

I. RESUMEN

La tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas humanas con mayores tasas de mortalidad e incidencia en Guatemala y otros países centroamericanos. En los últimos años ha aumentado el número de casos en poblaciones inmunocomprometidas, como en el caso de pacientes con VIH/SIDA (8).

Durante muchos años, el diagnóstico de la tuberculosis ha representado un desafío para el personal de laboratorio, ya que las técnicas convencionales de diagnóstico no son lo suficientemente rápidas ni sensibles para el adecuado manejo y control de la enfermedad. Por tal motivo, es necesario que se evalúen nuevas metodologías que permitan dar un diagnóstico con mayor sensibilidad y rapidez que las técnicas convencionales (4).

En el presente estudio se evaluaron 52 cepas de *M. tuberculosis* provenientes de pacientes de Guatemala y Honduras. Para realizar la susceptibilidad antibiótica se utilizó el método de nitrato reductasa (NRA, por sus siglas en inglés). Y el método de tubos indicadores de crecimiento micobacteriano (MGIT, por sus siglas en inglés). El método directo de la proporciones (MP) fue utilizado como método de referencia para la determinación de sensibilidad antibiótica de *M. tuberculosis*.

La repetibilidad de los métodos fue evaluada a través del cálculo de concordancias (índice Kappa). El grado de concordancia entre las técnicas evaluadas con el método referente fue interpretado como inadecuado y estudios posteriores deben ser realizados para la optimización de los mismos.

Sin embargo, las técnicas evaluadas (NRA Y MGIT) podrían ser consideradas como herramientas diagnósticas rápidas. Siendo necesario que en estudios posteriores sea analizada la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de dichas técnicas para su optimización.

II. INTRODUCCION

La tuberculosis es la infección causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis*. La Organización Mundial para la Salud (OMS), estima que cerca de la tercera parte de la población mundial está infectada con tuberculosis, que se presentan alrededor de 8 millones de casos nuevos al año y que al mismo tiempo 2 millones de personas mueren por tuberculosis alrededor del mundo (1,2).

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que generalmente se transmite de persona a persona por vía aérea. Los microorganismos se encuentran suspendidos en núcleos goticulares expulsados por personas con tuberculosis durante los esfuerzos espiratorios, como la tos, el canto y el estornudo. El comienzo de la tuberculosis es insidioso y la infección progresa durante algún tiempo antes de que el enfermo se sienta suficientemente mal como para solicitar atención médica. La tuberculosis primaria es habitualmente leve y asintomática y, en el 90% de los casos, no sigue evolucionando. Sin embargo, el 10% restante, se desarrolla la enfermedad clínica (3-5).

En el año de 1944 se demostró que la infección por *M. tuberculosis* podría ser tratada efectivamente con quimioterapia antimicrobiana. Las drogas de primera línea son bactericidas y de elección para el tratamiento de casos nuevos de tuberculosis; estas son rifampicina, isoniazida estreptomina, etambutol y pirazinamida. Las drogas de segunda línea son ofloxacina, cicloserina, tiacetazona, kanamicina/amikacina los cuales suprimen la multiplicación de la micobacteria inhibiendo al síntesis de ácido ribonucleico el y ácido amino salicílico (PAS) el cual es bacteriostático. Estos tienen una mejor actividad antituberculosa pero más efectos secundarios (6,7).

M. tuberculosis desarrolla resistencia fortuita al tratamiento antibiótico por mutación espontánea. Los tratamientos inadecuados son la principal causa de tuberculosis multidrogoresistente (MDR-TB). Este es un problema generalizado que disminuye las posibilidades de curación; se ha observado que el aumento de casos de MDR TB presenta un avance paralelo a la epidemia del VIH/SIDA (6-10).

Esta resistencia antibiótica de *M. tuberculosis* es un problema importante que puede ser prevenido con una apropiada selección del tratamiento (4).

Existen diversos métodos desarrollados para evaluar la sensibilidad antibiótica de *M. tuberculosis*, entre ellos pueden mencionarse los siguientes:

- Método de las proporciones: este método en cuanto a costo es menor que los métodos semiautomatizados, es accesible y aplicable en la mayoría de los laboratorios del país, sin embargo es un método lento y oneroso (8).
- Métodos semiautomatizados: en los que detecta el crecimiento de las micobacterias en un medio de cultivo líquido que contiene el antibiótico a investigar. El CO₂ radiactivo que se desprende como producto del metabolismo indica crecimiento micobacteriano. Estos métodos presentan la desventaja de ser caros pero se observa la ventaja de obtener resultados más rápidamente (11,12).
- Método de Nitrato Reductasa (NRA): se basa en la capacidad de *M. tuberculosis* de producir nitroreductasa y catalizar la reducción de nitratos a nitritos. Entre las ventajas de este método se pueden mencionar que es relativamente rápido (permitiendo obtener resultados en alrededor de 15 días), fácil de desarrollar, no requiere de equipo, reactivos y sustratos especiales (9).
- Método MGIT: este método utiliza tubos con medio Middlebrook modificado con un indicador fluorescente unido a oxígeno embebido en una resina de silicona en el fondo del tubo. Cuando las bacterias crecen consumen oxígeno, el indicador se libera y emite fluorescencia al iluminarlo con luz ultravioleta (11).

En el presente estudio se evaluó el NRA y MGIT como métodos alternativos (al método de las proporciones) para evaluar la sensibilidad antibiótica de *M. tuberculosis* a las drogas de primera línea utilizadas en Guatemala para el tratamiento de la tuberculosis. Se ensayaron un total de 52 cepas provenientes de pacientes de Guatemala y Honduras. La repetibilidad de los resultados obtenidos se analizaron por medio de un diseño no probabilístico por conveniencia para determinar la concordancia a través del índice Kappa.

III. ANTECEDENTES

A. Características de *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis es un bacilo aerobio estricto, alcohol ácido resistente, no encapsulado, inmóvil, no esporulador que mide 0.2 a 0.6 x 1 a 10 µm. Su crecimiento es lento, requiere de 3-8 semanas para su aislamiento. Su temperatura óptima de crecimiento es a 37°C y es resistente al frío, congelación o desecación. Las colonias típicas de *M. tuberculosis* son de apariencia seca y rugosa con bordes irregulares color crema amarillento (1,13-15).

La pared celular es rica en ácidos micólicos, por lo que su superficie es hidrófoba característica que lo diferencia de otro tipo de bacterias; por esta razón las micobacterias son resistentes a muchos desinfectantes y tinciones de laboratorio. Cuando las micobacterias son teñidas con fuchsin carbólica no se decoloran con alcohol acidificado y por esta característica muy particular se les ha denominado “bacilos alcohol ácido resistentes” abreviado BAAR (1,14,15).

B. Epidemiología

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa causada principalmente por *M. tuberculosis* o también llamado bacilo de Koch (Roberto Koch, médico que lo identificó por primera vez en el año de 1882) y en menor grado por *M. bovis* y *M. africanum* (3,8,7).

Otro tipo de micobacterias pueden provocar infecciones patológicas y clínicamente parecidas a tuberculosis en el hombre, entre ellas *M. bovis*, *M. africanum*, el complejo denominado *M. avium* y otras especies como *M. kansasii*. Dado que estos bacilos son menos virulentos que *M. tuberculosis*, para que se desarrolle enfermedad suele ser necesaria la presencia en el huésped de una alteración de sus defensas locales o sistémicas (3).

La Organización Mundial para la Salud (OMS) estima que cerca de la tercera parte de la población mundial esta infectada con tuberculosis, que se presentan alrededor de 8 millones de casos nuevos al año y que al mismo tiempo 2 millones de personas mueren anualmente por tuberculosis alrededor del mundo (2).

Así mismo la OMS estimó que en 1999, en América existían más de 17 millones de personas infectadas, se reportaron 560,000 casos nuevos y 220,000 muertes (8). El índice de casos varía según país, edad, etnia, género y el estado socio económico. En EE.UU. se comunicaron 25,750 casos en 1990 con una incidencia de 10.4/100,000 habitantes (3). En España datos recientes indican que la tasa de incidencia se sitúa en 35 casos nuevos de enfermedad tuberculosa al año (16). La prevalencia de la tuberculosis es doble en la raza negra que en la blanca, independiente de la edad (3).

En Guatemala la incidencia de TB alcanzó una tasa de 22.57/100,000 habitantes, en el año 2000, que corresponden a un total de 1643 casos nuevos; aunque lo estimado por la OMS fue de 108/100,000 habitantes (7,8). En un reporte publicado en 1996, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), incluyó a Guatemala entre nueve naciones de Latinoamérica que afrontan severas tasas de incidencia de TB superior a 85/100,000 habitantes (8).

Aunque la tuberculosis ocupa un lugar bajo entre las enfermedades transmisibles en cuanto a infecciosidad por unidad de tiempo, la exposición prolongada de algunos contactos, en especial miembros de la familia en el hogar pueden hacer que el riesgo de contraer la infección llegue al 30%. Respecto a los niños el riesgo de presentar la enfermedad en algún momento de su vida puede llegar al 10% (4). La OMS define a los casos de tuberculosis dependiendo de la localización de la enfermedad, los resultados del examen bacteriológico y el estatus de tratamiento (9) (Anexo 1).

La OMS, para finales del 2000, reportó que cerca de 11.5 millones de personas infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) alrededor del mundo, presentan coinfección con *M. tuberculosis*. El 70% de personas coinfectadas están en África subsahariana, 20% en el sureste de Asia y 4% en América Latina y el Caribe (17) (Anexo 2).

La emergencia del VIH ha acelerado la propagación de la tuberculosis ya que las personas con infección latente por *M. tuberculosis* infectadas también con el VIH terminan por presentar tuberculosis clínica con mayor frecuencia. En personas viviendo con VIH/SIDA *M. tuberculosis* es el principal causante de tuberculosis pero se ha observado un incremento en la infección por micobacterias atípicas en este grupo de población (4).

En las grandes ciudades el grupo más afectado son los varones de 25 a 44 años. En Nueva York durante 1990-1991 se reportó un aumento de hasta un 30% en la incidencia de TB en personas infectadas con VIH, mientras que en algunas poblaciones urbanas de África subsahariana de 10 a 15% de la población de adultos tiene ambas infecciones, las cifras anuales de tuberculosis aumentaron de 5 a 10 veces en la segunda mitad del decenio de 1990 (3,4).

C. Transmisión

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que generalmente se transmite persona a persona por vía aérea en donde los microorganismos se encuentran suspendidos en núcleos goticulares expulsadas por personas con tuberculosis durante los esfuerzos respiratorios, como tos, canto o estornudo. Los microorganismos pueden flotar en el aire ambiental durante varias horas, lo cual aumenta la probabilidad de infectar a un contacto de manera inadvertida (3-5,7) (Anexo 3).

