

Juan Bautista Gutiérrez-Aroca
Pilar Ruiz
Manuel Casal

Resistencias a fármacos en *Mycobacterium tuberculosis*

Servicio de Microbiología Hospital Universitario Reina Sofía. Centro de Referencia para el Control de la Tuberculosis. Córdoba

RESUMEN

La resistencia a fármacos en tuberculosis no es un problema nuevo, pero la resistencia múltiple a los fármacos, despierta cada día más interés. Nuestro estudio consistió en investigar las resistencias a fármacos de las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas en nuestro hospital Universitario que funciona como centro de referencia para el control de la tuberculosis en Andalucía, en el periodo 2001-2010. Hemos estudiado las resistencias en 650 cultivos frente a los fármacos de primera y línea usando el sistema BACTEC MGIT 960. Detectamos resistencias a 1ª línea en 142 cepas, (21,85%). De estas cepas la mayor resistencia se detectó isoniazida (7,38%) seguida de rifampicina y estreptomycin (3,85%), pirazinamida (2%), y etambutol (1,23%). En el caso de las cepas multirresistentes (MDR), estos valores son del 2%. Se encontró una cepa con resistencia a los cuatro fármacos. Las resistencias detectadas, aconsejan una vigilancia de las resistencias a los fármacos en tuberculosis.

PALABRAS CLAVE: tuberculosis, resistencias, *Mycobacterium*

Antimicrobial resistance in tuberculosis

ABSTRACT

Although drug resistance in tuberculosis is by no means a new problem, multiple drug resistance is a cause of increasing concern. This study investigated first-line drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in a hospital environment and strains submitted as the Reference Center from 2000 to 2010. A total of 650 cultures were tested against first-line using the BACTEC MGIT 960 system. Resistance to first-line drugs was detected in 142 strains, (21.85%). A total of 2%

were multiresistant (MDR). Of the strains resistant to first-line drugs, the greatest resistance was found to isoniazid (7.38 %) followed by rifampin and streptomycin (3.85%), pyrazinamide (2%), and ethambutol 1.23%. Only one strain was resistant to four drugs. Values. In view of the resistance observed, careful surveillance of drug resistance is recommended.

Keywords: tuberculosis, resistance, *Mycobacterium*

INTRODUCCIÓN

El problema de la resistencia a fármacos en tuberculosis reaparece en la actualidad con gran interés¹⁻⁴. Se calcula que alrededor de 50 millones de personas pueden estar infectadas por el bacilo de la tuberculosis farmacorresistente. En el año 2008 se estimaron por la OMS unos 440.000 casos de tuberculosis resistente a fármacos.

No obstante, hemos de recordar que la resistencia en tuberculosis no es un fenómeno nuevo, sino que ha ido variando a lo largo de los años según los fármacos que se hayan ido usando en el tratamiento de la enfermedad⁵.

Así, desde los años 1950 en que se introdujeron los primeros fármacos en el tratamiento de la tuberculosis, comenzó a observarse la aparición de resistencia a estreptomycin si se empleaba en monoterapia, lo que se confirma por la resistencia que se observaba en el laboratorio.

Para obviar este problema se asociaron el tratamiento ácido para-amino-salicílico (PAS) e isoniazida, que en periodos de 18 a 24 meses obtenían la curación de la mayoría de los enfermos con estos fármacos, que no habían sido tratados previamente y controlados en su toma de medicamentos por ingreso en hospitales o sanatorios.

En los años 1960, de la industrialización, se produjo un cierto exceso de confianza y relajación en las normas, lo que unido a que muchos tratamientos hicieron extrahospitalariamente sin control supervisado, trajo como consecuencia la aparición de resistencias a isoniazida, que llegó a ser problemática en algunas regiones. Así se desarrolló una resistencia adquirida a veces a isoniazida y estreptomycin, que fue la primera multirresistencia importante, ya que estos casos contagiaban

Correspondencia:
Manuel Casal.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba (España)
Teléfono: 957 010432 : FAX: 957218229
E-mail: mi1carom@uco.es

a nuevas personas que aparecían con resistencias iniciales en tuberculosis.

La resistencia a isoniazida y estreptomycinina fue produciendo enfermos crónicos que no se morían, pero incrementaban la farmacoresistencia en el ambiente ecológico.

De nuevo esta etapa se superó en los años 1970 gracias al uso de rifampicina y pirazinamida, que posibilitan la utilización de regímenes cortos de seis a nueve meses, que con tratamiento supervisado consiguieran la curación de casos inicialmente resistentes a isoniazida.

