

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE HONDURAS

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

RESISTENCIA PRIMARIA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

AI SLADO DE PACIENTES VIRGENES DE TRATAMIENTO

T E S I S

MARIA LUISA ESCOTO B.

589.92
E74
C.2

NOVIEMBRE, 1973

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE HONDURAS

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

RESISTENCIA PRIMARIA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

AISLADO DE PACIENTES VIRGENES DE TRATAMIENTO

T E S I S

PRESENTADA POR

MARIA LUISA ESCOTO B.

PARA OPTAR AL TITULO DE

LICENCIADA EN MICROBIOLOGIA Y QUIMICA CLINICA

TEGUCIGALPA, D. C.

HONDURAS, C. A.

NOVIEMBRE, 1973



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE HONDURAS
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

RECTOR: LIC. JORGE ARTURO REINA
SECRETARIO GENERAL: LIC. RENE ALIRIO MURILLO

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

JUNTA DIRECTIVA

DECANO: DR. JUAN ALMENDARES B.
VICE-DECANO DR. DAGOBERTO ESPINOSA M.
SECRETARIO: DR. PABLO CAMBAR
PRO-SECRETARIO : LIC. MARIA LUISA DE SOLORZANO
VOCAL: DR. FRANCISCO ALVARADO
VOCAL: DR. CARLOS GODOY ARTEAGA
VOCAL: BR. SALVADOR VILLATORO
VOCAL: BR. LUIS RODOLFO SORTO
VOCAL: BR. GUILLERMO AYES
VOCAL: BR. WILFREDO ALVARADO

T E R N A E X A M I N A D O R A

DOCTOR: FELIPE BEKKER

DOCTOR: VIRGILIO CARDONA

DOCTOR: DANIEL MENCIA

D E D I C A T O R I A

A MI MADRE Y A MI HIJO

A MIS HERMANAS Y DEMAS FAMILIARES

A MIS CATEDRATICOS

C O N T E N I D O

INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODO.....	10
RESULTADOS.....	20
DISCUSION.....	30
CONCLUSIONES.....	34
RESUMEN.....	36
BIBLIOGRAFIA.....	38

I N T R O D U C C I O N

Para comprender mejor el fenómeno de la resistencia de Mycobacterium tuberculosis a los agentes quimioterapéuticos empleados corrientemente en el tratamiento de la tuberculosis se analizará desde un punto de vista teórico y práctico a la vez, porque si bien es verdad que es posible reproducirlo en el laboratorio, su real importancia se observa en la práctica, cuando a raíz del tratamiento de los enfermos entran en juego los factores huésped, germen y drogas.

Aspecto Teórico

Al descubrirse los primeros antibióticos antituberculosos se pensó que sería posible destruir la especie microbiana que produce la enfermedad. Olvidando que toda especie biológica cuenta con mecanismos defensivos con los que evita su extinción. Así ha sucedido con M. tuberculosis que rápidamente puso en juego uno de estos mecanismos, lo que se tradujo en la creación de la resistencia a los antibióticos.

Qué es la resistencia? Es un fenómeno biológico que permite al germen escapar a la acción del antibiótico, sobrevivir y multiplicarse. Hasta ahora se conocen 3 mecanismos que las especies microbianas utilizan para lograr escapar a la acción de los antibióticos ellos son:

1. La adaptación, que permite al germen sobrevivir en el medio adverso con quimioterápico, gracias a la producción de enzimas que contrarrestan la acción de la droga.

El caso típico es la producción de penicilinasas por algunas especies microbianas con la cual inactivan la penicilina y logran sobrevivir, a pesar del antibiótico.

2. Otro fenómeno que se ha descrito entre las enterobacterias, pero que aún no se ha observado en las mycobacterias, es el

paso directo de la condición de resistencia desde un germen sensible a uno resistente a través de un llamado Factor de transferencia

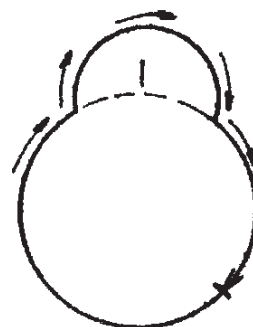
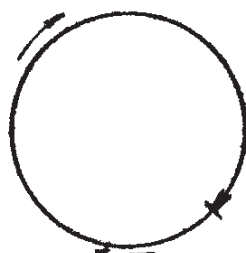
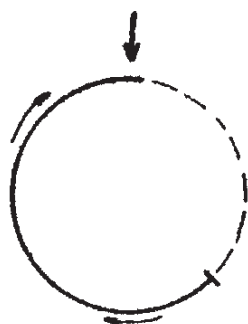
3. El mecanismo más conocido como causa de la aparición de resistencia en una cepa de M. tuberculosis, es el llamado de la mutación selección que se detalla a continuación:
 - a) La base de éste mecanismo reside en la existencia en toda la población salvaje o silvestre de M. tuberculosis de una pequeña proporción de individuos bacilares que por mutación han adquirido la condición de resistir a la acción de un antibiótico determinado.
 - b) Cepas silvestres o salvajes son aquellas que jamás han estado en contacto con antibióticos, y de ello se desprende que en estos cambios genéticos bruscos llamados mutación, nada han tenido que ver los antibióticos.
 - c) Sabemos que estos individuos aberrantes originados por la mutación en cualquier especie, por lo general mueren por no poder adaptarse a las condiciones de ambiente en que viven los normales, pero otras veces logran sobrevivir gracias a que se han producido cambios en el ambiente habitual que favorece a los individuos mutados. Tal sería el caso del antibiótico circulando en las lesiones donde pululan los mycobacterios que favorecen la multiplicación de los mutantes resistentes, mientras hacen morir a los gérmenes no mutados es decir, sensibles.