En teoría el período de transmisibilidad es todo el tiempo durante el que se expulsan en el esputo bacilos viables. Algunos enfermos no tratados o tratados de manera inadecuada pueden expulsar intermitentemente bacilos en el esputo durante años (4).

El riesgo de transmisión de los contactos se relaciona con factores del enfermo, del entorno ambiental y del contacto. Por parte del enfermo, el contagio está asociado al número, viabilidad y virulencia de los patógenos, así como a la presencia de uno u otro mecanismo generador de partículas infectivas. Respecto al entorno ambiental, influyen en la transmisión: el volumen de aire contaminado, ventilación, humedad y la exposición a la luz solar o a los rayos ultravioleta. En cuanto a la susceptibilidad del contacto, ésta depende del grado de intimidad (proximidad física y tiempo de exposición) con el enfermo y de factores asociados a la resistencia a la infección (4,5,16,18).

En un estudio de contactos de enfermos tuberculosos realizado en España durante 1991-1997 se reportaron 31 casos nuevos de tuberculosis, se observó una conversión tuberculínica en el 7.8% y una prevalencia de infección tuberculosa entre los contactos del 44%. Esto se observó al estudiar contactos de pacientes con baciloscopia positiva, contactos de pacientes con baciloscopia negativa y cultivo positivo; contactos de pacientes con baciloscopia y cultivo negativos, pero con diagnóstico de tuberculosis por estudios histológicos o por características clínico-radiológicas (5).

En la infección primaria por *M. tuberculosis*, o infección latente, los bacilos tuberculosos se encuentran dentro del cuerpo en un estado inactivo ya que éstos son ingeridos por los macrófagos alveolares en los que pueden sobrevivir y multiplicarse. En este caso la persona está infectada pero no enferma de tuberculosis (18,19).

Muchas personas que tiene TB latente nunca desarrollarán la enfermedad, pero en otras, debido a factores predisponentes tales como bajo peso, edad, diabetes mellitus, abuso de drogas, infecciones (p. ej., SIDA) y personas con tratamiento con corticosteroides o quimioterapia; la micobacteria puede activarse y causar la enfermedad (3,4,18,19).

Se estima que estar infectado con el VIH incrementa 113 veces el factor de riesgo para desarrollar una tuberculosis activa y el SIDA, 170 veces (8).

La tuberculosis pulmonar constituye un 75% de todas las formas de tuberculosis. Así mismo, el bacilo tuberculoso puede comenzar a extenderse vía hematológica y causar TB extrapulmonar que incluye: TB pleural, linfática, urogenital, osteoarticular, meníngea y miliar (tuberculosis hematológica o linfohematológica diseminada), gastrointestinal y hepática entre otras (3,4,6,15,19).

D. Síntomas

El comienzo de la tuberculosis es insidioso. La tuberculosis primaria es habitualmente leve y asintomática y, en el 90% de los casos, no sigue evolucionando. Sin embargo, el 10% restante, se desarrolla la enfermedad clínica (18).

En alrededor del 5% de los hospederos normales, y hasta en 50% de la personas con infección por el VIH avanzada, la infección inicial puede evolucionar de manera directa hasta culminar en tuberculosis pulmonar. En lactantes, adolescentes, adultos jóvenes y personas inmunosuprimidas, es más frecuente que la infección inicial tenga consecuencias graves (3,4,18).

La tuberculosis pulmonar progresiva surge por reinfección exógena o por reactivación endógena del foco latente que persistía desde la infección inicial. Antes de aparecer las manifestaciones clínicas se observan anomalías radiológicas como zonas densas anormales que denotan infiltración pulmonar, caverna o fibrosis. Desde el comienzo puede haber fatiga, fiebre, sudores nocturnos y pérdida de peso, en tanto que en fases avanzadas adquieren importancia los síntomas de localización como tos, dolor torácico, hemoptisis y ronquera (3,4,18,19).

Sin tratamiento, aproximadamente la mitad de los enfermos mueren en menos de cinco años, aunque la mayoría de ellos muere en 18 meses. La tuberculosis extrapulmonar es menos común que la pulmonar. Se presenta con mayor frecuencia niños y personas inmunodeficientes, como las infectadas por el VIH (4). Los síntomas son fiebre, sudores nocturnos, pérdida de peso y otros síntomas que van de acuerdo con su localización (3,8).

E. Diagnóstico

La tuberculosis suele sospecharse a menudo tras realizar una radiografía de tórax, por sintomatología característica o de modo rutinario al ingresar al hospital para estudiar síntomas inespecíficos. Sin embargo deben realizarse estudios clínicos y de laboratorio, así como análisis microbiológicos para un correcto diagnóstico (3).

1. Examen del esputo

El diagnóstico presuntivo de enfermedad activa se hace al demostrar la presencia de bacilos alcohol ácido resistentes (BAAR) en frotis teñidos por medio de la coloración con Ziehl Neelsen o Kinyoun de esputo u otros líquidos corporales. Este resultado puede obtenerse dentro de una hora tras la recepción de la muestra en el laboratorio (4,18). Aunque éste método es rápido y de bajo costo, tiene varias limitantes, entre ellas: requiere aproximadamente 10,000 organismos/ml, para garantizar la observación de los mismos, lo que resulta en una baja sensibilidad (30-70% comparado con el cultivo de la micobacteria), además de no permitir diferenciar entre especies (8).

2. Prueba de la tuberculina

Es la prueba normalizada por la OMS desde 1964, que básicamente consiste en la inyección intradérmica de 5U de tuberculina de PPD (derivado purificado de proteína) en 0.1 ml de solución en la cara anterior del brazo izquierdo y la realización de una lectura a las 48-72 horas de la prueba, en la que se mide la zona de induración que se ha producido (no la zona de eritema) (3,11,13,20).

Esta prueba presenta la limitante de no diferenciar entre enfermedad activa y la infección (Anexo 4) y está indicada en todas las situaciones que interese confirmar o descartar infección tuberculosa (11,20,21) (Anexo 5).

Se sabe que 10 a 20% de las personas con tuberculosis activa quizá no muestren reacción alguna a la PPD. Por este motivo, cualquier cutirreacción negativa no descarta la posibilidad de tuberculosis activa (4,21,22).

Se considera que una zona de induración con un diámetro de 10 mm es positiva en personas con factores de riesgo y una zona de induración de 15 mm de diámetro o más se considera positiva en adultos y niños (4 años de edad o mayores) sin factores de riesgo y que viven en zonas con pocos casos de tuberculosis (3,4,11,19). En pacientes infectados con el VIH se produce un importante defecto en la inmunidad mediada por células que puede reflejarse en la incapacidad para desarrollar una respuesta de hipersensibilidad cutánea. En estos casos toda zona de induración igual o mayor de 5 mm se considera positiva (3,4,8,13,23).

Sin embargo, existen pacientes que expresan resultados falsamente negativos debido a la inmunosupresión que impide el desarrollo de la zona de induración (anergia cutánea). En un estudio realizado en Córdoba, España, se demostró que la incidencia de tuberculosis en pacientes con anergia cutánea ha sido de 3.1/100 pacientes al año (23).

3. Cultivo para *Mycobacterium tuberculosis*

El cultivo permite diagnosticar los casos bronco pulmonares de TB en los que el número de bacilos no es lo suficientemente alto como para poder observarlos en el examen microscópico. En las formas extrapulmonares, que son generalmente paucibacilares (que cursan con escasa población bacilar), el cultivo constituye prácticamente el único método de diagnóstico bacteriológico (24).

M. tuberculosis es un microorganismo de crecimiento lento. Se requieren de 2-6 semanas de incubación en el medios enriquecidos (como Lowenstein Jensen, Middlebrook 7H9, 7H11, etc) para su recuperación a partir de muestras clínicas. En cuanto a sus características de crecimiento se observan colonias secas, superficie rugosa, bordes irregulares y de color crema amarillento (1).

Las condiciones de incubación incluyen alto porcentaje de humedad y una temperatura entre 35°C - 37°C. El rango de pH óptimo para su crecimiento es de 6.5-7.0 y una atmósfera de 5 a 10% de CO₂ (8).

El uso de medios líquidos permiten observar el desarrollo bacilar más rápidamente, pero tiene la desventaja de contaminarse más fácilmente. Con el objetivo de disminuir el tiempo de proceso se han desarrollado otros sistemas de cultivo, la mayoría en medios líquidos. El BACTEC 460TM es un sistema de cultivo radiométrico que constituyó un gran avance tanto para el diagnóstico como para la determinación de la sensibilidad a los medicamentos antituberculosos. Utiliza el medio de Middlebrook 7H12 con ¹⁴C-ácido palmítico y detecta el crecimiento de las micobacterias por el CO₂ radiactivo que se desprende como producto del metabolismo. Consigue detectar crecimiento de *M. tuberculosis* en un tiempo medio de 5-7 días, frente a los 20 días necesarios con medios y procedimientos tradicionales (24,25).

Tubos indicadores de crecimiento micobacteriano (MGIT, por sus sigla en inglés) es un nuevo método no radiactivo para la detección rápida del crecimiento de micobacterias. Consiste en el agregado de un indicador fluorescente al medio de cultivo. La aparición de fluorescencia de color naranja brillante en el fondo del tubo indica desarrollo (8,24,25).

4. Otros métodos diagnósticos

En respuesta a la situación epidemiológica de la tuberculosis alrededor del mundo han sido desarrolladas nuevas técnica de laboratorio para su diagnóstico. Entre estas están el uso de medios de cultivos líquidos como el Septi-Chek AFB System, la Aplicación de cromatografía gas-líquida y de la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), entre otras (8,24,25).

F. Tratamiento

El tratamiento de la tuberculosis pretende conseguir la negativización de los cultivos en el menor tiempo posible, prevenir la aparición de resistencia y asegurar la curación completa (6).

El tratamiento de las infecciones causadas por *M. tuberculosis* presenta un enorme desafío para la medicina y la industria farmacéutica, ya que *M. tuberculosis* tiene una capa externa cérica que le confiere una gran impermeabilidad natural y dificulta la penetración de los antibióticos. Se localiza a nivel intracelular, a menudo en las células rodeadas de una masa de material caseoso, lo que dificulta la llegada del antibiótico. Crece y se multiplica de forma extremadamente lenta y son necesarias semanas o meses para conseguir una inhibición eficaz. Por tanto, el tratamiento prolongado constituye otro desafío e implica que sea muy deseable utilizar fármacos que se administren por vía oral. Así mismo, la tuberculosis es una enfermedad que está aumentando de la mano de la epidemia del SIDA en los países en desarrollo, cuya infraestructura en salud pública es deficiente y los recursos escasos, donde el costo del tratamiento no puede ser cubierto por la población afectada (3,17,18).

Los fármacos antituberculosos se clasifican en dos grupos según su actividad antituberculosa, los de primera y segunda línea, una descripción de los mismos se presenta a continuación:

1. Drogas de primera línea

Estos son bactericidas y de elección en el tratamiento de casos nuevos. Los medicamentos de primera línea son isoniazida, rifampicina, estreptomina, etambutol y pirazinamida (3,6,8,12,17) (Anexo 6).