En la década siguiente de los años 1980, por un exceso de confianza en la eficacia teórica de los regímenes existentes de tratamiento, la falta de recursos dedicados a esta enfermedad y falta de atención sanitaria, aparte de otras causas añadidas, como la emigración, el SIDA, la drogadicción, etc., aparece otro tipo de resistencia a la rifampicina y mucho más peligrosa sanitariamente, que es la resistencia al menos a isoniazida y rifampicina, los dos fármacos más útiles en el tratamiento de la tuberculosis, rebautizado de nuevo con el término de multiresistencia (MDR) que sigue estando hoy de lamentable actualidad con 150.000 muertes al año y de los que se estima por la OMS que sólo se diagnostica un 7 % del total⁶⁻¹⁰.

En el año 2006 hemos sufrido la aparición de otro tipo de tuberculosis ampliamente resistente a fármacos (XDR TB) que se definió originariamente por los CDC de EEUU¹¹, como aquella en la que aparecía resistencia a los fármacos de primera línea como rifampicina e isoniazida (MDR) y a tres de las seis familias de fármacos usuales de segunda línea de tratamiento, a saber: aminoglucosidos, polipéptidos, fluorquinolonas, tioamidas, cicloserina y PAS.

Posteriormente la OMS la redefinió como aquella en la que aparece resistencia a rifampicina e isoniazida (MDR) y además alguna quinolona y alguno de los tres fármacos de segunda línea inyectables, comúnmente usados como: amikacina, capreomicina o kanamicina¹².

En cualquier caso este tipo de tuberculosis de resistencia amplia no sólo a fármacos de primera sino también de segunda línea (XDR TB) es sumamente preocupante por su elevada mortalidad del 30% al 100%.

Actualmente se estima que pueden existir al menos unos 30.000 casos al año, con un total de unos 180.000 casos de este tipo de XDR TB, repartidos por más de 58 países en todo el mundo en los que se han detectado.

Otra forma de tuberculosis resistente que recientemente se ha denominado XXDR TB o TDR TB sería la extremadamente o totalmente resistente a todos los posibles fármacos de primera y segunda línea¹³.

Hasta hace poco los sistemas para detectar las resistencias a fármacos de segunda línea eran lentos con medio sólido o usaban compuestos radioactivos. En la actualidad se ha desarrollado un sistema de medio líquido más rápido y no radiométrico¹⁴.

El objetivo de este trabajo ha sido investigar el grado de resistencias a fármacos antituberculosos en las cepas de *M.*

tuberculosis estudiadas durante los años 2001 a 2010 en el Hospital Universitario Reina Sofía, Centro de Referencia para el Control de la tuberculosis en Andalucía, como continuación de otra investigación anterior realizada por nosotros de 1986 a 1998 y publicada en esta misma revista.

MATERIAL Y MÉTODOS

Nuestro estudio comprende un periodo de 10 años (2001-2010), en el que se procesaron 43.402 muestras clínicas de pacientes con alguna sospecha de tuberculosis. De éstas fueron diagnosticados como tuberculosos 650, a los que se le hizo el antibiograma de fármacos de 1ª línea.

Cada muestra clínica fue descontaminada utilizando una solución de NaCl-NaOH e inoculándolas en tubos de medio líquido de Middlebrook 7H9 del Sistema Bactec 960 Tb MGIT, (Becton-Dickinson, Sparks, USA) suplementados con PANTA (polimixina B, anfotericina B, ácido nalidixico, trimetoprim y azlocilina) y OADC (ácido oleico, albumina, dextrosa y catalasa). También las muestras fueron sembradas en Lewenstein-Jensen y M. de Coletsos. Aquellos cultivos positivos, se procedió a la identificación previa confirmación por la tinción de Ziehl-Neelsen.

La identificación se llevo a cabo mediante las sondas de hibridación Accu-Probe (San Diego, California USA). A continuación todas las *Micobacterias* tuberculosas se les realizó el antibiograma.

Para la realización de este estudio de resistencias se ha utilizado el BACTEC 960 TB. Los antituberculosos utilizados han sido: estreptomycinina, rifampicina, etambutol, isoniazida y pirazinamida en polvo liofilizado en viales comercializados. Una vez reconstituidos se añaden 0,1 ml de cada antituberculoso a los viales con el medio de Middlebrook 7H12, a continuación se le añade el inóculo con la cepa a probar, a partir de un cultivo en medio de Loewenstein-Jensen. Los viales se incuban a 37°C leyéndose diariamente hasta alcanzar el índice de crecimiento necesario para su interpretación¹⁵⁻¹⁶.