El mecanismo por el cual la mutante resistente sobrevive a la acción del quimioterápico y el germen sensible muere, se explica en la figura 1(1). La figura central muestra el círculo metabólico normal de M. tuberculosis. Si ingresa a éste círculo un sustrato cualquiera, un aminoácido por ejemplo, éste es progresivamente degradado en sustancias cada vez más simples, hasta llegar al final,

FIGURA Nº 1

GERMEN SENSIBLE

MUTANTE RESISTENTE



*Muerte del germen
cadena interrumpi-
da por el quimio-
terápico.*

*Cadena metabóli-
ca del germen sen-
sible.*

*Cadena desviada
quimioterápico i-
neficaz.*

**ESQUEMA DE LA ACCION DE UN QUIMIOTERAPICO SO-
BRE LA CADENA METABOLICA DE UN GERMEN SENSI-
BLE Y UNO RESISTENTE.**

como un producto asimilable que permite al gérmen nutrirse y multiplicarse. La figura de la izquierda muestra la interrupción de éste círculo metabólico en el punto en que actúa el quimioterápico. Esta interrupción trae como consecuencia la detención del proceso de degradación del sustrato y con ello la posibilidad de que no sea asimilado por el gérmen. Consecuencia de ello es la detención de la multiplicación primero y luego la muerte del gérmen.

La figura de la derecha muestra el comportamiento de una mutante resistente, la que debido al cambio biológico que significa la mutación ha adquirido una nueva propiedad: la resistencia, gracias a la cual el gérmen logra desviar su metabolismo del punto en el cual actúa el antibiótico y con ello continuar la degradación del sustrato hasta hacerlo asimilable. Así ésta mutante sobrevive y se multiplica; confiriendo a sus descendientes su condición de resistente.

A éstas mutantes resistentes que existen en las poblaciones bacilares en una proporción muy escasa se les ha llamado mutantes resistentes naturales. No hay en la actualidad ningún antibiótico antituberculoso para el cual no se encuentren mutantes naturales resistentes.

La proporción en que ellas se encuentran, en las lesiones de un enfermo nunca antes tratado con antibióticos antituberculosos, es variable para los distintos medicamentos antituberculosos. Por ejemplo, hay una mutante resistente a estreptomycin, a isoniacida o a ácido para-amino-salicílico por cada diez mil a un millón de bacilos (2).

La existencia de éstas mutantes naturales resistentes fué lo que produjo el fracaso de la monoterapia antituberculosa porque la droga empleada era capaz de destruir los bacilos sensibles pero incapáz de destruir las mutantes resistentes a ella.

Aspecto Práctico

Se han estudiado cuatro diferentes tipos de resistencia:

1. Resistencia natural
2. Resistencia secundaria al tratamiento
3. Resistencia primaria
4. Resistencia cruzada.

Ya vimos que constituye la resistencia natural de una cepa salvaje, el pequeño número de mutantes naturales que normalmente existen en las grandes poblaciones bacilares.

Resistencia Secundaria no es sino aquella que deriva de la selección hecha por el antibiótico, de las mutantes naturales que la cepa contiene. En la práctica la resistencia secundaria es producida debido al mal uso de los antibióticos antituberculosos.

Según Canetti (2) estas resistencias serían debidas a una falla en la interrelación de los 3 factores siguientes: la población bacilar, los antibióticos usados y la defensa orgánica del enfermo.

Las resistencias primarias son aquellas que se encuentran en individuos recién diagnosticados como tuberculosos y que nunca han recibido drogas antituberculosas, pero que han sido infectados con una población bacilar hecha resistente en el organismo de la persona que lo infectó.

La resistencia primaria tiene una menor significación clínica que la resistencia secundaria, al menos en lo que a isoniacida se refiere, entre la cepa resistente del enfermo que infecta y la que se encuentra después en las lesiones del infectado (3); además por la forma diferente como reacciona uno y otro enfermo en la interrelación entre drogas, gérmenes y defensa orgánica. Por otra parte, como las resistencias primarias lo son solo a una droga, la terapia triasociada significa para estos enfermos dos drogas útiles y en los pocos casos de resistencia primaria a dos drogas a la vez la triasociación puede también

ser exitosa en algunos enfermos con población bacilar escasa (4).

La resistencia cruzada podría definirse como la aparición de resistencia a un medicamento no usado por el enfermo, a consecuencia de haberse creado resistencia a otro que el enfermo es tá ingiriendo.

No hay resistencia cruzada entre drogas de primera línea. La resistencia cruzada que existe entre estreptomycinina y dihidroestreptomycinina no es de importancia práctica ya que la última no es usada en terapéutica en la actualidad.

El tema de este trabajo surgió como una inquietud nuestra por conocer el porcentaje de resistencia primaria a las drogas, en el grupo de enfermos que dicen no haber recibido tratamiento previo o vírgenes de tratamiento (V.T.).

La evolución de la bacteriología de la tuberculosis en nuestro medio, como en otros países de América, ha sido lenta; empezando vigorosamente su transformación cuando los organismos nacionales e internacionales dieron validéz a las recomendaciones de la OMS, que fundamenta el diagnóstico de la tuberculosis solo en el criterio bacteriológico.

Ese importante cambio de criterio nos encontró, a nosotros, en sentido nacional con servicios de laboratorio pobremente dotados, con personal no especializado, carente de recursos, y por ende incapacitado para poder suplir las demandas a nivel nacional.

No fué sino hasta el año 1966 que comenzaron los cursos internacionales de adiestramiento en bacteriología de la tuberculosis con la participación de nuestro país en los primeros cuatro cursos.

La técnica de la determinación de la sensibilidad o resistencia a los antibióticos tiene una gran importancia para los países

en donde se observa una prevalencia alta de cepas resistentes.