La **isoniazida** ha sido la droga más utilizada desde su introducción. Esta es bactericida. Actúa sobre bacilos intra y extracelulares y mata un 90% de la población bacilar durante las primeras semanas de tratamiento. Su dosis usual es de 300 mg/día (3,6,12,17,26-28).

Un estudio realizado en el Hospital Universitario de Alicante en España reveló que en pacientes con enfermedad tuberculosa latente una dosis intermitente de 900 mg dos veces por semana debería ser utilizada ya que el menor cumplimiento de la pauta diaria podría disminuir su eficacia. Este tratamiento fue administrado durante 6 meses a los pacientes sin infección por el VIH y 12 meses en los pacientes VIH positivos. En este estudio no se observó ninguna diferencia significativa en cuanto a eficacia entre las dos pautas (300mg/día vrs. 900mg/2 veces por semana) de tratamiento debido a que la muestra (112 pacientes) se consideró muy pequeña (28).

La **rifampicina** es también bactericida y actúa a través de la inhibición de ARN. Actúa sobre bacilos intra y extracelulares. Es un fármaco particularmente útil para eliminar bacilos en estado latente en los macrófagos o lesiones caseosas que pueden causar posterior recaída (3,12,17,27).

La **pirazinamida** es un fármaco bactericida útil redescubierto en la década de los 80. Actúa fundamentalmente sobre los bacilos intracelulares. Antiguamente se empleaba sólo para el retratamiento y en los casos resistentes pero en la actualidad cada vez se emplea más junto a la isoniazida y la rifampicina, o bien junto al etambutol o la estreptomina, con lo cual se permite acortar la pauta de tratamiento de 9 a 6 meses, así como para prevenir la aparición de resistencia contra isoniazida (3,6,8,12,17,27).

El **etambutol** es un fármaco bacteriostático que impide la aparición de resistencia a los fármacos bactericidas usados en el tratamiento de la tuberculosis. Su modo de acción es inhibiendo la síntesis de ARN (3,6,12,17,27).

La **estreptomina** es un fármaco muy eficaz, pero en algunos pacientes los bacilos son ya resistentes, puesto que se comenzó a utilizar a finales de la década de 1940. Este actúa como bactericida inhibiendo la síntesis de ARN-ADN (3,6,8,12,17,27).

2. Drogas de segunda línea

Estos tienen una menor actividad antituberculosa y más efectos secundarios por lo que su manejo es más difícil, se utilizan en las áreas en las que existen grandes rangos de resistencia. Entre estos se encuentran la ofloxacina, cicloserina, capreomicina, etionamida, tiacetazona, kanamicina/amikacina y ácido para amino salicílico (3,6,8,17,18,29) (Anexo 7).

La kanamicina y la capreomicina se utilizan como sustitutos del etambutol cuando los microorganismos son resistentes a este fármaco o en las raras ocasiones en que el paciente no lo tolera. Los principales efectos adversos de estos son disfunción renal, vértigo y ototoxicidad (6,29).

La etionamida y la cicloserina se reservan para retratamientos y situaciones especiales de intolerancia a fármacos y resistencia bacilar. La administración de etionamida causa molestias gastrointestinales, en ocasiones hepatitis y es común que hayan reacciones alérgicas, que son muy raras con la cicloserina, pero con este medicamento son muy comunes las aberraciones de la función mental y convulsiones (6,29).

El ácido para aminosalicílico es bacteriostático y su actividad es altamente específica y no afecta otros microorganismos que no sean *M. tuberculosis*, sus principales efectos adversos son intolerancia gastrointestinal y toxicodermia. Mientras que la tiacetazona provoca erupciones cutáneas y alteraciones hematológicas (6,29).

G. Pautas de tratamiento

El tratamiento de las infecciones micobacterianas en el hombre se ha convertido en un problema dado que el microorganismo crece con lentitud y las enfermedades suelen ser crónicas, el cumplimiento del paciente, la toxicidad del fármaco y el desarrollo de resistencia presentan problemas terapéuticos especiales (10,27).

En base a esto, el tratamiento debe constar de dos fases: una **fase inicial o intensiva** en la que se han de usar al menos tres fármacos para impedir el desarrollo de mutantes resistentes entre los bacilos que existen en el huésped, y posteriormente una vez conseguida la reducción del mayor número de bacilos posible, basta con seguir con dos fármacos, es la llamada **fase de consolidación o continuación** (6).

A nivel mundial las pautas de tratamiento utilizados son las recomendadas por la Organización Mundial para la Salud (OMS) (Anexo 8).

1.Pauta de seis meses (2RHZ/4RH)

Desde 1986, tras los estudios realizados por British Medical Research Council, tanto la Unión Internacional contra la Tuberculosis como las Sociedades Inglesa y Americana del Tórax recomendaron abiertamente la pauta de 6 meses para el tratamiento de casos iniciales de tuberculosis pulmonar, tanto en adultos como en niños (6).

- Fase inicial: durante los primeros 2 meses se administra RHZ.
- Fase de consolidación: pasados los dos meses se continúa con RH hasta el sexto mes (3,6,8,12,17).

La eficacia de esta combinación se basa en el alto poder bactericida y esterilizante de la asociación RHZ. Además, la combinación RH proporciona la potencia necesaria para impedir el desarrollo de mutantes resistentes hasta en las grandes poblaciones bacilares (6). En Guatemala se utiliza para el tratamiento de la tuberculosis la pauta de 6 meses que incluye HRZE (8).

2. Pauta de nueve meses (2RHE//RH)

Esta pauta ya no es considerada como la estándar, y actualmente constituye la alternativa a la pauta de 6 meses cuando no se puede utilizar Z (6,12).

- Fase inicial: Durante 2 meses se administra RH y E o S.
- Fase de consolidaciones prosigue con RH hasta el noveno mes.

La tuberculosis de las personas infectadas por el VIH responde bien a las pautas habituales de 2 o 3 fármacos cuando el antibiograma demuestra que las cepas son sensibles. El tratamiento se debe administrar durante el tiempo que el paciente pueda tolerarlo y no hay que interrumpirlo a los 6 o 9 meses sino más bien continuarlo hasta un año (3,29).

H. Tuberculosis multidrogorresistente

La emergencia de la resistencia a drogas de *M. tuberculosis* (MDR-TB por sus siglas en inglés) ha sido bien conocida desde el inicio de la era de la quimioterapia. Hoy en día es un problema generalizado. De acuerdo a la OMS una alta prevalencia de multiresistencia de tuberculosis ha sido reportada en diferentes sitios geográficos con alta prevalencia a tuberculosis como Estonia (18%), Latvia (12%), Irán (7%), Italia (7%) y en tres estados de México (7%) (9).

Según la OMS la TB resistente se define como: la tuberculosis causada por organismos resistentes al menos a isoniazida y rifampicina, dos de los antituberculosos más importantes (7,25,29). Multiresistencia entre casos nuevos (resistencia primaria) es la presencia de muestras de *M. tuberculosis* resistentes en pacientes nuevos diagnosticados que nunca han recibido drogas antituberculosas o que han recibido tratamiento en el último mes (8,9,19,29). Multiresistencia entre casos tratados previamente (resistencia secundaria o adquirida) está basada en pacientes que han recibido tratamiento en el último mes (6,9).

La frecuencia para desarrollar resistencia primaria a isoniazida es de 10^5 - 10^6 , para rifampicina 10^7 - 10^8 , para Pirazinamida 10^2 - 10^1 , para estreptomina 10^5 - 10^6 y para etambutol 10^6 (6,8,10,13,25,27,28).

La resistencia secundaria o adquirida es el producto de un tratamiento incorrecto. Para evitarla hay que asegurar siempre el uso de una correcta asociación de fármacos, que no hayan sido utilizados anteriormente, o que, si lo fueron, lo haya sido de forma adecuada, es decir en dosis y combinaciones correctas (6,8,10,17,27).

En un estudio conducido por el CDC en el año 1991 en los Estados Unidos se reportó que un 14.9% de aislamientos de *M. tuberculosis* fueron resistente al menos a una droga y un 3.3% fueron resistentes a isoniazida y rifampicina dos de los más poderosos antituberculosos (12).

Los brotes nosocomiales de MDR-TB comúnmente son observados en comunidades, prisiones y hospitales infectando principalmente personas con VIH, sin embargo, también infectan a personas con enfermedades del sistema inmune. En general, el periodo entre la exposición de pacientes a MDR-TB y el comienzo de la enfermedad activa es bien corto, entre 22-182 días posteriores al inicio del brote (9,12).

Se considera que la tasa de mortalidad por MDR-TB es del 72-89% y el periodo entre el diagnóstico y la muerte es de 4-16 semanas, por lo tanto se hace necesario un reporte oportuno de la susceptibilidad antibiótica (13). Para el tratamiento de la MDR-TB se han establecido diferentes pautas de tratamiento dependiendo del perfil de resistencia que se presente (6,10,12) (Anexo 9).

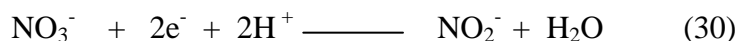
I. Susceptibilidad antibiótica de *M. tuberculosis*

El principio de los métodos que se utilizan para evaluar la susceptibilidad antibiótica de *M. tuberculosis* se basan en la inoculación de una suspensión estandarizada del organismo a evaluar, comparando posteriormente el crecimiento en un medio de cultivo que contiene el antibiótico frente al crecimiento en un medio control libre de medicamento. El método modificado de las proporciones fue desarrollado en la década de 1960 y es el método comúnmente usado en laboratorios de microbiología. Este método permite la obtención de resultados en un periodo de 3 semanas (8,12,24).

El sistema semiautomatizado BACTEC 460TM es un método radiométrico que determina la susceptibilidad del microorganismo dependiendo de su crecimiento en el medio de cultivo que contiene un antibiótico específico. Detectando el crecimiento de las micobacterias por la producción de CO₂ proveniente del metabolismo el cual estará marcado con ¹⁴C. Este método permite la obtención de resultados en alrededor de 5 días (11,12,24).

El método de NRA es un método relativamente nuevo para determinar la sensibilidad antibiótica de *M. tuberculosis*. El método de NRA inicialmente fue desarrollado en el Central Tuberculosis Research Institute en Moscú, Rusia (9).

Este método se basa en la capacidad de *M. tuberculosis* de producir nitroreductasa y catalizar la reducción de nitratos a nitritos, cuya reacción es la siguiente:



El desarrollo de un color rojo en cuanto se adiciona ácido sulfanílico y N-naftiletildiamina al medio que contiene el microorganismo indica la presencia de nitritos (9,25).

Por este método se determina la presencia de nitritos, que está relacionado directamente por el crecimiento o inhibición del crecimiento en el medio de cultivo que contiene el antibiótico (9).