RESULTADOS

A todos los pacientes con tuberculosis (650), se les realizó el antibiograma a fármacos de 1ª línea; de éstos 508 fueron sensibles a estos fármacos, resultando 142 resistentes a alguno o a varios fármacos, lo que representa un 21,85% de resistencias totales, que se expresan en la tabla 1.

La mayor resistencia la presentó la Isoniazida con un 7,38% del total, seguida de estreptomycinina y rifampicina con un 3,85% ambas, pirazinamida un 2% y por último etambutol con un 1,23%. Sólo hubo 1 cepa que fue resistente a estreptomycinina, rifampicina, etambutol e isoniazida. Respecto a la multiresistencia (MDR) (rifampicina + isoniazida) hubo un 2%.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados de resistencias totales, un 21,85%, parecen elevados comparándolos con la mayoría de los estudios

Tabla 1 Número de cepas y porcentaje (n/%) de resistencia de *M. tuberculosis* en el Hospital Universitario Reina Sofía.

Resistencia	Años										
	(número de test)										
	2001 (68)	2002 (79)	2003 (60)	2004 (50)	2005 (65)	2006 (60)	2007 (69)	2008 (73)	2009 (73)	2010 (53)	TOTAL (650)
a) A 1 ATM											
SM	1/1,47%	-	-	-	3/4,61%	1/1,66%	4/5,79%	4/5,47%	7/9,58%	5/9,43%	25/3,85%
RF	2/2,94%	2/2,53%	3/5,00%	3/6,00%	7/10,76%	3/5%	1/1,44%	3/4,10%	-	1/1,88%	25/3,85%
EB	1/1,47%	-	-	2/4,00%	1/1,53%	-	-	2/2,73%	1/1,36%	1/1,88%	8/1,23%
INH	4/5,88%	1/1,26%	2/3,33%	3/6,00%	9/13,84%	4/6,66%	5/7,24%	6/8,21%	6/8,21%	8/15,09%	48/7,38%
PZ	-	-	-	1/2,00%	3/4,61%	-	4/5,70/	1/1,36%	2/2,73%	2/3,77%	13/2%
b) A 2 ATM											
SM + RF	-	-	-	-	1/1,53%	-	-	2/2,73%	-	-	3/0,46%
SM + EB	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1,36%	-	1/0,15%
SM + INH	-	-	-	-	-	-	1/1,44%	-	-	-	1/0,15%
INH + PZ	-	-	-	-	-	-	-	1/1,36%	-	1/1,88%	2/0,31%
RF + EB	-	-	-	1/2,00%	-	-	-	-	-	-	1/0,15%
RF + INH	-	1/1,26	2/3,33%	2/4,00%	2/3,07%	2/3,33%	-	-	-	1/1,88%	10/1,53%
EB + INH	-	-	-	1/2,00%	-	-	-	-	-	-	1/0,15%
c) A 3 ATM											
SM+EB+INH	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1,36%	-	1/0,15%
RF+INH+PZ	-	-	-	-	2/3,07%	-	-	-	-	-	2/0,31%
d) A 4 ATM											
SM+RF+EB+INH	1/1,47%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/0,15%
TOTAL	9/13,23%	4/5,06%	7/11,66%	13/26,00%	28/43,07%	10/16,66%	15/21,73%	19/26,02%	18/24,65%	19/35,85%	142/21,85%
Multiresist. (MDR)	1/1,47%	1/1,26%	2/3,33%	2/4,00%	4/6,15%	2/3,33%	-	-	-	1/1,88%	13/2%

ATM: antimicrobiano; SM: estreptomicina; RF: rifampicina; EB: etambutol; INH: isoniazida; PZ: pirazinamida.

consultados: León, Lorca, Madrid, Sagunto, C.A. Castilla-León, I.S. Carlos III¹⁷⁻²³ no pasaron de un 14%, salvo en el Hospital La Princesa de Madrid, que son muy superiores 21,3%¹⁹.

Respecto a la multiresistencia MDR en este estudio obtuvimos un 2%, sensiblemente inferior a otros estudios anteriores que no bajaban de un 5,8%²⁴. En los estudios citados con anterioridad eran iguales o inferiores al nuestro¹⁷⁻²³. En un estudio consultado de 6 años (2001-2006) hecho en Lisboa, la MDR está más elevada (12,13%)²⁵ y en otro a nivel de Portugal también está más del doble que el nuestro 5,9%²⁶.

