemistry, Vol. 281, págs. 15653-15661.
72. *Tuberculosis causada por cepas de Mycobacterium tuberculosis drogorresistentes.* **Said Fernández S, Becerril Montes P, molina Salinas GM, Barrios García H, Vargas Villarreal J.** 1, 2005, Enfermedades Emergentes, Vol. 7, págs. 13-19.

73. *Bases moleculares de resistencia de M. tuberculosis*. **Quirós Roldán E, Airoidi M, Moretti F, Carosi G**. 2001, Revista de Diagnóstico Biológico, Vol. 50, págs. 200-203.
74. *Molecular characteristics of rifampin and isoniazid resistant Mycobacterium tuberculosis strains from Beijing, China*. **Jiao WW, Mokrousov I, Sun GZ, Li M, Liu JW, Narvskaya O, Shen AD**. 9, 2007, Chinese Medical Journal, Vol. 120, págs. 814-819.
75. *Fármacos con actividad frente a Mycobacterium tuberculosis*. **P, Coll**. 6, 2003, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Vol. 21, págs. 299-308.
76. *Tuberculosis resistente a fármacos*. **Lado Lado FL, García Ramos R, Pérez del Molino ML, Ferreira Regueiro MJ, Maceda Vilarino S, Túniz Bastida V**. 190-196, 2004, Anales de Medicina Interna, Vol. 4, pág. 21.
77. *Tuberculosis drogorresistente: mecanismos moleculares y métodos diagnósticos*. **Cuevas Córdoba B, Zenteno Cuevas R**. 9, 2010, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Vol. 28, págs. 621-628.
78. *Emergence of Mycobacterium tuberculosis with extensive resistance to second-line drugs worldwide*. **Centers for Disease Control and Prevention**. 2006, Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol. 55, págs. 301-305.
79. *Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR.TB): recommendations for prevention and control*. **Organización Mundial de la Salud**. 2006, The Weekly Epidemiological Record, Vol. 81, págs. 430-432.
80. **Organización Mundial de la Salud**. *Policy guidance on drug susceptibility testing (DST) of second-line anti-tuberculosis drugs*. Ginebra : WHO/HTM/TB, 2008.
81. *Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: the size of the problem and associated risk factors*. **Skrahina A, Hurevich H, Zalutskaya A, Sahalchik E, Astrauko A, Hoffner S, Rusovich V, Dadu A, de Colombani P, Dara M, van Gemert W, Zignol M**. 1, s.l. : Bull World Health Organ, 2013, Vol. 91. 36-45.
82. *Prevalence of Multidrug resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from HIV seropositive and seronegative patients with pulmonary tuberculosis in north India*. **Sethi S, Mewara A, Kumar A, Singh H, Yadav R, Singh K, Gupta D, Wanchu A, Sharma M**. 137, s.l. : BMC Infect Dis. , 2013, Vol. 13.
83. *Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review*. **Faustini A, Hall AJ, Perucci CA**. 2, 2006, Thorax, Vol. 61, págs. 158-163.
84. *Drug-resistant tuberculosis and HIV in Ukraine: a threatening convergence of two epidemics?* **Dubrovina I, Miskinis K, Lyepshina S, Yann Y, Hoffman H, Zaleskis R, Nunn P, Zignol M**. 7, s.l. : Int J Tuberc Lung Dis, 2008, Int J Tuberc Lung Dis, Vol. 12, págs. 756-62.
85. *Tuberculosis in Europe: a problem of drug resistance or much more*. **Carvalho A, Migliori G, Cirillo D**. 2, s.l. : Expert Rev Respir Med, 2010, Vol. 4. 189-200.

86. *HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis: the perfect storm.* . **Wells C, Cegielski J, Nelson L, Laserson K, Holtz T, Finlay A, Castro K, Weyer K.** 1, s.l. : J Infect Dis, 2007, Vol. 196. 86-107.
87. *Is HIV infection a risk factor for multi-drug resistant tuberculosis? A systematic review.* **Suchindran S, Brouwer E, Van R.** 5, s.l. : PLoS One, 2009, Vol. 4.
88. *Explaining risk factors for drug-resistant tuberculosis in England and Wales: contribution of primary and secondary drug resistance.* . **Conaty S, Hayward A, Story A, Glynn J, Drobniewski F, Watson J.** 6, s.l. : Epidemiol Infect, 2004, Vol. 132. 1099-108.