La actividad nitroreductasa se observa “casi” exclusivamente a *M. tuberculosis*, lo cual permite diferenciarla de otras micobacterias (9,25).

Entre las ventajas de este método se pueden mencionar que es relativamente rápido (permitiendo obtener resultados en alrededor de 15 días), fácil de desarrollar, no requiere de equipo, reactivos y sustratos especiales (9).

El método MGIT es un método de evaluación comercial para la determinación la susceptibilidad antibiótica de *M. tuberculosis*. Este método utiliza tubos con medio Middlebrook modificado con un indicador fluorescente unido a oxígeno embebido en una resina de silicona en el fondo del tubo. Cuando las bacterias crecen consumen oxígeno, el indicador se libera y emite fluorescencia al iluminarlo con luz ultravioleta (11).

Este método es útil en el diagnóstico rápido de la tuberculosis y detecta la resistencia a drogas antituberculosas de primera y segunda línea en presencia de concentraciones críticas de los antibiótico (34).

IV. JUSTIFICACIÓN

La tuberculosis es uno de los mayores problemas en la salud pública en Guatemala y la comunidad internacional. La emergencia del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) ha acelerado la propagación de la tuberculosis ya que las personas con infección latente por *M. tuberculosis* y con el VIH presentan también tuberculosis clínica con mayor frecuencia (3-5).

La organización Mundial para la Salud (OMS) estima que cerca de la tercera parte de la población esta infectada con tuberculosis, que se presentan alrededor de 8 millones de casos nuevos al año y que al mismo tiempo 2 millones de personas mueren por tuberculosis alrededor del mundo (2).

Guatemala ha sido incluida por la OPS entre las nueve naciones de Latinoamérica que afrontan incidencias de Tuberculosis sobre 85/100,000 habitantes (8).

Existen diversos factores que se encuentran asociados al aumento de los casos de tuberculosis entre ellos se pueden mencionar la epidemia del VIH/SIDA, el aumento de la pobreza, la utilización de drogas inyectables y el número de personas sin hogar, así como el mal cumplimiento de los regímenes de tratamiento y el aumento de personas que residen en instituciones para pacientes con enfermedades crónicas. La crisis de la TB se ha intensificado debido a la aparición de infección causada por microorganismos resistentes a múltiples drogas que pueden provocar una forma esencialmente incurable de la enfermedad (2,4,8,10).

El problema de la aparición de cepas multidroga resistentes radica en que el periodo de la exposición de pacientes a MDR-TB y el comienzo de la enfermedad activa es corto entre 22-182 días y la tasa mortalidad por MDR-TB es de alrededor del 72-89%, por lo tanto se necesita un reporte oportuno de la susceptibilidad antibiótica. Así mismo, el

tratamiento de pacientes con MDR-TB es más largo, tóxico y caro que un tratamiento de tuberculosis susceptible (8,12).

En Guatemala las pruebas de susceptibilidad no se llevan a cabo rutinariamente debido a que algunos de los métodos disponibles necesitan de personal capacitado, son métodos muy onerosos, requieren de reactivos y sustratos especiales o de equipo especializado, lo que provoca que el costo de esta prueba este fuera del alcance de la población. Por lo anterior, en muchas ocasiones se administra un régimen de tratamiento posiblemente inadecuado, lo que provoca fracaso en el tratamiento o la aparición de cepas resistentes (3,6,8).

Por esta razón se hace necesaria la evaluación de nuevas metodologías de menor costo y que ofrezcan resultados rápidos, para poder ser utilizado por los programas nacionales de control de la tuberculosis en regiones donde la resistencia va en constante aumento y los recursos son escasos. Así como, para orientar acerca de las condiciones de susceptibilidad/resistencia de las cepas encontradas en nuestro país. Por lo tanto, el método de NRA Y MGIT se compararán con el método de la proporciones , para poder determinar su uso en el trabajo de rutina. Ya que el método NRA tiene el potencial de ser un método rápido, de bajo consto y relativamente fácil de ejecutar. Mientras que el método MGIT a pesar de ser un método de costo elevado ofrece la ventaja de obtener resultados en un periodo de tiempo mas corto.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo general:

Determinar la concordancia del método de Nitrato Reductasa y el método de Tubos de crecimiento micobacteriano (MGIT) con respecto al método de las proporciones para evaluar la resistencia de *M. tuberculosis*.

B. Objetivo específico:

1. Determinar la resistencia antibiótica de *M. tuberculosis* a isoniazida, rifampicina, estreptomycin y etambutol por el método de Nitrato Reductasa, y MGIT en un banco de cepas provenientes de Guatemala y Honduras.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Cepas de *M. tuberculosis* aisladas en Guatemala y Honduras durante el año 2000 y 2001.

B. Muestra

52 cepas de *M. tuberculosis* provenientes de Guatemala y Honduras, evaluadas anteriormente por el Método de las Proporciones.

C. Recursos

1. Recursos Humanos

Br. Alma Johsua González Borrayo.

MSc. Blanca Samayoa (asesora).

Licda. Rosario Hernández (asesora).

2. Recursos Institucionales

Universidad de San Carlos de Guatemala.

Hospital General San Juan de Dios.

Clínica Familiar “Luis Ángel García”.

3. Materiales

a) Equipo

- Incubadora
- Campana de seguridad biológica tipo 2
- Horno
- Refrigeradora
- Congelador (-20 °C)
- Mezclador Vórtex

- Balanza analítica
- Gradillas
- b) Reactivos
 - Agar Lowenstein Jensen
 - Nitrato de Potasio (KNO_3)
 - Buffer de fosfato 5M (pH 7.4)
 - Ácido clorhídrico (HCl) concentrado
 - *Sulfonamida
 - *N-1-naftilenetilendiamina
 - *Etambutol
 - *Isoniazida
 - *Rifampicina
 - *Estreptomina
 - Estándar de turbidez McFarland 1.0
 - * reactivo de calidad analítica.
- c) Cristalería
 - Tubos de vidrio con rosca
 - Erlenmeyer
 - Beakers
 - Probetas

D. Metodología

1. Muestra

Se evaluaron 52 cepas de *M. tuberculosis* previamente evaluadas por el Método de las Proporciones.

2. Método de Nitrato Reductasa

2.a. Preparación del medio de cultivo

- a. Preparar una serie de 7 tubos de Lowenstein Jensen por cada cepa a evaluar; 3 tubos se utilizan como control de crecimiento libre de antibióticos.
- b. A los cuatro tubos restantes se les adicionará uno de los antibióticos siguientes: isoniazida (0.2 $\mu\text{g/mL}$), rifampicina (40 $\mu\text{g/mL}$), estreptomycin (4.0 $\mu\text{g/mL}$) y etambutol (2.0 $\mu\text{g/mL}$).
- c. Agregar a todos los tubos (con y sin antibiótico) 1.00 μg de KNO_3 .
- d. Almacenar a 4°C hasta su posterior utilización.

Nota: permitir que los antibióticos se descongelen a temperatura ambiente y usarlos lo más rápido posible (9).

2.b. Reactivación de cepas y preparación del inóculo

- a. Inocular una asada de cada cepa en 5 mL de caldo MB7H11.
- b. Incubar por 7 días, observar constantemente para detectar crecimiento.
- c. Preparar una suspensión del microorganismo utilizando 1 μg del crecimiento en MB7H11 más 3 mL de buffer fosfatos pH 7.4 hasta alcanzar turbidez No. 1 de McFarland.
- d. Preparar una dilución 1:10 de la suspensión anterior.
- e. Tomar 0.2 mL e inocular en los 3 tubos sin antibiótico (controles de crecimiento).
- f. Colocar 0.2 mL de la suspensión inicial en los tubos que contiene los antibióticos.
- g. Incubar los tubos a 37°C por 7 días (9).

2.c. Preparación del reactivo para evidenciar presencia de nitritos

- a. Solución 1: a partir de HCl concentrado preparar una solución al 50% (vol/vol).
- b. Solución 2: preparar una solución de ácido sulfanílico al 0.2% (peso/vol).
- c. Solución 3: preparar una solución al 0.1% (peso/vol) de N-1naftilenetilendiamina.

- d. Para preparar 50 mL reactivo mezclar en un recipiente adecuado, 10 mL de la solución 1, 20 mL de la solución 2 y 20 mL de la solución 3.
- e. Rotular y refrigerar hasta su uso (8,9).

2.d. Determinación e interpretación de la susceptibilidad antibiótica

- a. Al término de los 7 días a uno de los tubos control adicionar 0.5 mL del reactivo para evidenciar la presencia de nitritos.
- b. Si se observa un cambio de color (rojo-rosa) se le adiciona reactivo a los tubos que contienen los antibióticos.
- c. Si no se observa ningún cambio de color se descarta el tubo control y se reincuban los tubos restantes por 3 días más.
- d. Realizar el mismo procedimiento a los 10 días de incubación con el segundo tubo control y si es necesario a los 14 días con el tercer tubo control.
- e. Se reportará como susceptible al microorganismo que no evidencie cambio de color con el reactivo para determinar nitritos en el tubo con un antibiótico determinado y sí haya presentado cambio de color (crecimiento) en el tubo control.
- f. Se reportará como resistente al microorganismo que presente cambio de color con el reactivo para la determinación de nitritos tanto en el tubo control como en el tubo que contiene el antibiótico (9).

3. Método de tubos indicadores de crecimiento micobacteriano (MGIT)

- a. Para cada una de las cepas se utilizaron cinco tubos de 5 mL, un control de crecimiento y un tubo por cada antibiótico.
- b. Cada uno de estos tubos se suplementan con 0.5 mL de OADC (ácido oleico, albúmina, dextrosa y catalasa).
- c. Usando un cultivo de 2 a 3 semanas, se prepara un estándar de 0.5 en la escala de McFarland.
- d. Preparar una dilución 1:5 del estándar e inocular 0.5 mL de esta dilución a cada uno de los tubos. Incubar los tubos a 35 °C.

- e. Después de 3 días de incubación se evalúa el tubo control. Si este indica crecimiento (fluorescencia a 350 nm con luz UV), los tubos con droga deberán ser evaluados.
- f. Una muestra se considera susceptible si se observa fluorescencia en el tubo control por tres días consecutivos, pero no fluorescencia en los tubos con droga.
- g. Se considerará una muestra resistente si se observa en los tubos (control y con droga) fluorescencia por tres días consecutivos.
- h. Si no se observa fluorescencia en el tubo control durante 12 días, la evaluación se considerará inválida.

4. Método de las Proporciones

Para la realización del método de las proporciones Rodríguez Jiménez y colaboradores utilizaron la metodología descrita por Canetti et al (8).