De hecho es importante para los clínicos conocer el resultado bacteriológico de los exámenes de micobacterias expectoradas por el paciente para establecer un tratamiento de drogas adecuado, eficaz y económico.

M A T E R I A L Y M E T O D O

Los estudios que sirven de base al presente trabajo se efectuaron en el Laboratorio de Tuberculosis, dependencia del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social pero que por razones de espacio funciona en el Instituto Nacional del Tórax desde el año de 1962*.

El Laboratorio de Tuberculosis es esencialmente normativo, además desempeña funciones de adiestramiento, supervisión y referencia sobre los laboratorios distritales.

Se hizo una revisión estadística de los casos de tuberculosis diagnosticados clínica y bacteriológicamente ingresados al Instituto a partir de enero de 1967 a diciembre de 1971.

En este lapso ingresaron 3,682 pacientes tuberculosos, habiéndose practicado 29,316 cultivos y 3,512 pruebas de sensibilidad (cuadro No. 1).

CUADRO No. 1

Años	No. de Pacientes	Cultivos	E.S.
1967	664	5,473	869
1968	721	5,785	879
1969	735	5,693	656
1970	776	6,006	575
1971	786	6,359	533
TOTAL	3,682	29,316	3,512

* A partir del 1º de junio del año de 1973 el Laboratorio de Tuberculosis fué trasladado al tercer piso del Centro de Salud "Alonso Suazo" donde funciona la División de Laboratorios de Salud Pública.

Los pacientes llegan referidos de diferentes lugares del país, correspondiendo el 90%, al Hospital General San Felipe y al Dispensario Central, localizados ambos en la ciudad de Tegucigalpa; y el resto son remitidos por algunos Centros de Salud ubicados en las cabeceras departamentales. Este elevado porcentaje de pacientes provenientes del Hospital General San Felipe es debido a que de toda la república al primer lugar que consultan sin conocer su dolencia es este hospital.

Todos los datos que se mencionan en este trabajo fueron tomados de los libros de control de cultivos y resistencia del Laboratorio de Tuberculosis y los expedientes clínicos del Departamento de Estadística del referido Instituto.

Del total de estudios de resistencia realizados por año, se tomaron aquellos casos de interés en nuestro trabajo, es decir, los Virgenes de Tratamiento (V.T.) que como dijimos al comienzo, son los que no han recibido tratamiento antituberculoso.

En cuanto a lo anterior se incluye únicamente los datos referidos en la historia clínica de cada uno de los casos reportados.

En la práctica resulta difícil establecer la magnitud de la resistencia primaria porque hay un cierto número de enfermos que por uno u otro motivo ocultan el haber sido tratados antes; hay otros que han recibido drogas antituberculosas sin haberse dado cuenta de la naturaleza del medicamento. En este caso, cuando no existe completa seguridad sobre los antecedentes de los enfermos no se habla de resistencia primaria sino de resistencia inicial (5).

Las siguientes son las normas que se siguen en nuestro trabajo de rutina:

Normas de Trabajo

1. A todo paciente que ingresa a la Institución se le practica:
 - a) Serie de esputos directos (2); siempre que tenga especto-

ración

b) Cultivos

c) Estudios de sensibilidad

2. Los pacientes en estancia serán controlados por el examen directo de esputo durante los tres primeros meses que siguen a su ingreso.
3. Se hará hisopado laríngeo:
 - a) A todo paciente en quien se comprueba que no tiene espectoración
 - b) A todo caso de tuberculosis en tratamiento cuando deje de tener espectoración.
4. Para el caso de diagnóstico se hará una sola toma de dos hisopados.
5. En los casos de tratamiento se hará una toma de dos hisopados cada mes, hasta obtener tres consecutivos.

Las pruebas de sensibilidad no deben repetirse con un intervalo menor de seis meses.

Medio de Cultivo Empleado

Los métodos más usados para el estudio de sensibilidad a isoniazida, estreptomycinina y ácido para-amino-salicílico y que utilizan el medio de Lowenstein-Jensen son: el de las concentraciones absolutas (el que utilizamos en el laboratorio), el de la relación de resistencia y el de las proporciones.

Ninguno de los métodos hasta ahora conocidos reúne las condiciones ideales para este tipo de prueba: técnica fácil, respuesta rápida, confiabilidad de resultados (1).

El medio de Lowenstein-Jensen.

Es quizá el medio más utilizado en el mundo.

Este fué desarrollado desde las papas glicerizadas (Pawlowski 1888), a través del medio con huevos (Dorset 1902) hasta la com

binación de papas y huevos (Petraghani 1931) en 1924 Lowenstein publicó la formula de su medio, y Jensen la modificó en 1932.

Más recientemente (1954), la Comisión de Laboratorio de la Unión Internacional Contra la Tuberculosis propuso una formula modificada de este medio, sin harina de papa (6).

Lowenstein-Jensen		Lowenstein-Jensen (U.I.M.-6)
KH_2PO_4	2.4gm	Igual sin harina
MgSO_4	0.24gm	de papas, agréguese
Citrato de Mg	0.6gm	Verde de malaquita al
Asparagina	3.6gm	2%
Glicerina bidest	12 ml	20 ml para 1,600 ml
Agua destilada	600 ml	del medio entero
Harina de papas	30 gm	
Huevos enteros	1,000 ml	
Verde de malaquita al		
2%	30 ml	
Coagulación por 1 hora		
a 90°C.		

Algunos observaron que el crecimiento es más abundante con harina de papas (Marks-7) y que se forma a veces demasiada agua de condensación sin la harina de papas (Baker-8).

En nuestro servicio se ha venido usando el medio modificado desde el año 1967 con magníficos resultados.

Técnica del Estudio de Sensibilidad

El método de las "Concentraciones absolutas" usado por norteamericanos y alemanes es muy conocido y usado en varios laboratorios de América Latina (1).

