

RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTITUBERCULOSOS EN CEPAS AISLADAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Dra. MSc. Carmen Rodríguez Acosta
Profesor Auxiliar
Hospital Neumológico “Benéfico Jurídico”

Dr. Jorge Luis Martínez Pérez
Profesor Asistente
Facultad de Ciencias Médicas Dr. Salvador Allende

El resurgimiento de la tuberculosis a partir de los años 80, ha tenido, dentro de los factores fundamentales que lo provocaron, la emergencia de la drogo-resistencia

Por suerte para la especie humana, *Mycobacterium tuberculosis* solo adquiere resistencia por mutación, hecho que facilita enormemente la posible lucha contra este problema

Además la mutación que más frecuentemente se expresa fenotípicamente, la resistencia a ISONIACIDA (H), es ligada a un gen (katG) que también codifica actividades enzimáticas (catalasa y peroxidasa), básicas para la supervivencia y virulencia del microorganismo

Resistencia natural es aquella que presentan las cepas salvajes como fruto de su multiplicación continua

Solo se expresa fenotípicamente cuando es seleccionada por los fármacos

La mutación natural únicamente se inicia a partir de una población 10^5 , por lo que un solo fármaco es capaz de eliminar poblaciones bacilares menos numerosas

Este es el fundamento de la monoterapia en la quimioprofilaxis con H, para la que solo aparecen mutantes resistentes por encima de esta cifra

Resistencia adquirida ó secundaria es la provocada por tratamientos incorrectos que eliminan la población sensible y permiten la selección-multiplicación de los mutantes resistentes

Resistencia primaria o inicial aparece en enfermos que niegan tratamientos anteriores y que es contagiado por un paciente portador de una resistencia adquirida. Se considera que un tratamiento menor de un mes es insuficiente para que aparezcan las mutantes resistentes naturales

Resistencia múltiple ó multidrogo-resistencia (MDR), es cuando un enfermo presenta resistencia, al menos, a ISONIACIDA (H) y RIFAMPICINA (RMP)

Por tanto las resistencias en Tb son un fiel reflejo de una mala práctica en el tratamiento de la enfermedad y la resistencia adquirida es una consecuencia directa de las malas terapéuticas. La resistencia primaria es solo una clara evidencia de la transmisión de las cepas resistentes que existen en la comunidad

Tabla 1
Fármacos antiTb y tasas de mutación

Fármaco de primera línea	Tasa de mutación
Isoniacida (H)	$1/10^6$
Rifampicina (RMP)	$1/10^{8-9}$
Pyrazinamida (PZA)	$1/10^{3-4}$
Etambutol (EMB)	$1/10^6$
Estreptomina (S)	$1/10^6$

Tabla 2

Fármacos antiTb y tasas de mutación

Fármacos de segunda línea	Tasa de mutación
Protionamida	$1/10^3$
Cicloserina	$1/10^3$
Capreomicina	$1/10^3$
Clorfazimina	$1/10^4$
Ofloxacino	$1/10^{6-8}$

La probabilidad de una doble mutación frente a 2 drogas exige la suma de 2 potencias, y la de 3 para 3 drogas

Esta población microbiana no puede alojarse en el cuerpo humano, cuyas lesiones no exceden de 10^9 - 10^{10} bacilos

Tabla 3
Población bacilar según tipo lesional

Infección latente ó subclínica	$< 10^5$
Masa caseosa sólida	$\geq 10^5$
TB piel, ganglio, pleura, meninge	10^2-10^5
TB renal	10^5
TB osteoarticular	10^6-10^8
Caverna	10^7-10^9

POBLACIONES DE BACIOS DEL ENFERMO DE TUBERCULOSIS

1. Extracelular: Muy numerosa ($>10^8$) y metabólicamente activa. Determina la gravedad y el contagio. Es la que tiene mayor número de mutantes resistentes. Aquí radica el riesgo de fracaso terapéutico, cuando la quimioterapia es incorrecta. Actúa sobre ella INH, RMP, SM, ETB

POBLACIONES DE BACILOS DEL ENFERMO DE TUBERCULOSIS (cont)

- 2. En el interior de las lesiones caseosas:
Extracelulares con multiplicación intermitente, con bajas tensiones de O₂. (<10⁵)
Actúan RMP y INH**
- 3. Intracelulares: en zonas inflamatorias activas a pH ácido. Bacilos durmientes. (<10⁵ bacilos).
Actúa PZ**

Diagnóstico Microbiológico

- **Identificación del microorganismo**
- **Pruebas de susceptibilidad a las drogas antituberculosas**

Pruebas de Resistencia

Indicaciones

- 1. Encuestas nacionales (Vig. Epidem.)**
- 2. Con fines clínicos**
- 3. Casos de retratamiento**
- 4. Estudios de investigación**

Los métodos de Antibiograma sobre medio sólido, se desarrollaron en la década del 60