5. Diseño de la investigación

Los resultados obtenidos se analizaron por medio de un diseño no probabilístico por conveniencia. Se determinará el valor Kappa de estas pruebas (método de las proporciones y NRA).

$$K^1 = \frac{\text{proporción de concordancia observada} - \text{proporción de concordancia esperada}}{1 - \text{proporción de concordancia esperada}}$$

6. Control de calidad

Se utilizaron como controles calidad cepas ATCC (cepa H37) de *M. tuberculosis* así como controles ciegos de las mismas cepas a ensayar.

¹Valor Kappa

VII. RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó la capacidad del método de nitrato reductasa (NRA) y MGIT, como métodos alternativos de tamizaje en la determinación de la susceptibilidad antibiótica de micobacterias. El método NRA se basa en la capacidad de *M. tuberculosis* de producir nitroreductasa y catalizar la reducción de nitratos a nitritos en el medio de cultivo (29). Este método permite utilizar la determinación de nitritos como un indicador del crecimiento o inhibición del crecimiento en el medio de cultivo que contiene el antibiótico (28).

El método MGIT es un método de evaluación comercial para la determinación la susceptibilidad antibiótica de *M. tuberculosis*. Este método utiliza tubos con medio Middlebrook modificado con un indicador fluorescente unido a oxígeno embebido en una resina de silicona en el fondo del tubo. Cuando las bacterias crecen consumen oxígeno, el indicador se libera y emite fluorescencia al iluminarlo con luz ultravioleta (11).

En un estudio de susceptibilidad antibiótica de cepas de *M. tuberculosis* realizada en la ciudad de Guatemala a partir de cepas aisladas durante el período 2000-2001 se evaluaron un total de 67 cepas de *M. tuberculosis* provenientes de pacientes viviendo con VIH/Sida (PVVS). Así mismo en colaboración con un grupo de investigadores de la ciudad de Honduras se incluyeron en dicho estudio 50 cepas provenientes de pacientes VIH negativos, los cuales se encontraban recluidos en un centro asistencial para enfermos de tuberculosis en este período de tiempo. En dicho estudio se evaluó la sensibilidad antibiótica de las cepas de *M. tuberculosis* utilizando el método modificado de las proporciones (MP).

De esta muestra de las poblaciones de Guatemala y Honduras fueron recuperadas y evaluadas por NRA 52 cepas, 27 provenientes de pacientes guatemaltecos, descartando tres de estas cepas por contaminación presuntiva por micobacterias atípicas y 29 provenientes de pacientes hondureños excluyendo una cepa también por contaminación. Una cepa se consideró resistente si presentaba crecimiento (MP), presencia de nitritos (NRA) y presencia de fluorescencia (MGIT) en al menos uno de los antibióticos evaluados. Los resultados obtenidos de la comparación entre estos métodos se detalla a continuación.

Al comparar los resultados obtenidos por los métodos evaluados frente al método de las proporciones. Se observó un bajo porcentaje de susceptibilidad por NRA (10%), seguido de MGIT con el 37% en comparación con un 79% reportado por MP.

Tabla 1. Comparación del método NRA y Método de las proporciones (N=52)

| Técnica Resultado | Método de proporciones n (%) | NRA n (%) | MGIT ³ |
|--------------------------|---------------------------------|--------------|-------------------|
| Susceptible ¹ | 41 (79%)* | 5 (10%) | 19(37%) |
| Resistente ² | 11(21%)* | 47 (90%) | 33(63%) |
| Total | 52 | 52 | 52 |

Fuente: datos experimentales; ¹Susceptible = resistente a una droga o más; ²Resistente = susceptible a cada una de las drogas; MGIT³= tubos indicadores de crecimiento micobacteriano; *Referencia histórica.

Con respecto a las cepas resistentes, tres grupos diferentes fueron notados. El primer grupo (tabla 2) muestra las cepas MDR, observándose que por el método de NRA se encontró el mayor porcentaje (42%) de cepas MDR. En el segundo grupo las cepas muestran una sola resistencia; notándose que por NRA existe una marcada resistencia a estreptomycinina. En el tercer grupo (tabla 2) se presentan combinaciones de resistencia diferentes a la definición MDR; observándose que por NRA se encuentran la mayor cantidad de combinaciones de resistencia. Siendo la más frecuente la combinación estreptomycinina, isoniazida y etambutol.

Tabla 2. Perfiles de resistencia M. tuberculosis evaluadas por tres métodos (N=52).

| Métodos | RESISTENCIA | | | | | | | | | | | | | Total |
|--------------------|-------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|-------|
| | Susceptible | MDR ¹ | S ² | I ³ | R ⁴ | E ⁵ | Otras combinaciones no MDR | | | | | | | |
| | | | | | | | SE ⁶ | SI ⁷ | SR ⁸ | EI ⁹ | ER ¹⁰ | SIR ¹¹ | SIE ¹² | |
| MP ¹³ | 41 (78.8%) | 5 (9%) | 1 (2%) | 0 (0%) | 2 (4%) | 1 (2%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 1 (2%) | 0 (0%) | 1 (2%) | 0 (0%) | 52 |
| NRA ¹⁴ | 5 (9.6%) | 22 (42%) | 13 (25%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 1 (2%) | 3 (5.7%) | 2 (4%) | 1 (2%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 5 (9.6%) | 52 |
| MGIT ¹⁵ | 19 (36.5%) | 21 (40%) | 3 (5.7%) | 3 (5.7%) | 0 (0%) | 2 (4%) | 0 (0%) | 2 (4%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 2 (4%) | 52 |

Fuente: datos experimentales;

¹MDR=multidrogoresistencia; ²S=estreptomicina; ³I= isoniazida; ⁴R=rifampicina; ⁵E=etambutol; ⁶SE = estreptomicina y etambutol;

⁷SI = estreptomicina e isoniazida; ⁸SR = estreptomicina y rifampicina; ⁹EI = etambutol e isoniazida; ¹⁰ER = etambutol y rifampicina;

¹¹SIR= estreptomicina, isoniazida y rifampicina; ¹²SIE = estreptomicina, isoniazida y etambutol; ¹³MP=método de proporciones;

¹⁴NRA=método de nitrato reductasa; ¹⁵MGIT= tubo indicador de crecimiento micobacteriano.

El análisis de concordancias entre métodos se realizó por medio del cálculo del índice Kappa, el cual constituye la manera más común de expresar la fiabilidad de una prueba. El análisis estadístico se realizó separadamente en un intento por demostrar si la concordancia de los métodos podría ser afectada por el status VIH de la paciente.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) presentó un informe el cual se centra en la tuberculosis farmacorresistente y señala que la tuberculosis multirresistente es casi el doble de frecuente en personas con tuberculosis (TB) que viven con el VIH que en el caso de personas que padecen tuberculosis y que, por el contrario, no viven con el virus (39).

Esto se debe a que en pacientes coinfectados con TB y VIH, se desarrollan cepas menos virulentas. Su infección con TB suele ser reciente, teniendo mayores posibilidades de haberse contagiado con cepas resistentes. Puede haber un factor de riesgo compartido para infección con VIH y cepas MDR. El tratamiento en pacientes inmunosuprimidos puede fallar con mayor frecuencia, pues albergan mayor número de bacilos, y pueden ser sujetos más frecuentemente a monoterapia funcional (40).

El análisis de las cepas de Guatemala se detalla a continuación. En la tabla 4A se observa la concordancia entre el MP y NRA tomándose en cuenta dentro dos variables (susceptibilidad y resistencia) obteniéndose entre ambos métodos un valor de índice Kappa pobre (0.01) (anexo 10).

Tabla 4A. Análisis de concordancia entre métodos.

| MP ¹ | Susceptible Resistente TOTAL | | |
|-----------------|------------------------------|---|----|
| | NRA ² | | |
| Susceptible | 1 | 0 | 1 |
| Resistente | 19 | 4 | 23 |
| TOTAL | 20 | 4 | 24 |

¹MP = método de proporciones; ²NRA = nitrato reductasa.
Índice Kappa = 0.01

Por lo anterior para aumentar la concordancia entre ambos métodos se evaluó el índice Kappa tomándose en cuenta tres variables (susceptibilidad, resistencia y MDR) como se observa en la tabla 4B, de lo cual se obtuvo un valor de índice Kappa malo (-0.009)

Tabla 4B. Análisis de concordancia entre métodos.

| MP ¹ | Susceptible | Resistente | MDR ³ | TOTAL |
|------------------|-------------|------------|------------------|-------|
| NRA ² | | | | |
| Susceptible | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Resistente | 7 | 1 | 1 | 9 |
| MDR | 13 | 1 | 0 | 14 |
| TOTAL | 21 | 2 | 1 | 24 |

¹MP = método de proporciones; ²NRA = nitrato reductasa;

³MDR = Multidrogoresistencia.

Índice Kappa = -0.009

Las tabla 5A y 5B corresponden al análisis de concordancias entre los métodos MP y MGIT. En ambos análisis se observa que el índice Kappa fue malo (-0.071) tomando en cuenta susceptibilidad y resistencia; no variando significativamente (-0.02) al utilizar solamente susceptibilidad, resistencia y MDR.

Tabla 5A. Análisis de concordancia entre métodos

| MP ¹ | Susceptible | Resistente | TOTAL |
|-------------------|-------------|------------|-------|
| MGIT ² | | | |
| Susceptible | 7 | 2 | 9 |
| Resistente | 13 | 2 | 15 |
| TOTAL | 20 | 4 | 24 |

¹MP = método de proporciones,

²MGIT= tubo indicador de crecimiento micobacteriano

Índice Kappa = -0.07

Tabla 5B. Análisis de concordancia entre métodos

| MP ¹ | | | | |
|-------------------|-------------|------------|------------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | MDR ² | TOTAL |
| MGIT ³ | | | | |
| Susceptible | 7 | 1 | 1 | 9 |
| Resistente | 3 | 1 | 0 | 3 |
| MDR | 11 | 1 | 0 | 12 |
| TOTAL | 20 | 3 | 1 | 24 |

¹MP = método de proporciones; ²MDR = Multidrogoresistencia.

³MGIT= tubo indicador de crecimiento micobacteriano

Índice Kappa = -0.02

Entre los métodos NRA y MGIT se observó un valor de índice Kappa malo (-0.081) cuando se analizaron las concordancias entre susceptibilidad y la combinación R + MDR. El valor de índice Kappa fue pobre (0.0656) al realizar el análisis utilizando susceptibilidad, resistencia y MDR (tabla 6A y 6B).

Tabla 6A. Análisis de concordancia entre métodos

| NRA ¹ | | | |
|-------------------|-------------|------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | TOTAL |
| MGIT ² | | | |
| Susceptible | 0 | 1 | 1 |
| Resistente | 9 | 14 | 23 |
| TOTAL | 9 | 15 | 24 |

¹NRA = nitrato Reductasa,

²MGIT = tubo indicador de crecimiento micobacteriano

Índice Kappa = -0.081

Tabla 6B. Análisis de concordancia entre métodos

| NRA ¹ | | | | |
|-------------------|-------------|------------|------------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | MDR ² | TOTAL |
| MGIT ³ | | | | |
| Susceptible | 0 | 8 | 1 | 9 |
| Resistente | 1 | 0 | 1 | 2 |
| MDR | 0 | 5 | 8 | 13 |
| TOTAL | 1 | 13 | 10 | 24 |

¹NRA = nitrato reductasa; ²MDR = Multidrogoresistencia.