89. *Tuberculosis in Kazakhstan: analysis of risk determinants in national surveillance data.* **Terlikbayeva A, Hermosilla S, Galea S, Schluger N, Yegeubayeva S, Abildayev T, Muminov T, Akiyanova F, Bartkowiak L, Zhumadilov Z, Sharman A, El-Bassel N.** 1, 2012, BMC Infectious Diseases, Vol. 12, pág. 262.
90. *Factor associated with anti-tuberculosis medication adverse effects: a case-control study in Lima, Peru.* **Chung K, Revilla A, Gillen S, Velez E, Soria A, Núñez A, Silva W, Bernabe A.** 11, s.l. : PLoS One, 2011, Vol. 6.
91. *Incidence and Risk Factors for Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in Delhi Region.* **Porwal C, Kaushik A, Makkar N, Banavaliker J, Hanif M, Singla R, Bhatnagar A, Behera D, Nath J, Singh U.** 2, s.l. : PLoS One, 2013, Vol. 8.
92. *Effect of type 2 diabetes mellitus on the clinical severity and treatment outcome in patients with pulmonary tuberculosis: a potential role in the emergence of multidrug-resistance.* **Chang JT, Dou HY, Yen CL, Wu YH, Huang RM, Lin HJ, Su IJ, Shieh CC.** 6, 2011, Journal of the Formosan Medical Association, Vol. 110, págs. 372-381.
93. *Type 2 diabetes and multi-drug resistant tuberculosis.* **Fisher S, Whitney E, Mc.Cormick J, Crespo G, Smith B, Rahbar M.** 11-12, s.l. : Scand J. Infect Dis, 2008, Vol. 40. 888-893.
94. *Social Behaviour Risk Factors for Drug Resistant Tuberculosis in Mainland China: A Meta-Analysis.* **Zhao P, Li X, Zhang S, Wang X, Liu C.** 436, s.l. : Journal of International Medical Research , 2012, Vol. 40.
95. *Alcohol use and the management of multidrug-resistant tuberculosis in Tomsk, Russian Federation.* **Miller A, Gelmanova I, Keshavjee S, Atwood S, Yanova G, Furin J, Shin S.** 7, s.l. : The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2012, Vol. 16. 891-896.
96. *Alcohol use and abuse among patients with multidrug-resistant tuberculosis in Botswana.* **Zetola N, Modongo C, Kip E, Gross R, Bisson G, Collman R.** 11, s.l. : Int J Tuberc Lung Dis , 2012, Vol. 16. 1529-34.
97. *Predictor of poor outcomes among patients treated for multidrug-resistant tuberculosis at DOTS-plus projects.* **Kurbatova E, Taylor A, Gammino V, Bayona J, Becerra M, Danilovitz M, Falzon D, Gelmanova I, Keshavjee S, Leimane V, Mitnick C, Quelapio M, Riekstina V, Viklepp P, Zignol M, Cegielski J.** 5, s.l. : Tuberculis Edinb, 2012, Vol. 92. 397-403.

98. *Evaluación de métodos fenotípicos y genotípicos para la detección de farmacorresistencia de Mycobacterium tuberculosis.* **Porras TB, León CI, Guerrero MI, Martín A, Portaels F, Palomino JC.** 1, 2005, *Biomédica*, Vol. 25, págs. 22-33.
99. *Determinación de la susceptibilidad a drogas de primera línea en aislamientos de Mycobacterium tuberculosis por la técnica del tubo indicador de crecimiento bacteriano.* **Sierra Parada CR, Sánchez Morales EA, Henao Riveros SC, Saavedra Rodríguez A.** 1, 2008, *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*, Vol. 56, págs. 11-20.
100. *Comparative evaluation of BACTEC MGIT 960 with BACTEC 9000 MB and LJ for isolation of mycobacteria in The Gambia.* **Otu J, Antonio M, Cheung YB, Donkor S, De Jong BC, Corrah T, Adegbola RA.** 3, 2008, *Journal of Infection in Developing Countries*, Vol. 2, págs. 200-205.
101. *Evaluation of Bactec MGIT 960 fluorescent method in diagnosis of tuberculosis.* **Augustynowicz-Kopeć E, Jaworski A, Zwolska Z.** 9-10, 2002, *Pneumonologia i Alergologia Polska*, Vol. 70, págs. 450-457.