En este método como en la mayoría de los otros es posible efectuar dos tipos de pruebas: la directa y la indirecta.

La prueba directa solo puede efectuarse cuando la muestra con-

tiene suficiente cantidad de germen. La razón principal para usar esta prueba es que por sembrarse la muestra directa en el medio de cultivo con y sin drogas, los resultados se obtiene más rápidamente que en la prueba indirecta.

En la prueba indirecta el medio de cultivo con y sin drogas es sembrado con las colonias obtenidas en el primer cultivo de la muestra (1.9).

Considerando las condiciones nuestras de trabajo usamos en la rutina diaria ambas técnicas. Utilizando la prueba directa en los casos en que el resultado es requerido con urgencia.

Para la prueba directa (usando productos patológicos) las muestras se tratan igual que para los cultivos, homogenización por la técnica clásica de Petroff (10) y el sedimento final se siembra en cantidades de 0.1 cc. en cada uno de los tubos de medio tanto los de control como los que contienen la droga.

Para la prueba indirecta (partiendo de un cultivo) la manera de trabajar es la siguiente:

Con el asa tomar varias colonias del cultivo, transferirlas a un tubo estéril que contenga un cc. de agua destilada estéril y unas 3 perlas de vidrio; colocar el tubo en el agitador de pinturas y homogenizar durante diez minutos, dejar en reposo y de la suspensión más o menos homogénea sembrar 0.1 cc. en cada uno de los tubos control y los que contienen droga. Incubar en posición inclinada durante 24 horas, el resto del tiempo en posición vertical, examinar a las 2 semanas y después semanalmente hasta las 4 semanas.

Para tomar las colonias de los tubos de cultivo, disponemos de una pequeña espátula de alambre cromado No. 18 cuyo extremo se ha aplastado hasta obtener la forma requerida.

La prueba de resistencia para cada muestra de esputo (prueba directa) o para cada cultivo (prueba indirecta) se realiza co-

locando en una gradilla apropiada una serie de tubos con medio de Lowenstein-Jensen con y sin antibiótico en la forma siguiente:

Para Estreptomicina

1 tubo con 10 mcg por cc de medio

1 tubo con 100 mcg por cc de medio

Para el Acido Para-amino-Salicílico.

1 tubo por 1 mcg por cc de medio

1 tubo con 10 mcg por cc de medio

1 tubo con 100 mcg por cc de medio

Para la Isoniacida

1 tubo con 0.2 mcg por cc de medio

1 tubo con 1. mcg por cc de medio

1 tubo con 5. mcg por cc de medio

Una vez inoculada la serie de tubos, se distribuye la suspensión bacilar sembrada sobre toda la superficie del medio, rotando suavemente el tubo de cultivo, sosteniéndolo en posición horizontal por sus extremos con el índice y el pulgar de cada mano e inmediatamente se va colocando en una caja de fondo ligeramente inclinado que permita mantener la suspensión sembrada cubriendo toda la superficie del medio.

Las cajas se llevan cuidadosamente a la cámara a 37°; vigilando que los tubos no cambien de posición.

Como el tubo que se utiliza es con tapa de rosca, la tapa debe mantenerse un poco suelta para permitir la evaporación durante las primeras 24 o 48 horas, cerrándose fuertemente después de éste lapso, manteniendo la caja en estas condiciones hasta la fecha de su lectura.

Preparación del Medio con Droga

El medio que se utiliza es el sólido de Lowenstein-Jensen con y sin antibiótico.

El medio sin antibiótico nos permite conocer el número total de la población bacilar sembrada.

El medio con antibiótico el número de mutantes resistentes a ese antibiótico.

Tanto el medio con antibiótico como el sin antibiótico deben ser preparados al mismo tiempo y podrían ser utilizados hasta un máximo de 2 meses desde la fecha de su preparación si se le mantiene en refrigeración a 4°C.

El principio del método es incorporarse al medio de cultivo la droga antes de la coagulación.

Estreptomina (SM)

Disolver 1 gm de la droga en un tubo de ensayo que contiene 5 ml de agua destilada estéril, lo que da una solución que contiene 200.000 mcg/cc. (solución madre).

A un tubo que contiene 9 ml de agua destilada estéril, agregar 1 cc. de la solución anterior, lo que equivale a 20.000 mcg/cc.

A otro tubo que contiene 9 cc. de agua destilada estéril, agregar 1 cc. de la solución anterior, ésta tendrá ahora 2,000 mcg/cc.

Para incorporar la droga al medio se hace lo siguiente:

A 198 ml de medio agregar 2 ml de la solución de estreptomina que contiene 2,000 mcg, lo que equivale a una concentración inicial de 20 mcg por ml; pero la acción del calor durante la coagulación baja la concentración de la droga a 10 mcg por cc.

Para obtener la concentración de 100 mcg por cc., agregamos a 198 cc. de medio 2 cc. de la solución de estreptomina que contiene 20,000 mcg por cc., pero que por la acción del calor hace descender ésta concentración a 100 mcg por cc. Una vez que se ha incorporado la droga al medio de cultivo se agita bien hasta hacer una distribución homogénea, y se reparte en tubos estériles de 20x150; la coagulación del medio se hace en el ins-

pisador 1 hora a 90°C, incubando durante 24 horas para controlar la esterilidad.

Acido Para-amino-salicílico (PAS)

Disolver 1 gm de sal sódica de PAS en 5 cc. de agua destilada esteril, lo que, equivale a una solución que contiene 200.000 por cc.

A 9 ml de agua destilada estéril, agregar 1 ml de la solución madre anterior, y se obtiene una concentración de 20,000 mcg por cc.

1 cc. de la solución anterior diluirlo en 9 cc. de agua destilada estéril y se tendrá una concentración de 2,000 mcg por cc.