³MGIT= tubo indicador de crecimiento micobacteriano

Índice Kappa = 0.0656

Al realizar el análisis de las cepas provenientes de Honduras se observó un valor del índice Kappa malo (-0.073) entre el MP y NRA comparando susceptible y resistente (incluyendo en esta última clasificación las cepas MDR) (tabla 7A).

Tabla 7A. Análisis de concordancia entre métodos

| MP ¹ | | | |
|------------------|-------------|------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | TOTAL |
| NRA ² | | | |
| Susceptible | 3 | 1 | 4 |
| Resistente | 18 | 6 | 24 |
| TOTAL | 21 | 7 | 28 |

¹MP = método de proporciones; ²NRA = nitrato reductasa.

Índice Kappa = -0.073

Por lo anterior para aumentar la concordancia entre ambos métodos se evaluó el índice Kappa tomándose en cuenta las tres variables a medir (susceptibilidad, resistencia y MDR), como se observa en la tabla 6B; de lo cual se obtuvo un valor de índice Kappa pobre (0.12).

Tabla 7B. Análisis de concordancia entre métodos

| MP ¹ | | | | |
|------------------|-------------|------------|------------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | MDR ³ | TOTAL |
| NRA ² | | | | |
| Susceptible | 2 | 0 | 1 | 3 |
| Resistente | 13 | 2 | 0 | 15 |
| MDR | 6 | 0 | 4 | 10 |
| TOTAL | 21 | 2 | 5 | 28 |

¹MP = método de proporciones; ²NRA = nitrato reductasa;

³MDR = Multidrogoresistencia.

Índice Kappa = 0.12

Las tabla 8A y 8B corresponden al análisis de concordancias entre los métodos MP y MGIT. Se observa que el índice Kappa fue pobre (0.18) tomando en cuenta susceptibilidad y resistencia, variando a una concordancia mala (-0.12) al utilizar solamente susceptibilidad, resistencia y MDR.

Tabla 8A. Análisis de concordancia entre métodos

| MP ¹ | | | |
|-------------------|-------------|------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | TOTAL |
| MGIT ² | | | |
| Susceptible | 9 | 1 | 10 |
| Resistente | 12 | 6 | 18 |
| TOTAL | 21 | 7 | 28 |

¹MP = método de proporciones

²MGIT= tobo indicador de crecimiento micobacteriano

Índice Kappa = 0.18

Tabla 8B. Análisis de concordancia entre métodos

| MP ¹ | | | | |
|-------------------|-------------|------------|------------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | MDR ² | TOTAL |
| MGIT ³ | | | | |
| Susceptible | 9 | 1 | 4 | 14 |
| Resistente | 8 | 1 | 1 | 10 |
| MDR | 4 | 0 | 0 | 4 |
| TOTAL | 21 | 2 | 5 | 28 |

¹MP = método de proporciones; ²MDR = Multidrogoresistencia.

³MGIT = tubo indicador de crecimiento micobacteriano

Índice Kappa = -0.12

El análisis de concordancias entre los métodos NRA y MGIT se presentan en tabla 9A y 9B. En ambos análisis se observa que el índice Kappa fue pobre (0.10) tomando en cuenta susceptibilidad y la combinación R + MDR, no variando significativamente (0.18) al utilizar susceptibilidad, resistencia y MDR.

Tabla 9A. Análisis de concordancia entre métodos

| MGIT ¹ | | | |
|-------------------|-------------|------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | TOTAL |
| NRA ² | | | |
| Susceptible | 2 | 8 | 10 |
| Resistente | 2 | 16 | 18 |
| TOTAL | 4 | 24 | 28 |

¹MGIT= tubo indicador de crecimiento micobacteriano

²NRA = nitrato reductasa.

Índice Kappa = 0.10

Tabla 9B. Análisis de concordancia entre métodos

| MGIT ¹ \ NRA ³ | MGIT ¹ | | | TOTAL |
|--------------------------------------|-------------------|------------|------------------|-------|
| | Susceptible | Resistente | MDR ² | |
| Susceptible | 2 | 8 | 0 | 10 |
| Resistente | 2 | 6 | 3 | 11 |
| MDR | 0 | 2 | 5 | 7 |
| TOTAL | 4 | 16 | 8 | 28 |

¹MGIT= tubo indicador de crecimiento micobacteriano;

²MDR = Multidrogoresistencia; ³ NRA = nitrato reductasa;

Índice Kappa = 0.18

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó el desempeño del método de Nitrato Reductasa (NRA) y tubos indicadores de cremiento micobacteriano (MGIT) para la detección temprana de resistencia de *M. tuberculosis* en pacientes VIH positivo y VIH negativo. Ambos métodos fueron evaluados con respecto al método tradicional (Método modificado de las proporciones).

El tiempo establecido por el método de las proporciones (MP) para el informe de resultados es alrededor de 42 días. Para NRA el tiempo requerido fue de 7-8 días. Oscilando entre un período de 5-15 días. Mientras que por el método MGIT el tiempo necesario para determinar resistencia a cualquier antibiótico fue de 5 días en promedio.

Por lo que las metodologías evaluadas demostraron ser una herramienta útil en la determinación rápida de farmacoresistencia, frente al método tradicional.

Al analizar el rendimiento global de las técnicas evaluadas con respecto al método tradicional (tabla 1), el método de nitrato Reductasa y MGIT reportaron altos porcentajes de resistencia (90% y 63% respectivamente) en comparación con el método de las proporciones (21%). Esta discrepancia puede explicarse considerando el tiempo y condiciones en que las cepas se encontraron almacenadas, ya que muchas de estas se recuperaron de medio sólido en refrigeración, permitiendo esto la selección de cepas lo que provocó estos resultados. Otros autores recomiendan que la mejor manera de preservación de microorganismos es a temperaturas bajas con sustancias no ionizables como la glicerina, sacarosa, lactosa y dimetilsulfoxido (DMSO) (31).

Esto se debe a que el efecto del almacenamiento, consiste en la lenta pérdida de la viabilidad debida al tiempo que permanecen las bacterias sobrevivientes en condiciones que resultan ser no adecuadas para conservar sus características naturales (31,32). Por lo que en próximas determinaciones será necesario incluir el estudio de estas cepas por el método de las proporciones.

Para el método de Nitrato Reductasa se observó un alto porcentaje (36%) de cepas resistentes a estreptomycin (Tabla 2), en comparación con el Método de las proporciones y MGIT. Con respecto a esto otros autores consideran que es más complicado determinar la sensibilidad a dicha droga. Esto puede deberse al estrecho rango entre las concentraciones mínimas inhibitorias entre susceptible y resistente que presenta este antibiótico (33).

Por lo tanto recomiendan realizar estudios con mayor cantidad de aislamientos y pruebas con diferentes concentraciones críticas del medicamento para obtener resultados más confiables (9,34). Otros estudios sugieren que se obtienen mejores resultados al utilizar en los ensayos una concentración de estreptomycin más alta (6.5 ug/ml vrs 4.0 ug/ml del presente estudio) (33).

También, por el método de NRA se observó la mayor cantidad de combinaciones de resistencia (tabla 3), encontrándose en estas combinaciones la estreptomycin y etambutol. La determinación de la sensibilidad a etambutol como para la estreptomycin (mencionada anteriormente) también se considerada complicada aún utilizando métodos estándar. Posiblemente por los mecanismos de acción al ser bacteriostático en lugar de bactericida o debido a los mecanismos de resistencia al medicamento (33-35).

Existen trabajos que utilizan diferentes concentraciones de etambutol en las pruebas de resistencia y esto ha hecho que a concentraciones bajas se detecte mayor cantidad de microorganismos resistentes. Estudios realizados por la OMS han considerado al etambutol un medicamento de difícil evaluación, con resultados poco reproducibles (34). Una posible explicación a este problema puede ser la heteroresistencia que presentan las micobacterias a dicho antibiótico (33).

Sin embargo, se debe aclarar que es necesario realizar estudios con mayor cantidad de aislamientos y pruebas con diferentes concentraciones críticas del medicamento para obtener resultados más confiables. Según otros autores el utilizar una concentración de etambutol más alta podría resolver estas limitantes. La OMS recomienda utilizar una concentración de 3.5 ug/mL para ensayos con etambutol (33,34).

Con respecto a la concordancia entre los métodos evaluados no se encontraron diferencias en los valores del índice Kappa entre las cepas de Honduras y Guatemala. Por lo que se observó que no se encontró ningún tipo de relación significativa entre la seropositividad para el VIH y la prevalencia de la resistencia entre los aislamientos.

Este mismo hecho fue reportado en un estudio realizado en Madrid en donde se ensayaron con cepas de *M. tuberculosis* provenientes de pacientes VIH positivos y negativos (37).

Al evaluar la concordancia entre el método de NRA y MP para las cepas de Guatemala (4A y 4B) los valores del índice kappa se mantuvieron bajos (0.01 y -0.009). Así mismo para el grupo de cepas de Honduras los valores de índice Kappa reflejan un concordancia pobre entre estos métodos (tabla 7A y 7B).

Esto puede explicarse debido a una posible inactivación del antibiótico en el medio de cultivo al realizar el ensayo de NRA. El medio se preparó en un horno convencional en donde las altas temperaturas condujeron a la inactivación de los mismos. Permitiendo de esta manera el crecimiento de la cepa, que posteriormente al observar dicho crecimiento se interpretó como resistente. El medio LJ requiere de calor húmedo para su elaboración. El horno utilizado para la preparación del medio en el presente estudio proveyó un ambiente de calor seco y por lo tanto, como ya se explicó; la inactivación del antibiótico (33).

La concordancia entre MGIT y MP para las cepas de Guatemala fue malo en los dos análisis realizados (Tabla 5A y 5B). Mientras que para las cepas de Honduras se encontraron valores de índice Kappa malos al realizar el análisis entre susceptible y resistente. Una correlación pobre entre susceptible, resistente y MDR (Tabla 8A y 8B).

Esto se puede explicar ya que la habilidad para interpretar los resultados de MGIT fue de vital importancia, ya que este método utiliza un medio altamente enriquecido lo cual provoca una fácil contaminación del medio y por lo tanto una lectura inadecuada de la susceptibilidad, provocando una desventaja de este método. Otra razón que se debe tomar en

cuenta es que puede ocurrir falsa lecturas debida a la interferencia de los antibióticos con algunos de los componentes del sistema MGIT (indicador de fluorescencia) (34,38).