Respecto a las resistencias individuales vemos que estreptomicina presenta unas cifras similares en los estudios consul-

tados¹⁷⁻²³ salvo el Hospital La Princesa que fueron de 16,9%, y pirazinamida, que fue del doble 4%¹⁹; el resto de los fármacos presentaron unas resistencias similares a los estudios consultados. En nuestros países vecinos, Portugal y Francia²⁶⁻²⁷ encuentran cifras más elevadas para estreptomicina 7,6% y 8,6%, respectivamente, también para isoniazida están más elevados (2,6% y 7%), mientras que para rifampicina son similares (0,6% y 1,5%).

Si observamos la tabla 1 vemos que, en general, van aumentando las resistencias totales, sobre todo para isoniazida, estreptomicina o pirazinamida, mientras que bajan para rifampicina y se mantienen para etambutol. En las resistencias asociadas a varios fármacos, nosotros encontramos un caso

Tabla 2 Porcentaje (%) de resistencia de *M. tuberculosis* en diversos estudios españoles.

Antimicrobiano	Estudio						
	León ²¹	Lorca ²²	Madrid ²³	Madrid ¹⁹	Sagunto ¹⁸	Castilla-León ¹⁷	I.S. Carlos III ²⁰
SM	0,7	0,6	2,3	16,9	6,5	1,2	2,2
RF	3,8	1,2	-	2,5	2,6	0,3	0,4
EB	0,7	1,2	0,4	3,3	3,9	0,1	0,4
INH	5,0	5,0	4,5	7,4	3,9	3,2	3,3
PZ	-	-	0,4	4,0	---	0,5	0,4
MDR	2,7	0,6	5,4	3,4	0	0,1	2,2
Totales	6,5	6,3	14	21,3	14	4,2	9,8

SM: estreptomicina; RF: rifampicina; EB: etambutol; INH: isoniazida; PZ: pirazinamida; MDR: multirresistencia

resistente a streptomycin, rifampicin, ethambutol and isoniazid while in our review no one appears.

Como conclusión podemos decir que nuestros resultados son similares a los obtenidos en distintas Comunidades Autónomas y por debajo a nuestros países vecinos, Portugal y Francia. También resaltar que nuestros resultados de resistencias están en general, en descenso, en comparación a las cifras de otros estudios nuestros anteriores. Esto pensamos pueda deberse por la realización de un diagnóstico precoz de la enfermedad, más rápidos, y de una mejor atención clínica con una monitorización de los pacientes de una forma continuada, así como un mejor cumplimiento de los tratamientos con fármacos en asociación.

A la vista de las cifras de resistencia a fármacos encontradas se nos presenta, sin duda, una vez más, hoy, en el siglo XXI un nuevo desafío de la tuberculosis para superar los nuevos fenómenos de resistencias aparecidos en *M. tuberculosis*, hecho este que como ya vimos, empezó a ocurrir en los años 1950 con el desarrollo y uso de los primeros fármacos para combatirla.

Para luchar contra este fenómeno reemergente de la resistencia a fármacos antituberculosos y que no vuelva a repetirse, tendríamos de una vez por todas, de manera definitiva mejorar la rapidez y precisión en el diagnóstico microbiológico en todos los casos, con mejores sistemas, que permitan reducir el tiempo de diagnóstico de días o semanas a horas, así como desarrollar nuevas vacunas y nuevos fármacos más eficaces sin resistencias cruzadas y que permitan reducir el tiempo de tratamiento de meses a días y todo ello orientados por unas pruebas de sensibilidad a fármacos lo más rápidas posibles.