No se volvieron a encontrar avances significativos hasta la década de los 80, con la llegada del **BACTEC**

A partir de ese momento, debido a la epidemia del SIDA y la necesidad de detectar lo más rápidamente posible la resistencia de estos enfermos, aparecen toda una serie de métodos novedosos y más rápidos

Los estudios de la sensibilidad del **Mycobacterium tuberculosis** pueden realizarse por técnicas **fenotípicas** o **genotípicas**

Técnicas fenotípicas

I. En medio sólido:

1. Método de las Proporciones en Lowenstein Jensen (Canetti, Rist y Grosset). Recomendado para los países de escasos o medianos recursos
2. Sensibilidad en medio 7H10 ó 7H11 de Middlebrook (semisintético)
3. Sistema E-Test

Técnicas fenotípicas

II. En medio líquido:

Resultados más rápidos, manipulación sencilla, elevado costo, uso de materiales radiactivos

1. Sistema BACTEC 12B: es una adaptación al medio líquido del método de las Proporciones. Único evaluado y validado. Ampliamente utilizado en países industrializados

Técnicas fenotípicas

II. En medio líquido: (cont)

2. Otros sistemas líquidos: ESP II, MB-BacT, MGIT, BACTEC9000MB, Métodos de microdiluciones en caldo, etc, ninguno de ellos suficientemente validados

Técnicas fenotípicas

III. Estudios de sensibilidad por nuevas tecnologías (aún sin evaluación, no suficientemente validadas)

1. **Luciferase reporter phage assay** (utiliza micobacteriofagos que expresan el gen luciferasa y tras adicionar un sustrato de lucifrina, emiten fotones de luz)
2. **Sistema PhaB** (phage amplified biologically)
3. **Citometría de flujo**

Técnicas genéticas

El fundamento es realizar millones de copias idénticas de una secuencia de AN específica y conocida. Técnicas muy rápidas y altamente sensibles

Grandes inconvenientes:

- Requiere disponibilidad de infraestructura costosa en material y tiempo, lo que reduce su uso a laboratorios de investigaciones de países industrializados

Técnicas genéticas

Grandes inconvenientes: (cont)

- Falsos negativos por la interferencia que ocasiona la presencia de sustancias inhibidoras de la reacción, sobre todo en muestras extrapulmonares
- Interpretación clínica de un resultado positivo (1-5%)

**Resultados de las pruebas de resistencia
realizadas en el Laboratorio del Hospital
Neumológico Benéfico Jurídico en los
últimos 5 años (2001-2005)**

Tabla 1

Sensibilidad de las cepas estudiadas frente a las drogas antibacilares. 2001-2005

Cepas	Nº	%
Sensibles	446	87.8
Resistentes	62	12.2
Total	508	100

Tabla 2

Clasificación de la resistencia de las cepas estudiadas. 2001-2005

Resistencia	Nº	%
Primaria/Inicial	34	54.9
Adquirida	28	45.1
Total	62	100

Tabla 3

Cepas resistentes según tipo de fármaco.
2001.2005

Fármacos	Nº de cepas	%
Isoniacida (H)	8	12.9
Estreptomycina (S)	24	38.7
Etambutol (EMB)	2	3.2
H-S	10	16.2
H-S-Et	1	1.6
H-S-Th-EMB	1	1.6
S-Th-EMB-PAS	1	1.6
Total	47	75.8

n: 62

Tabla 4:
Cepas MDR según tipo de fármaco.2001-2005

Fármacos	Nº de cepas	%
H-S-EMB-RMP	5	8.1
H-S-Et-RMP	2	3.2
H-RMP	3	4.9
H-S-RMP	1	1.6
H-S-Et-PZA-RMP	1	1.6
H-Th-EMB-RMP	1	1.6
H-S-Th-EMB-RMP	1	1.6
H-S-Th-RMP	1	1.6
Total	15	24.2

n: 62

Resumiendo

- ☑ Resistencia significa que el enfermo NO responderá al tratamiento como lo hace el enfermo con bacilos sensibles
- ☑ La resistencia adquirida, por ser cromosómica, es definitiva e irreversible, lo que invalida el fármaco durante toda la vida del enfermo

Resumiendo

- ☑ La resistencia adquirida significa una importante sobrecarga en América Latina para los PNC de la Tuberculosis
- ☑ La resistencia primaria proviene de la resistencia adquirida
- ☑ Es necesario mentalizar al paciente de que es vital el estricto cumplimiento del tratamiento

Resumiendo

- ☑ Existe una buena correlación entre los resultados clínicos y bacteriológicos y la información que proporcionan las pruebas de sensibilidad in vitro
- ☑ Es necesario implementar todas las medidas necesarias para ganar la batalla de la resistencia porque “incluso para países con recursos ilimitados, se tarda menos en generar 10-50-100 casos de TB-MDR, que en curar uno solo”