Con respecto a esto, un estudio realizado en Chile reportó 17 cepas resistentes por MGIT que fueron susceptibles por MP. Aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, la mayor determinación de cepas resistentes por parte de este método requiere de nuevos análisis que permitan conocer los factores que inciden en este fenómeno (37) Cabe mencionar que en el estudio realizado en Chile se analizaron 200 cepas contra 52 en este estudio.

La concordancia entre el método de NRA y MGIT para las cepas de Guatemala fue pobre y malo. Mientras que para el grupo de cepas de Honduras la concordancia entre estos métodos fue pobre en los dos análisis realizados (tabla 9A y 9B). Esto puede explicarse por las razones anteriormente mencionadas, así como por la viabilidad de los reactivos utilizados para realizar las determinaciones.

La búsqueda de la resistencia a las drogas antituberculosas de primera línea es una herramienta indispensable para el manejo de los enfermos, y más aún, permite, a través de un tratamiento mejor planeado disminuir los casos de multirresistencia.

El método de Nitrato Reductasa demostró ser un método fácil de implementar en los laboratorios de rutina ya que los reactivos utilizados para la ejecución de dicha prueba se encuentran al alcance los laboratorios en los que se trabaja con *M. tuberculosis*. Así mismo el método de MGIT resultó ser un método de fácil ejecución, con al desventaja de los costos del mismo y la facilidad de contaminación ya que se utilizan tubos de rosca lo cual se cree que aumenta las posibilidades de contaminación (34,38).

A pesar de la baja concordancia de los métodos ensayados, con las ventajas y desventajas mencionadas de cada uno con respecto al estándar de oro, estas técnicas podrían ser herramientas diagnósticas rápidas facilitando la detección temprana de farmacorresistencia. Siendo necesario para ello evaluarse la sensibilidad y especificidad, así como valores predictivos para dichas metodologías.

Sin embargo, estudios posteriores deben ser realizados para la optimización de ambos ensayos, que comparen suficientes aislamientos de *M. tuberculosis* con resistencias conocidas y diferentes concentraciones del antibiótico. Además de corregir aspectos técnicos como el tipo de calor (húmedo/seco) utilizado en la preparación del medio de cultivo y así poder determinar verdaderos resistentes.

Se deberá considerar importante que se puedan incluir cepas que no han sido almacenadas por largos periodos de tiempo y que los ensayos puedan realizarse simultáneamente disminuyendo de esta manera el número de reaislamientos; así como una adecuada capacitación del personal de la laboratorio en la ejecución e interpretación de los ensayos puede proveer resultados fiables y rápidos para la detección de multirresistencia.

Para terminar, los resultados obtenidos con el uso de técnicas alternativa y/o convencionales deben estar siempre correlacionadas con la información clínica del paciente para el adecuado diagnóstico de farmacorresistencia el cual sigue siendo hasta al fecha extremadamente complejo. Así mismo estas deberían ser incluidas en cualquier estudio posterior.

IX. CONCLUSIONES

- A. Por el método de Nitrato Reductasa se determinaron altos porcentajes de resistencia a isoniazida, rifampicina, estreptomycin y etambutol.
- B. Se determinó una mala concordancia entre el Método de Nitrato Reductasa con respecto al método de las proporciones.
- C. La concordancia del método de tubos de crecimiento micobacteriano MGIT con respecto al método de las proporciones fue mala.
- D. Para aumentar la concordancia de estos métodos en estudios futuros deberán estandarizarse el modo de preparación del medio de cultivo, tiempo y condiciones de almacenamiento de las cepas y la habilidad en la ejecución e interpretación de resultados.
- E. Para próximos ensayos será necesario aumentar el tamaño de la muestra para determinar si existe concordancia entre los métodos evaluados en esta investigación.
- F. El método de Nitrato Reductasa y MGIT podrían ser métodos alternativos rápidos para la detección de farmacorresistencia, cuando éstos sean estandarizados.

X. RECOMENDACIONES

- A. Aumentar el tamaño de la muestra en próximas evaluaciones de estas técnicas.
- B. Mejorar el rendimiento de los métodos analizados , a través de la capacitación del personal de laboratorio en el uso de ambas técnicas con el fin de evitar falsas resistencias.
- C. Estandarizar y mejorar los protocolos de almacenamiento de las cepas que vayan a ser evaluadas.
- D. Correlacionar historia clínica del paciente con resultados obtenidos para el adecuado diagnóstico de farmacorresistencia.
- E. Evaluar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos

XI. REFERENCIAS

1. Torres MF. Manual Práctico de Bacteriología Médica; Norma obligatoria para los Laboratorios Clínicos Nacionales de la República de Guatemala. 2. ed. Guatemala: Editorial Serviprensa, 1999. 229p.
2. Infectious Diseases. University of Utah Health Sciences Center. Disponible en: www.lasenfermedadesinfecciosas-tuberculosis.html. 1990. Fecha de consulta: junio 2004
3. El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. Madrid: editorial Harcourt, 1994. 3122p. (pp. 140-157).
4. Chin J. El Control de las enfermedades transmisibles. 17. ed. Washington: Informe Oficial de la asociación Estadounidense de Salud Pública (OPS), Doc. Tec. No. 581, 2001. 1345p. (pp. 584-659).
5. Alseda M., Godoy P. Estudio de contactos de enfermos tuberculosos en un área semiurbana. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21:281-286.
6. Aguado J. Tuberculosis. Hospital 12 de Octubre, Madrid. Disponible en : www.seimc.org/procolosclnicos/tuberculosis . 1994. Fecha de consulta: abril 2004.
7. Departamento de Salud y Servicios Humanos. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. CDC. Preguntas frecuentes sobre la tuberculosis. Disponible en <http://www.cdc.gov/nchstp/tb7pubs/pamphlets/getthefacts-esp.html>. 2005. Fecha de consulta: febrero 2005.
8. Jiménez Rodríguez AT. Susceptibilidad antibiótica y perfil genético de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* de pacientes que acudieron al Hospital General San Juan de Dios durante el año 2002. Guatemala: USAC, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 69p.
9. Angeby K. Diagnosis and drug susceptibility testing where resource are scarce. Stockholm: 2004. p987.
10. Simone MP, Dooley SW. Multidrug-Resistant Tuberculosis. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nchstp/tb/pubs/mdrtb/mdrtb.htm> 1994. 53p. Fecha de consulta: mayo 2004.

11. Bernard J., Henry MD. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19.ed. United States: editorial W.B. Saunders Company, 1996. 1555p. (p.1200-11206).
12. Murray RP, et al. Manual of clinical microbiology. 6. ed. Washington: editorial ASM. Press, 1995. 1482p.
13. Acceso computarizado a la salud de New York (NOAH). Qué es la tuberculosis? Disponible en <http://www.noah-health.torg/spanish/illness/TB/spTB.html>. 2001; 20p. Fecha de consulta: marzo 2004.
14. Murria PR, et al. Microbiología Médica. Traducido por Diorki. México:Servicios integrales de Mosby-Doyma libros. 1995. X+725p.
15. Ramírez García, MJ. Identificación de especies de micobacterias aisladas de muestras clínicas de pacientes que acudieron al Hospital General San Juan de Dios. 1988-1989. Guatemala: USAC, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1992. 85p.
16. Moreno S, Cobo J. Las múltiples caras del control de la tuberculosis. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 13-14.
17. Organización Mundial de la Salud. Manual Clínico TB/VIH. Geneva: 2003. 210p. (p. 36-37; 111-119).
18. Mims C, et. al. Microbiología Médica. 2. ed. Madrid: editorial Harcourt Brace, 1999. 584p. (p. 212-215; 430).
19. División de Eliminación de la Tuberculosis. Centro Nacional para la prevención del VIH y TB. Preguntas frecuentes. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nchstp/TB/faqs/qa.html> 2001; 13p. Fecha de consulta: febrero 2005.
20. Programa de atención del niño sano. Anexo XII. Despistaje Tuberculínico. Disponible en <http://www.la rioja.org/web/centrales/salud/anexos/anexo12.html> 2000. Fecha de consulta: febrero 2005.
21. División de Eliminación de la Tuberculosis. Centro Nacional para la prevención del VIH/TB. Que es la tuberculosis. Disponible en: <http://www.cdc.gov.spanish/enfermedades/tb/tbfaq.html> . 2002. Fecha de consulta: febrero 2005.

22. Departamento de Salud y Servicios Humanos. Centros para el Control y prevención de enfermedades. CDC. Que es la prueba de la tuberculina. Disponible en : <http://cpmccolumbia.edu/resources/tbcpp/skintess.html>. 2005. Consulta: febrero 2004.
23. Rivero A, *et al.* Ensayo clínico aleatorizado de tres pautas de quimioprofilaxis para prevenir la tuberculosis en pacientes infectados por VIH con anergia cutánea. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 20: 287-291.
24. Reinero A. Las Micobacterias. Disponible en: <http://rutasalud.com/para-profesionales/profesionales/páginas/5.html>. 1998; 15p. Fecha de consulta: febrero 2005.
25. Koneman EW, *et al.* *Diagnostic Microbiology*. 5. ed. Washington: editorial Lippincott. Vols, 2, Vol. 2. 1997.1395p. (p. 935-937; 893-896; 913).
26. Center for tuberculosis research. Características de las principales drogas contra la tuberculosis. Disponible en : <http://www.hopkins-TB.org/drug/drug-shtml>. 1997. Fecha de consulta: julio 2004.
27. Goodman y Gilman, *et al.* *Las base farmacológicas de la terapéutica*. 8. ed. Buenos Aires: editorial médica panamericana, 1991. 1751p. (p. 1110-1122).
28. Portilla J, *et al.* Tratamiento directamente observado de la infección tuberculosa latente: estudio comparativo de dos pautas de isoniazida. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 293-295.
29. Wyngaarden J, Smith L, Bennett J. *Tratado de Medicina Interna*. Samperio J, trad. 19^a ed. México: Interamericana McGraw Hill. Vols, 2, Vol. 1, 1994. 2878 p. (2020-2023).
30. Paul A, Rhode B. *Manual de procedimientos de laboratorio y productod BBL*. 5ta ed. México, S.A. Director de servicios técnicos Becton Dickinson. 1995.
31. Acción de los agentes físicos sobre la bacterias. Disponible en: <http://209.85.25.104/search?q=cache:ujsonfvx3v4:wwwscielo.org.co/pdf/bio/v24si/v245922>. Fecha de consulta: agosto 2008
32. Microorganism maintenance. Quality assurance challenge microorganisms storage, Technical information buletin. Disponible en: www.microbiologics.com . Fecha de consulta: julio 2008.