De ésta otra solución tomar 1 cc. y diluirlo en 9 ml de agua destilada estéril para obtener una concentración final de 200 mcg por cc.

A 199 cc. de medio de Lowenstein agregar 1 cc. de solución de PAS que contiene 200 mcg por cc. obteniendo una concentración de 1 mcg por cc. de medio.

1 cc. de la solución que contiene 2,000 mcg por cc. se agrega 199 de medio y se alcanza así una concentración de 10 mcg por cc.

Los tubos que contienen 100 mcg de droga por cc. de medio, se hacen poniendo 1 cc. de la solución de PAS que contiene 20,000 mcg por cc. en 199 cc. de medio.

Los tubos se colocan en el inspisador y se mantiene 1 hora a 90°C., el PAS no es afectado por ésta temperatura, la esterilidad se controla incubando los tubos por 24 horas.

Isoniacida: (INH)

Para la solución madre disolver 20 miligramos en 20 cc. de agua destilada estéril para obtener una concentración de 1,000 mcg por cc.

1 cc. de la solución madre, diluido en 9 cc. de agua destilada da una solución con un contenido de 100 mcg de droga por cc.

Al diluir un cc. de la solución que contiene 100 mcg por cc. con 4 cc. de agua destilada estéril, se obtiene una concentración final de 20 mcg por cc.

A 199 cc. de medio de Lowenstein agregar 1 cc. de la solución de isoniacida que contiene 1,000 mcg por cc; la concentración de droga en el medio queda en 5 mcg por cc.

Para obtener la concentración de un microgramo de isoniacida por cc. de medio, se agregan 2 cc. de la solución de droga que contiene 100 mcg por cc. a 198 cc. de medio.

Para los tubos con concentración 0.2 mcg por cc., basta agregar 2 cc. de la solución de droga que contiene 20 mcg por cc. a 198 cc. de medio.

Colocar los tubos en el inspisor por una hora a 90°C, la droga no se destruye por el calor.

La solución madre de isoniacida se conserva bien durante varias semanas en refrigeración.

Lectura de los Cultivos

Los tubos se revisan cada 8 días para observar el crecimiento. Si no se observa desarrollo de colonias ni en los tubos controles, ni los con droga, se reporta no desarrolló, esto puede deberse a que los bacilos presentes en la muestra (examen microscópico) no sean viables.

Si se obtiene crecimiento en los tubos control, pero no lo hay en los tubos con droga se reporta como sensible, es decir, que el bacilo no puede proliferar ni aún en presencia de pequeñas cantidades de droga.

Cuando el crecimiento es igual en número de colonias tanto en los controles como en los tubos con droga se reporta como resistente.

R E S U L T A D O S

El cuadro No. 2 muestra el total de pruebas de sensibilidad realizadas por año, en pacientes diagnosticados positivos tanto al examen directo de esputo como al cultivo, sin tener en cuenta si son vírgenes o no de tratamiento. Así mismo se observan los niveles en que se mantuvo el porcentaje de cepas sensibles y resistentes. Se observa que el porcentaje de resistencias varía de 16.2% (1968) a 21.2% (1970) y el de sensibles fluctúa entre 78.8% (1970) a 83.8% (1968).

De total de pruebas de resistencia efectuadas por año, se seleccionaron conforme a los datos contenidos en la historia clínica aquellos pacientes que dicen ser vírgenes de tratamiento. Como puede verse en el cuadro No. 3 el mayor número de cepas V.T. estudiadas correspondió al año 1967 (260 cepas), con un total de 54 cepas resistentes lo que traducido a porcentaje equivale al 20.8%.

El panorama cambia totalmente en el año de 1968 como puede observarse en el gráfico adjunto en el cual de un total de 195 cepas, 27 resultaron resistentes, lo que también traducido a porcentaje nos da un 14%.

Lo que en relación con lo anterior y los años subsiguientes le corresponde a éste, el menor porcentaje, obtenido en relación al número de cepas estudiadas.

CUADRO No. 2
TOTAL DE PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A DROGAS PRIMARIAS DE 1967 a 1971.

C O N C E P T O	A Ñ O S									
	1967		1968		1969		1970		1971	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Casos estudiados	869		879		656		575		533	
RESISTENTES	166	19.1	142	16.2	119	18.1	122	21.2	89	16.7
SENSIBLES	703	80.9	737	83.8	537	81.9	453	78.8	444	83.3
Resistentes a INH	67	7.7	62	7.1	43	6.6	43	7.5	43	8.1
Resistentes a SM	30	3.5	17	1.9	21	3.2	34	5.9	30	5.6
Resistentes a PAS	16	1.8	8	0.9	6	0.9	8	1.4	-	-
Resistentes a INH y SM	25	2.9	23	2.6	22	3.3	24	4.2	11	2.0
Resistentes a INH y PAS	10	1.2	15	1.7	18	2.7	4	0.7	1	0.2
Resistentes a SM y PAS	9	1.0	8	0.9	4	0.6	6	1.0	2	0.4
Resistentes a INH SM y PAS	9	1.0	9	1.0	5	0.8	3	0.5	2	0.4

Fuente: Libros de Control de Cultivos y Resistencias del Laboratorio de Tuberculosis y Expedientes, Clínicos del Departamento de Estadística del Instituto Nacional del Tórax.