BIBLIOGRAFÍA

- Rider HL. Drug resistant tuberculosis issues in epidemiology and challenges for public health. *Tubercle and Lung Diseases* 1993; 75: 321-3.
- Small PM, Shafer RE, Hopecuwel PC. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *New Engl J Med* 1993; 328: 1137-44.
- Dooley SW, Jarvis WR, Martona WJ, Snider DE Jr. Multidrug-resistant tuberculosis. *Ann Intern Med* 1992; 117: 257-59.
- Busillo CP, Lessnau KD, Sanjana V, Soumakis S, et al. Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with human immunodeficiency virus infection. *Chest* 1992; 102: 797-801.
- Kochi A, Varelz B, Styblo K. Multidrug-resistant tuberculosis and its control. *Res Microbiol* 1993, 114: 104-10.
- Jacobs RF. Multiple drug tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 1-10.
- Casal M, Vaquero M, Rinder H, Tortoli E, Grosset J, Gutiérrez-Aroca JB, et al. A Case-Control Study for Multidrug-Resistant Tuberculosis Risk Factors in Four European Countries. *Microbial Drug Resistance* 2005; 11: 62-7.
- Edlin BR, Tokars JI, Grieco MH, Crawford JT, Williams J, Sordillo EM et al. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalised patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *New Engl J Med* 1992; 326: 514-21.
- Fischl MA, Uttamchandani RB, Daikos GL, Poblete RB, Moreno JN, Reyes RR, et al. An outbreak of tuberculosis caused by multiple-drug-resistant tubercle bacilli among patients with HIV infection. *Ann Intern Med* 1992; 117:177-83.
- Pearson ML, Jereb JA, Frieden TR, Crawford JT, Davis BJ, et al. Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: A risk to patient and health care workers. *Ann Intern Med* 1992; 117:191-6.
- CDC. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs -- Worldwide, 2000--2004. *MMWR* 2006; 55:301-5.
- WHO Global Task Force outlines measures to combat XDR-TB worldwide. 2006 Geneva.
- Migliori GB, Lodenkemper R, Blasi F, Raviglione MC. 125 years after Robert Koch's discovery of the tubercle bacillus: the new XDR-TB threat. Is "science" enough to tackle the epidemic?. *Eur Respir J* 2007; 29: 423-7.
- Rüsch-Girds S, Pfyffer G, Casal M, Chadwick M, and Siddiqui S. Multicenter Laboratory Validation of the BACEC MGIT 960 Tech-

- nique for Testing Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* to Classical Second-Line Drugs and Newer Antimicrobials. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 688-92.
15. Heifets IB, Cangelosi GA. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*: A neglected problem at the turn of the century. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 564-80.
 16. Ruiz P, Gutiérrez J, Rodríguez-Cano F, Zerolo FJ, Casal M. Activity of Rifampina against *Mycobacterium tuberculosis* in a Reference Center. *Microbial Drug Resistance* 2004; 10: 239-42.
 17. Alberte-Castiñeiras A, Campos-Bueno A, Lopez-Urrutia L, Alvarez-Alonso E, Megías G, Ojeda-Fernandez E, et al. Resistencias a fármacos de *Mycobacterium tuberculosis* en la Comunidad de Castilla y León (España), 2001-2005: tercer estudio multicéntrico. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28: 706-9.
 18. Aragón Galindo M, Belda Mira A, Albert Contell A, Serra Sanchis B, Amorós Quiles I, Prat Fornells J, et al. Resistencias de *Mycobacterium tuberculosis* en el área del Hospital de Sagunto desde 1999 al 2004. *Rev Clin Esp* 2006; 206: 376-81.
 19. Aznar E, Domingo D, Abanades E, García-Peñuela E, López-Brea M. Resistencia en *Mycobacterium tuberculosis* durante un periodo de cuatro años en un hospital de Madrid. *Rev Esp Quimioter* 2005; 18: 222-5.
 20. Jiménez MS, Casal M. Situación de las resistencias a fármacos de *Mycobacterium tuberculosis* en España. *Rev Esp Quimioter* 2008; 21: 22-5.
 21. Remacha Esteras MA, Parra Parra I, Esteban Martín A, Blanco Mercadé MD. Resistencias de *Mycobacterium tuberculosis* en un hospital de León. *Rev Esp Quimioter* 2003; 16: 455-6.
 22. Ruiz López FJ, Zarauz García JM, Ortiz Romero MM, Valero Martines JR, Peñalver Mellado C, Sánchez Gascón F, et al. Tuberculosis en la comarca de Lorca: adaptarse o resistir. *An Med Interna* 2006; 23: 321-5.
 23. Sanz Barbero B, Blasco Hernández T. Situación actual de las resistencias de *Mycobacterium tuberculosis* en la población inmigrante de la Comunidad de Madrid. *Arch Bronconeomol* 2007; 43: 324-33.
 24. Casal M, Gutiérrez J, Ruiz P. Estado actual de la resistencia múltiple a fármacos en la tuberculosis. *Rev Esp Quimioter* 2000; 13: 167-70.
 25. Perdigão J, Macedo R, Silva C, Pinto C, Furtado C, Brum L, et al. Tuberculosis drug-resistance in Lisbon, Portugal: a 6-year overview. *Clin Microbiol Infect* 2010; 17:1397-402.
 26. Furtado C, Brum L. Laboratory surveillance of drug resistance tuberculosis in Portugal in 2000-2001. *Rev Port Pneumol* 2003; 9: 279-91.
 27. Meyssonnier V, Veziris N, Bastian S, Texier-Maugein J, Jarlier V, Robert J. Increase in primary drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in younger birth cohorts in France. *J Infect* 2012; 64:589-95.