33. Evaluation of the nitrate-based colorimetric method for testing the susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to streptomycin and ethambutol in liquid cultures. Disponible en: www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiología/capqa.htm. Fecha de consulta: agosto 2008
34. Determinación de la susceptibilidad a drogas de primera línea en aislamientos de *M. tuberculosis* por la técnica del tubo indicador de crecimiento micobacteriano. Disponible en : <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/full/57/5/987>. Fecha de consulta: julio 2008.
35. Role of emb in natural and acquired resistance to Ethambutol in micobacteria. Disponible en : <http://acc.asm.org/cgi/reprint/41/10/2270>. Fecha de consulta: agosto 2008.
36. Evaluación comparativa del método automatizado Bactec Mgit 960 con el método de las proporciones para determinar susceptibilidad a drogas antituberculosis en Chile. Disponible en : <http://jcm.highwire.org/cgi/reprint/42/11/5225>. Fecha de consulta: julio 2008.
37. Resistencia en *Mycobacterium tuberculosis* durante un periodo de cuatro años en hospital de Madrid. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=50717-73482004000300003&script=sci_arttext. Fecha de consulta: agosto 2008.
38. *Mycobacterium tuberculosis*: Spoligotypes in the carabobo state, Venezuela. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=50716-10182008000500009&script=sci_arttext. Fecha de consulta: agosto 2008.

XII. ANEXOS

ANEXO 1

Cuadro 1. Definición de casos de TB de acuerdo con la OMS dependiendo de la localización de la enfermedad, resultados de bacteriología y estado del tratamiento.

-
- Sospecha de TB. Alguna persona que se presenta con signos sugestivos de TB, en particular con tos durante largo tiempo (más de dos semana).
 - Casos de TB. Pacientes a quien la TB se ha confirmado por bacteriología o diagnosticado por clínica.
 - TB pulmonar. Enfermedad que involucra el parénquima pulmonar, excluyendo linfadenopatía intratoraxica o TB pleural, pero incluyendo TB miliar. Pacientes con crecimiento pulmonar y extrapulmonar la TB es clasificada como un caso de TB pulmonar.
 - TB pulmonar, muestra de esputo positiva. Paciente con por lo menos una de dos muestras positivas de esputo o una muestra de esputo positiva en combinación con un cultivo positivo o rayos X compatibles con TB pulmonar.
 - TB pulmonar , muestra de esputo negativa. Un caso de TB pulmonar que no es incluido en el criterio de muestra positiva de TB pulmonar. Observado con buenas prácticas clínicas, este puede ser incluido en tres muestras de esputo negativas, radiografías anormales consistentes con TB y que no responde a un curso de antibióticos de amplio espectro.
 - Nuevo caso. Paciente que nunca ha recibido tratamiento para la TB o que ha tomado drogas antituberculosas durante el último mes.
 - Caso de recaída. Paciente que previamente fue tratado por TB que se ha declarado curado o completado el tratamiento y es diagnosticado con bacteriología positiva para TB.
 - Falla después del tratamiento. Paciente que ha recibido un retratamiento después de haber fallado el tratamiento previo.
 - Tratamiento después de haber sido suspendido. Un paciente quien retorna al tratamiento después de interrumpirlo por más de dos meses y es positiva la bacteriología.
-

Angeby K. Diagnosis and drug susceptibility testing where resource are scarce. Stockholm: 2004. p987.

ANEXO 2

Cuadro 2. Número de adultos coinfectados (15-49 años) a finales del 2000

| Región | Número de persona coinfectadas con TB/VIH (miles) | % global |
|-----------------------|---|----------|
| Africa | 7979 | 70 |
| America | 468 | 4 |
| Mediterráneo oriental | 163 | 1 |
| Europa | 133 | 1 |
| Sureste de Asia | 2269 | 20 |
| Pacífico oeste | 427 | 4 |
| Total | 11440 | 100 |

Organización Mundial de la Salud (OMS). Manual Clínico TB/VIH. Geneva: 2003; 210p.

ANEXO 3

Cuadro 3. Personas con riesgo de contraer TB.

-
- *Personas con servicios insuficientes
 - *Personas sin hogar
 - *Personas de países en los que la TB es prevalente
 - *Personas que viven agrupadas (asilos, presiones, etc)
 - *Personas que abusan del alcohol
 - *Personas que usan drogas intravenosas
 - *Personas inmunodeprimidas
 - *Personas ancianas
 - *Trabajadores para el cuidado de la salud que están en contacto con poblaciones de alto riesgo.
 - *Personas que viven o trabajan con enfermos de TB
-

Infectious Diseases. University of Utah Health Sciences Center. 1990. Disponible en: www.lasenfermedadesinfecciosas-tuberculosis.html . Fecha de consulta: junio 2004.

ANEXO 4

Cuadro 4. Diferencia entre la infección latente de TB y la enfermedad de TB

La infección latente de TB

- No tienen síntomas
- No se sienten enfermas
- No pueden contagiar a otros
- Generalmente tienen una reacción positiva a la prueba de tuberculina en la piel
- La radiografía del pecho y la prueba de esputo son normales

La enfermedad de TB

- Los síntomas incluyen:
 - Una tos fuerte que dura más de dos semanas
 - Dolor en el pecho
 - Tos con sangre o esputo
 - Debilidad o fatiga
 - Pérdida de peso
 - Falta de apetito
 - Escalofríos
 - Fiebre
 - Sudoración nocturna
 - Es posible contagiar la TB a otros
 - Generalmente tienen una reacción positiva a la prueba de tuberculina en la piel
 - Es posible tener una radiografía del pecho anormal y/o un frotis o cultivo positivo de esputo
-

Schroeder SA. Diagnóstico clínico y tratamiento.4. ed. México: editorial El Manual Moderno, 1992. p1280.

ANEXO 5

Cuadro 5. Indicaciones de la prueba de la tuberculina.

-
- Las pruebas anuales, en grupos de bajo riesgo en comunidades de baja prevalencia no se recomiendan.
 - En niños realizarla en las etapas de la infancia y adolescencia que coinciden con vacunaciones sistemáticas: 12-15 meses, 4-6 años, 12-14 años.
 - La prueba siempre estará indicada en casos de contacto conocido con un enfermo tuberculoso (si la prueba es negativa debe repetirse de 8 a 10 semanas después de la separación del contacto) y siempre que se sospeche enfermedad tuberculosa.
 - Ha estado con una persona con un caso confirmado o de TB o que piensa que pudiera estar enferma de TB
 - Está infectado con el VIH o tiene cualquier otra condición que lo pone en riesgo de enfermarse de TB
 - Cree que puede estar enfermo de TB
 - Es de un país en el cual es muy común la enfermedad de TB (la mayoría de los países en América Latina, el Caribe, África, Asia, Europa Oriental y Rusia)
 - Se inyecta drogas
 - Vive en un lugar en donde la enfermedad de TB es común (la mayoría de los albergues para personas sin hogar, las granjas de trabajo de inmigrantes, prisiones y cárceles, y algunas instituciones para ancianos)
-

Programa de atención del niño sano. Anexo XII. Despistaje Tuberculínico. Disponible en http://www.la_rioja.org/web/centrales/salud/anexos/anexo12.html. 2000. Fecha de consulta febrero 2005.

ANEXO 6

| Cuadro 6. Dosificación de los principales fármacos antituberculosos (mg/kg de peso) | | | |
|---|-----------|--------------------|--------------------|
| Fármaco | Diaria | 2 veces por semana | 3 veces por semana |
| Isoniacida | 5 mg/kg | 15mg/kg | 15 mg/kg |
| Rifampicina | 10 mg/kg | 10 mg/kg | 10 mg/kg |
| Estreptomina | 0.75-1 g* | 0.75-1 g | 0.75-1g |
| Etambutol | 15 g/kg** | 50 mg/kg | 30 mg/kg |

*0.75 mg en mayores de 50 años o si menos de 50Kg de peso
 **25 mg/kg los dos primeros meses

Aguado J. Tuberculosis. Hospital 12 de Octubre, Madrid. Disponible en : www.seimc.org/procolosclnicos/tuberculosis. 1994. Fecha de consulta: abril 2004.

ANEXO 7

| Cuadro 7. Fármacos de segunda linea | |
|-------------------------------------|--------------|
| | Dosis diaria |
| Orales | |
| Etionamida | 15 mg/kg |
| Cicloserina | 15 mg/kg |
| Ofloxacina | 400 mg/12h |
| Ciprofloxacina | 750 mg/12h |
| PAS | 10-12 g |
| Tiazetona | 150 mg |
| Clofamicina | 300 mg |
| Inyectables (IM) | |
| Capreomicina | 15 mg/kg |
| Amikacina | 15 mg/kg |

Aguado J. Tuberculosis. Hospital 12 de octubre, Madrid
 Disponible en: www.seimc.org/protocoloclinicos/tuberculosis. 1994.
 Fecha de consulta: abril 2004.

ANEXO 8

| Tabla 8. Pautas de tratamiento recomendados categoria de diagnóstico según la OMS | | | |
|---|---|--|-----------------------------|
| Categoria | Pacientes con tuberculosis | Pautas de tratamiento | |
| | | Fase inicial | Fase de continuación |
| | | Diario o 3 veces por semana | Diario o 3 veces por semana |
| I | i. Paciente con frote positivo nuevo (caso nuevo). ii. TB pulmonar con frote negativo pero con extensión al parénquima. iii. Formas severas de TB extrapulmonar | 2HRZE | 4HR o 6HE diario |
| II | TB pulmonar previamente tratada con esputo positivo por: recaída, tratamiento fracasado o tratamiento después de interrupción. | 2HRZES/1HRZE | 5HRE |
| III | Nuevas formas de TB pulmonar menos severas | 2HRZE | 4HR o 6HE diario |
| IV | Casos crónicos o casos de MDR-TB (permanecen esputos positivos después de retratamiento supervisados) | no aplicable (Referirse a la guía que la OMS propone según el caso) | |

* H: isoniazida, R: rifampicina, Z: pirazinamida, E: etambutol, S: estreptomina.
Organización Mundial de la Salud (OMS). Manual Clínico TB/VIH. Geneva: 2003; 2

ANEXO 9

| Cuadro 9. Pautas alternativas en el tratamiento de la TB resistente | |
|---|--|
| Resistencia H | 2ZRE/10RE o 2SER/10RE 2SZRE/7RE |
| Resistencia Z | 2ERZ/7RE |
| Resistencia R | 2ZHE/16HE o 2SHE/16HE |
| Resistencia RH | 3SZE/ZE |
| Resistencia SH | 2ZRE/10RE |
| Resistencia múltiple | individualizar consultar a centros especializados |

Aguado J. Tuberculosis. Hospital 12 de octubre, Madrid.
 Disponible en: www.seimc.org/protocolosclínicos/tuberculosis. 1994.
 Fecha de consulta: abril 2004.

ANEXO 10

Cuadro 10. escala de concordancia de Kappa

| Kappa | Concoradancia |
|-----------|---------------|
| <0.00 | malo |
| 0.00-0.20 | pobre |
| 0.21-0.40 | sufrible |
| 0.41-0.60 | regular |
| 0.61-0.80 | buena |
| 0.81-0.99 | optima |
| 1.00 | perfecta |

Manual de Epidimiología. Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacia. 2006.