102. *Rapid culture-based methods for drug-resistance detection in Mycobacterium tuberculosis.* **Palomino JC, Martin A, Von Groll A, Portaels F.** 2, 2008, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 75, págs. 161-166.
103. *Pruebas de sensibilidad para Mycobacterium tuberculosis.* **Ugarte Gil C, Ponce Álvarez M, Moore DAJ.** 3, 2008, *Acta Médica Peruana*, Vol. 25, págs. 171-175.
104. *Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity.* **O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F.** 17, 2000, *European Journal of Biochemistry*, Vol. 267, págs. 5421-5426.
105. *Comparison of resazurin and MTT methods on studies of cytotoxicity in human tumor cell.* **Escobar L, Rivera A, Aristizábal F.** 1, 2010, *Vitae*, Vol. 17, págs. 67-74.
106. *Rapid screening of Mycobacterium tuberculosis for susceptibility to rifampicin and streptomycin.* **McNerney R, Kiepiela P, Bishop KS, Nye PM, Stoker NG.** 1, 2000, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 4, págs. 69-75.
107. *Performance of the microscopic observation drug susceptibility assay in drug susceptibility testing for Mycobacterium tuberculosis.* **Park WG, Bishai WR, Chaisson RE, Dorman SE.** 12, 2002, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 40, págs. 4750-4752.
108. *Colorimetric redox-indicator methods for the rapid detection of multidrug resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review and meta-analysis.* **Martin A, Portaels F, Palomino JC.** 2, 2007, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 59, págs. 175-183.
109. **Organización Mundial de la Salud.** *Noncommercial culture and drug-susceptibility testing methods for screening patients at risk for multidrug-resistant tuberculosis.* Ginebra : World Health Organization, 2011.

110. *Applications of real-time PCR technology to mycobacterial research.* **Parashar D, Chauhan DS, Sharma VD, Katoch VM.** 4, 2006, The Indian Journal of Medical Research, Vol. 124, págs. 385-398.
111. *Drug-sensitivity profile of clinical Mycobacterium tuberculosis isolates--a retrospective study from a chest-disease institute in India.* **Dam T, Isa M, Bose M.** Pt 3, 2005, Journal of Medical Microbiology, Vol. 54, págs. 269-271.
112. **ISSEA.** Secretaría de Salud. [En línea] 2011.
113. *A population-based study of first and second-line drug-resistant tuberculosis in a high-burden area of Mexico/ United States border .* **Becerril P, Fernández S, Luna J, Caballero G, Enciso J, Martínez H, Padilla G, Garza E, Molina G.** 2, s.l. : Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 2013, Vol. 108.
114. *Secular trends of tuberculosis in western Europe.* **Raviglione MC, Sudre P, Rieder HL, Spinaci S, Kochi A.** 3-4, 1993, Bulletin of the World Health Organization, Vol. 71, págs. 297-306.
115. *Epidemiology of tuberculosis in the United States.* **Rieder HL, Cauthen GM, Comstock GW, Snider DE Jr.** 1989, Epidemiologic Reviews, Vol. 11, págs. 79-98.
116. *The epidemiology of tuberculosis among foreign-born persons in the United States, 1986 to 1993.* **McKenna MT, McCray E, Onorato I.** 16, 1995, The New England Journal of Medicine, Vol. 332, págs. 1071-1076.
117. **Salud, Organización Mundial de la.** *Anti-tuberculosis drug resistance in the world, WHO Report No 3.* Ginebra : Organización Mundial de la Salud, 2004.
118. *Multidrug-resistant tuberculosis: epidemiology, risk factors and case finding.* **JA, Caminero.** 4, 2010, The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, Vol. 14, págs. 382-390.
119. *High rates of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Sinaloa State, México. .* **Zazueta J, Muro S, Flores A, Llausas E, León N, Canizalez A.** 4, s.l. : J Infect , 2007, Vol. 54. 411-2.
120. *Primary and acquired resistance of Mycobacterium tuberculosis in Western Mexico.* **Amaya G, Martín L, Aguirre G, Portillo L, Covarrubias A, Aguilar S.** 2, s.l. : Microb Drug Resist, 2000, Vol. 6. 143-5.