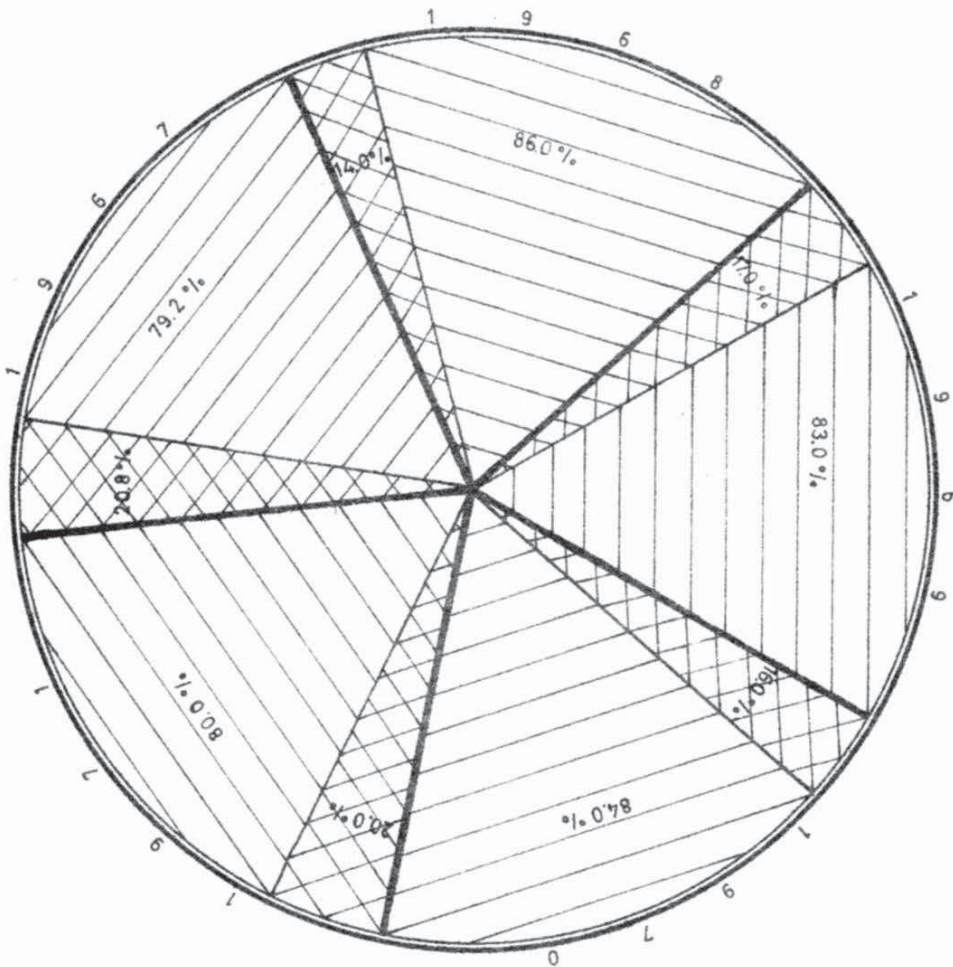
CUADRO No. 3

CEPAS V.T. RESISTENTES A DROGAS EN RELACION AL
NUMERO DE CASOS ESTUDIADOS

C O N C E P T O	A Ñ O S											
	1967		1968		1969		1970		1971			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Casos estudiados	260		195		130		200		163			
RESISTENTES	54	20.8	27	14	31	17.2	32	16	33	20.2		
SENSIBLES	206	79.2	168	86	149	83	168	84	130	80		
Resistentes a INH	22	8.4	14	7.6	12	7	7	3.5	14	9		
Resistentes a SM	23	9	12	6.1	19	11	24	12	10	6.1		
Resistentes a PAS	5	2	-	-	-	-	1	.5	-	-		
Resistentes a INH y SM	4	1.5	1	.5	-	-	-	-	8	4.9		
Resistentes a INH y PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Resistentes a SM y PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	1	.6		
Resistentes a INH SM y PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Fuente: La indicada en el Cuadro No. 2.

GRAFICO Nº 1



En este mismo cuadro se observa que la mayor resistencia encontrada fué a dos de las drogas mayores isoniacida y estreptomina solas; y la resistencia menor se presentó hacia el ácido para amino-salicílico.

Se observó además cepas resistentes a dos drogas I.N.H. y S.M. en los años 1967-1968-1971, y solo un caso a SM, y a PAS en 1971.

No se aislaron cepas resistentes a tres drogas.

El porcentaje total de resistencias por droga ó combinaciones de drogas (cuadro No. 4) es bastante significativo el hecho de que en el año 1971 el porcentaje de resistencia primaria es casi igual al obtenido en 1967 (20.9%).

El porcentaje a isoniacida año 1971 (9%) está ligeramente elevado en relación a los años anteriores.

Nótese además el aumento (4.9%) en la combinación INH y SM y finalmente fué el único año en que se observó resistencia a la combinación SM y PAS (una cepa) 0.6%).

Estos mismos datos se encuentran en el cuadro No. 5 con la única diferencia de que el porcentaje se obtuvo en relación al número de cepas resistentes de cada año.

Para mayor ilustración de los datos del cuadro No. 5 se hizo la gráfica No. 2.

En el cuadro No. 6 se observa la resistencia global para cada droga estudiada, éste dato se obtiene sumando las resistencias parciales.

Para el caso la resistencia global a isoniacida en el año 1967 fué de 9.9% que corresponde a (cuadro No. 3):

Resistencia a INH sola.....	8.4%
Más resistencia a INH y SM.....	<u>1.5%</u>
Resistencia global.....	9.9%