121. *Increasing Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in Sinaloa, México, 1997-2005.* **Zazueta J, León N, Muro S, Flores A, Velázquez J, Flores H, Canizalez A.** 4, s.l. : Int J Infect Dis, 2011, Vol. 15.
122. *Determinantes sociales relacionadas con el tratamiento de Tuberculosis en Yucatán, México.* **Ramon M, Caamal a, Vargas A.** 113-120, s.l. : Rev. Biomed, 2012, Vol. 23.
123. *Prevalence and risk factors for multidrug-resistant tuberculosis in the Republic of Georgia: a population-based study.* **Lomtadze N, Aspindzelashvili R, Janjgava M, Mirtskhulava V,**

- Wright A, Blumberg HM, Salakaia A.** 1, 2009, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 13, págs. 68-73.
124. *Risk factors and mortality associated with default from multidrug-resistant tuberculosis treatment.* **Franke MF, Appleton SC, Bayona J, Arteaga F, Palacios E, Llaro K, Shin SS, Becerra MC, Murray MB, Mitnick CD.** 12, 2008, *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 46, págs. 1844-1851.
125. *Clinical outcomes of Estonian patients with primary multidrug-resistant versus drug-susceptible tuberculosis.* **Lockman S, Kruuner A, Binkin N, Levina K, Wang Y, Danilovitch M, Hoffner S, Tappero J.** 3, 2001, *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 32, págs. 373-380.
126. *Risk of tuberculosis in public transport sector workers, Lima, Peru.* **Horna-Campos OJ, Bedoya-Lama A, Romero-Sandoval NC, Martín-Mateo M.** 6, 2010, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 14, págs. 714-719.
127. *Comparison of tuberculosis infection control programs in Canadian hospitals categorized by size and risk of exposure to tuberculosis patients, 1989 to 1993 - Part 2.* **Holton D, Paton S, Gibson H, Taylor G, Whyman C, Yang T.** 4, 1997, *The Canadian Journal of Infectious Diseases*, Vol. 8, págs. 195-201.
128. *Transmission of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis among persons exposed in a medical examiner's office, New York.* **Ussery XT, Bierman JA, Valway SE, Seitz TA, DiFerdinando GT Jr, Ostroff SM.** 3, 1995, *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Vol. 16, págs. 160-165.
129. *Tuberculosis among household contacts of multidrug-resistant tuberculosis patients in Delhi, India.* **Singla N, Singla R, Jain G, Habib L, Behera D.** 10, 2011, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 15, págs. 1326-1330.
130. *Risk factors for acquired multidrug-resistant tuberculosis.* **Barroso EC, Salani Mota RM, Oliveira Santos R, Oliveira Sousa AL, Brasileiro Barroso J, Nobre Rodrigues JL.** 2, 2003, *Jornal de Pneumologia*, Vol. 29, págs. 89-97.
131. *Multidrug-resistant tuberculosis in prison inmates, Azerbaijan.* **Pfyffer GE, Strässle A, van Gorkum T, Portaels F, Rigouts L, Mathieu C, Mirzoyev F, Traore H, van Embden JD.** 5, 2001, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 7, págs. 855-861.
132. *The molecular epidemiology of tuberculosis in New York City: the importance of nosocomial transmission and laboratory error.* **Frieden TR, Woodley CL, Crawford JT, Lew D, Dooley SM.** 5, 1996, *Tubercle and Lung Disease*, Vol. 77, págs. 407-413.
133. *Outcome of multi-drug-resistant tuberculosis in France: a nationwide case-control study.* **Flament-Saillour M, Robert J, Jarlier V, Grosset J.** 2, 1999, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 160, págs. 587-593.
134. **Anónimo.** Recibe el hospital Ignacio Zaragoza del ISSSTE 250 pacientes por día. *La Crónica de hoy.* 9 de Mayo de 2004.

135. **Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social.** *Informe de Pobreza en México 2010: el país, los estados y sus municipios.* Ciudad de México : CONEVAL, 2012.
136. *Drug-resistant tuberculosis in Shanghai, China, 2000-2006: prevalence, trends and risk factors.* **Shen X, DeRiemer K, Yuan ZA, Shen M, Xia Z, Gui X, Wang L, Gao Q, Mei J.** 2, 2009, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 13, págs. 253-259.