Igual procedimiento se sigue para las demás drogas

CUADRO No. 4

PORCENTAJE DE CEPAS VIRGENES DE TRATAMIENTO
RESISTENTES A DROGAS EN RELACION AL NUMERO
DE CASOS ESTUDIADOS

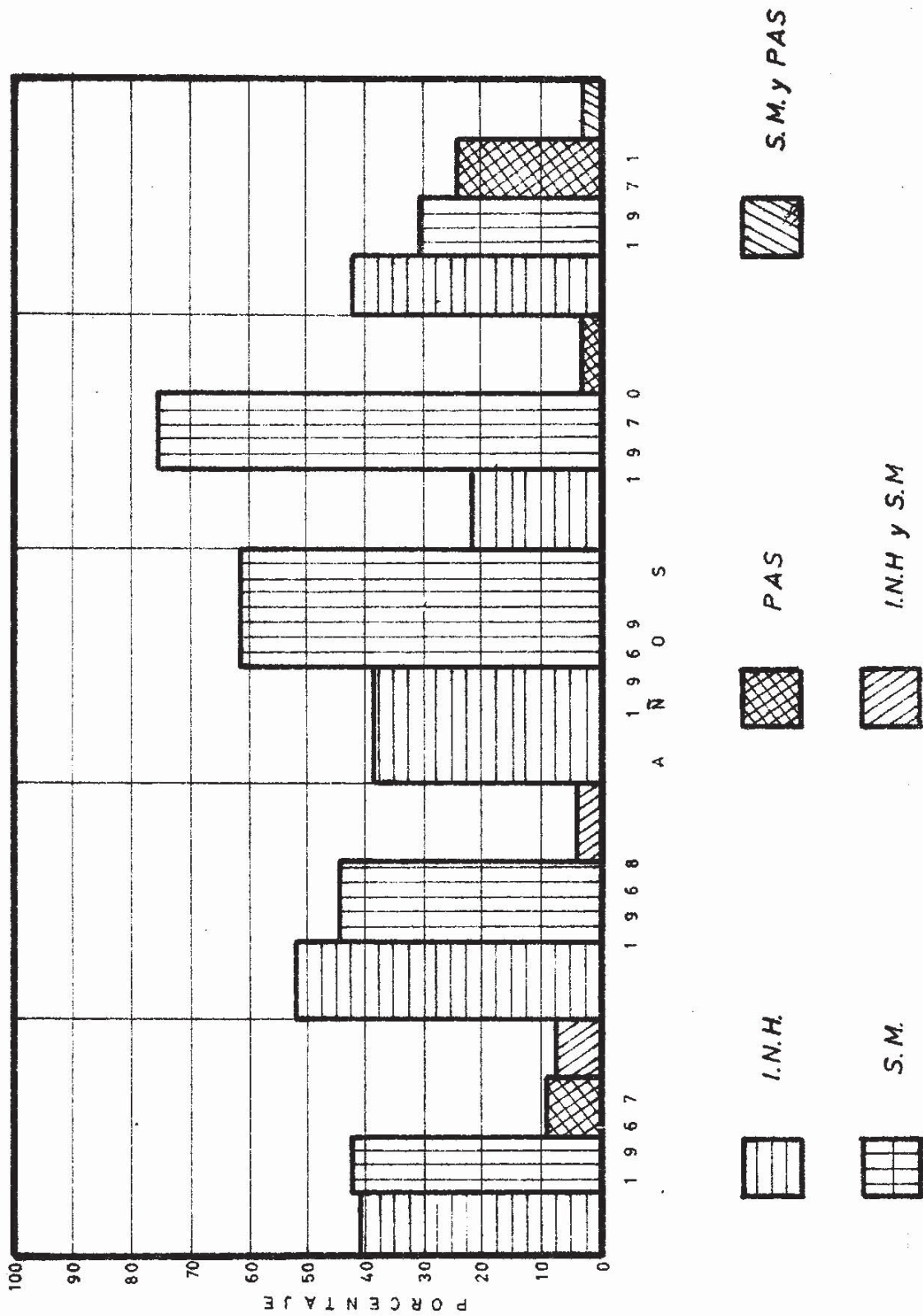
Tipo de Resistencia	A Ñ O S				
	1967	1968	1969	1970	1971
A INH	8.4%	7.1%	7%	3.5%	9%
A SM	9 %	6.1%	11%	12.	6.1%
A PAS	2%			0.5%	
A INH y SM	1.5%	0.5%			4.9%
A INH y PAS					
A SM y PAS					0.6%
A INH SM y PAS					
TOTAL	20.9%	13.7%	18.0%	16%	20.6%

CUADRO No. 5

PORCENTAJE DE CEPAS VIRGENES DE TRATAMIENTO
RESISTENTES A DROGAS EN RELACION AL NUMERO
DE CEPAS RESISTENTES

D R O G A S	% CEPAS V.T. RESISTENTES											
	1967		1968		1969		1970		1971			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%		
INH	22	40.7	14	51.9	12	38.7	7	21.9	14	42.4		
SM	23	42.6	12	44.4	19	61.3	24	75.0	10	30.0		
PAS	5	9.3	-	-	-	-	1	3.1	-	-		
INH y a SM	4	7.4	1	3.7	-	-	-	-	8	24.3		
INH y a PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
SM y a PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3.0		
INH a SM y a PAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
TOTAL	54	100.0	27	100.0	31	100.0	32	100.0	33	100.0		

GRAFICO N° 2



CUADRO No.6
PORCENTAJE ANUAL DE RESISTENCIA GLOBAL
POR DROGA

Resistencia Global a:	A Ñ O S				
	1967	1968	1969	1970	1971
INH	9.9%	7.6%	7%	3.5%	13.9%
SM	10.5%	6.6%	11%	12.	11.6%
PAS	2.%			0.5%	0.6%

COMISIÓN NACIONAL AUTÓNOMA DE INVESTIGACIONES
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES Y ESTADÍSTICAS
SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA
Toluca, D. C., Honduras C. A.

the Institute
for the
study of
the
history of
the
United States

D I S C U S S I O N

Según Noel Rist, del Instituto Pasteur (12), en un país ideal, es decir uno virgen de toda quimioterapia antituberculosa, la tarea del laboratorio, podría reducirse a la baciloscopia. En tal país, no existiría ninguna resistencia bacilar a los medicamentos. Todo enfermo con bacilos visibles al microscopio sería rápidamente tratado con una asociación de comprobada eficacia y, a condición de que el tratamiento sea seguido escrupulosamente, la negativización sería obtenida en el 95% de los casos; el muy pequeño número de fracasos sería hospitalizado y tratado con nuevos medicamentos, aún sin que hubiera sido necesario un antibiograma. Ignorase si existe un país como éste.