137. *Multidrug resistant tuberculosis in France 1992-4: two case-control studies.* **Schwoebel V, Decludt B, de Benoist AC, Haeghebaert S, Torrea G, Vincent V, Grosset J.** 7159, 1998, *BMJ*, Vol. 317, págs. 630-631.
138. *Surveillance of Mycobacterium tuberculosis drug resistance in France, 1995-1997.* **AZAY Mycobacteria Study Group. Robert J, Trystram D, Truffot-Pernot C, Carbonnelle B, Grosset J.** 7, 2000, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 4, págs. 665-672.
139. *Drug resistance patterns among tuberculosis patients in Rome, 1990-1992.* **Girardi E, Antonucci G, Tronci M, Bordi E, Ippolito G.** 5, 1996, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, Vol. 28, págs. 487-491.
140. *Rates of drug resistance and risk factor analysis in civilian and prison patients with tuberculosis in Samara Region, Russia.* **Ruddy M, Balabanova Y, Graham C, Fedorin I, Malomanova N, Elisarova E, Kuznetznov S, Gusarova G, Zakharova S, Melentyev A, Krukova E, Golishevskaya V, Erokhin V, Dorozhkova I, Drobniewski F.** 2, 2005, *Thorax*, Vol. 60, págs. 130-135.
141. *Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in Orizaba, Veracruz. Implications for the tuberculosis prevention and control program.* **García M, Sifuentes O, Jimenez M, Ponce A, Jimenez A, Bobadilla M, Palacios M, Canales G, Sangines J, Martínez A, Balandrano S, Valdespino J, Small P.** 4, s.l. : *Rev Invest Clin*, 2001, Vol. 53. 315-323.
142. **Center., Southeastern National Tuberculosis.** *Tuberculosis Farmacorresistente: Una guía Práctica para la Atención Médica del Paciente.* s.l. : Edi Berton Design , 2009.
143. *Impact of Diabetes on the presenting features of tuberculosis in hospitalized patients.* **Carreira S, Costeira J, Gomes C, André JM, Diogo N.** 5, 2012, *Revista Portuguesa de Pneumologia*, Vol. 18, págs. 239-243.
144. *Diabetes is associated with drug-resistant tuberculosis in Eastern Taiwan.* **Hsu AH, Lee JJ, Chiang CY, Li YH, Chen LK, Lin CB.** 2012, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, En prensa.
145. *Impact of malnutrition on clinical presentation, clinical course, and mortality in MDR-TB patients.* **Podewils LJ, Holtz T, Riekstina V, Skripconoka V, Zarovska E, Kirvelaite G, Kreigere E, Leimane V.** 1, 2011, *Epidemiology and Infection*, Vol. 139, págs. 113-120.
146. **Organización Mundial de la Salud.** *Anti-tuberculosis drug resistance in the world, WHO Report No 3.* Ginebra : Organización Mundial de la Salud, 2004.

147. *Anti-tuberculosis drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in the area of the Hospital de Sagunto from 1999 to 2004.* **Aragó Galindo M, Belda Mira A, Albert Contell A, Serra Sanchís B, Amorós Quiles I, Prat Fornells J, Escoms Trullenque R, González C.** 8, 2006, *Revista Clínica Española*, Vol. 206, págs. 376-381.
148. *Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis strains isolated from patients with pulmonary tuberculosis in Archangels, Russia.* **Toungoussova S, Caugant DA, Sandven P, Mariandyshev AO, Bjune G.** 5, 2002, *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 6, págs. 406-414.
149. *Nationwide surveillance of drug-resistant tuberculosis in The Netherlands: rates, risk factors and treatment outcome.* **Lambregts-van Weezenbeek CS, Jansen HM, Nagelkerke NJ, van Klingerén B, Veen J.** 4, 1998, *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, Vol. 2, págs. 288-295.
150. *Trends of anti-tuberculosis drug resistance pattern in new cases and previously treated cases of extrapulmonary tuberculosis cases in referral hospitals in northern India.* **Maurya AK, Kant S, Nag VL, Kushwaha RA, Dhole TN.** 3, 2012, *Journal of Postgraduate Medicine*, Vol. 58, págs. 185-189.
151. *Scaling up interventions to achieve global tuberculosis control: progress and new developments.* **Raviglione M, Marais B, Floyd K, Lönnroth K, Getahun H, Migliori GB, Harries AD, Nunn P, Lienhardt C, Graham S, Chakaya J, Weyer K, Cole S, Kaufmann SH, Zumla A.** 9829, 2012, *Lancet*, Vol. 379, págs. 1902-1913.
152. *Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in the Sverdlovsk Region.* **Nechaeva OB, Skachkova EI, Fomina NI.** 9, 2002, *Problemy Tuberkuleza*, págs. 8-11.
153. *Tuberculosis drug resistance in England and Wales. How much is 'home-grown'?* **Hayward AC, Herbert J, Watson JM.** 2, 2000, *Epidemiology and Infection*, Vol. 125, págs. 463-464.
154. *Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis.* **Gler MT, Skripconoka V, Sanchez-Garavito E, Xiao H, Cabrera-Rivero JL, Vargas-Vasquez DE, Gao M, Awad M, Park SK, Shim TS, Suh GY, Danilovits M, Ogata H, Kurve A, Chang J, Suzuki K, Tupasi T, Koh WJ, Seaworth B, Geiter LJ, Wells CD.** 23, 2012, *The New England Journal of Medicine*, Vol. 366, págs. 2151-2160.
155. *Confronting multidrug-resistant tuberculosis.* **Chaisson RE, Nuermberger EL.** 23, 2012, *The New England Journal of Medicine*, Vol. 366, págs. 2223-2224.
156. *Multidrug resistance after inappropriate tuberculosis treatment: a meta-analysis.* **van der Werf MJ, Langendam MW, Huitric E, Manissero D.** 6, 2012, *The European Respiratory Journal*, Vol. 39, págs. 1511-1519.
157. *Protecting the tuberculosis drug pipeline: stating the case for the rational use of fluoroquinolones.* **Migliori GB, Langendam MW, D'Ambrosio L, Centis R, Blasi F, Huitric E,**

- Manissero D, van der Werf MJ.** 4, 2012, *The European Respiratory Journal*, Vol. 40, págs. 814-822.
158. *Multidrug-Resistant Tuberculosis.* **D'Ambrosio L, Centis R, Migliori GB.** 22, 2012, *The New England Journal of Medicine*, Vol. 367, pág. 2154.
159. *Doomsday postponed? Preventing and reversing epidemics of drug-resistant tuberculosis.* **C, Dye.** 1, 2009, *Nature Reviews. Microbiology*, Vol. 7, págs. 81-87.
160. *Challenges in estimating the total burden of drug-resistant tuberculosis.* **Cohen T, Colijn C, Wright A, Zignol M, Pym A, Murray M.** 12, 2008, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 177, págs. 1302-1306.
161. **O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F.**
162. *Tuberculosis multirresistente.* **Alcaide F, Santin M.** S13, 2008, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, Vol. 26, págs. 54-60.
163. *Towards universal access to HIV prevention, treatment, care, and support: the role of tuberculosis/HIV collaboration.* **Reid A, Scano F, Getahun H, Williams B, Dye C, Nunn P, De Cock KM, Hankins C, Miller B, Castro KG, Raviglione MC.** 8, 2006, *The Lancet Infectious Diseases*, Vol. 6, págs. 483-495.
164. *Stopping tuberculosis in the 21st century: goals and strategies.* **Onozaki I, Raviglione M.** 1, 2010, *Respirology*, Vol. 15, págs. 32-43.
165. **Organización Mundial de la Salud.** The Stop TB Strategy. [En línea] 2012. [Citado el: 14 de Diciembre de 2012.] http://www.who.int/tb/strategy/stop_tb_strategy/en/index.html.
166. *Global epidemiology of tuberculosis: prospects for control.* **Lönnroth K, Raviglione M.** 5, 2008, *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, Vol. 29, págs. 481-491.
167. *Drivers of tuberculosis epidemics: the role of risk factors and social determinants.* **Lönnroth K, Jaramillo E, Williams BG, Dye C, Raviglione M.** 12, 2009, *Social Science & Medicine*, Vol. 68, págs. 2240-2246.
168. *New frontiers in the therapy of tuberculosis: fighting with the global menace.* **Chhabria M, Jani M, Patel S.** 4, 2009, *Mini Reviews in Medical Chemistry*, Vol. 9, págs. 401-430.