Lo que si se conoce son las altas tasas de resistencia primaria que se han publicado en la mayoría de los países de América Latina, que vienen a reflejar las fallas de los programas de tratamiento y por consiguiente los frecuentes fracasos de los regímenes de drogas primarias.

Por otra parte, el alto número de pruebas de sensibilidad con resultados discordantes, han sido evidentes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, lo que ha conducido a la recomendación de reducir el número de laboratorios que efectúen ésta prueba, que además por ser difícil y de un alto costo, debe ser realizada con precisión por bacteriólogos bien adiestrados y en laboratorios con técnicas bien controladas, que hagan diariamente éstos exámenes para que se pueda mantener un método sistematizado (5).

En todos los países los presupuestos para la salud pública son bastante limitados y el personal técnico es todavía más limitado. Es, pues importante que los estudios de sensibilidad se efectúen solo en el Laboratorio de Tuberculosis para que los resultados obtenidos puedan ser confiables.

Claro que lo ideal sería, que la medida de la resistencia fuera efectuada en cada centro de tratamiento con el objeto de que

el tisiólogo pudiera estar más en contacto con el bacteriólogo.

Comparando los resultados obtenidos en el presente estudio, con los reportados por otros autores en trabajos similares en Latino América (13), 14, 15) concuerdan en cuanto a la presencia de un buen número de cepas V.T., con resistencia primaria a las drogas isoniacida y estreptomycinina en un elevado porcentaje, debido quizá a que éstos dos medicamentos son los más utilizados en los programas de control de la lucha antituberculosa.

La resistencia al ácido para-amino-salicílico, en cambio es de menor magnitud, lo cual podría deberse por una parte a la menor eficacia de éste medicamento que como se sabe es bacteriostático y por otra, al hecho de que el ácido para-amino-salicílico es generalmente asociado a drogas de gran actividad bacilar, que al destruir las mutantes resistentes al PAS, evitan o retardan la aparición de resistencia a este quimioterápico.

Con los datos anteriores contrastan los informados por el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos, Australia, Inglaterra y Canadá (16); países en los que el porcentaje total de resistencia primaria fluctúa entre 3.8% el más bajo hasta 4.8% el más alto y consecuentemente, los datos para los porcentajes de resistencia a drogas aislados y combinaciones de las mismas son aún menores. Esto podría explicarse en base a que en los países en vías de desarrollo las campañas antituberculosas no han dado los resultados deseados, por los innumerables factores característicos de estos países, lo que da lugar a que los individuos se infecten con bacilos tuberculosos resistentes provenientes de pacientes mal tratados.

Un dato que llama la atención es el alza que hubo en el número de cepas con resistencia solo a isoniacida y a isoniacida y estreptomycinina en el año de 1971 (cuadro No. 4), lo que da lugar a pensar si esos porcentajes de pacientes reportados no son todos casos virgenes de tratamiento. Quizá las personas encargadas de historiar dichos casos no estuvieron muy ocuciosas como en años anteriores y el interrogatorio fué incompleto o bien hubo poca colabora-

el tisiólogo pudiera estar más en contacto con el bacteriólogo.

Comparando los resultados obtenidos en el presente estudio, con los reportados por otros autores en trabajos similares en Latino América (13), 14, 15) concuerdan en cuanto a la presencia de un buen número de cepas V.T., con resistencia primaria a las drogas isoniacida y estreptomina en un elevado porcentaje, debido quizá a que éstos dos medicamentos son los más utilizados en los programas de control de la lucha antituberculosa.

La resistencia al ácido para-amino-salicílico, en cambio es de menor magnitud, lo cual podría deberse por una parte a la menor eficacia de éste medicamento que como se sabe es bacteriostático y por otra, al hecho de que el ácido para-amino-salicílico es generalmente asociado a drogas de gran actividad bacilar, que al destruir las mutantes resistentes al PAS, evitan o retardan la aparición de resistencia a este quimioterápico.

Con los datos anteriores contrastan los informados por el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos, Australia, Inglaterra y Canadá (16); países en los que el porcentaje total de resistencia primaria fluctúa entre 3.8% el más bajo hasta 4.8% el más alto y consecuentemente, los datos para los porcentajes de resistencia a drogas aislados y combinaciones de las mismas son aún menores. Esto podría explicarse en base a que en los países en vías de desarrollo las campañas antituberculosas no han dado los resultados deseados, por los innumerables factores característicos de estos países, lo que da lugar a que los individuos se infecten con bacilos tuberculosos resistentes provenientes de pacientes mal tratados.

Un dato que llama la atención es el alza que hubo en el número de cepas con resistencia solo a isoniacida y a isoniacida y estreptomina en el año de 1971 (cuadro No. 4), lo que da lugar a pensar si esos porcentajes de pacientes reportados no son todos casos virgenes de tratamiento. Quizá las personas encargadas de historiar dichos casos no estuvieron muy ocuciosas como en años anteriores y el interrogatorio fué incompleto o bien hubo poca colabora-

ción por parte de los enfermos, talv ez por ignorancia o la tendencia que muestran las personas aquejadas por este mal a no decir la verdad. Otra posibilidad podría ser el estado de postración física con que llegan a la institución, lo que hace difícil obtener datos completos dignos de crédito.

Vale la pena hacer notar que éste análisis no refleja fielmente el acontecer en todo el país, ya que el número de casos incluidos representan solamente los pacientes estudiados en el Instituto Nacional del Tórax, lo que a su vez constituye solo un pequeño porcentaje de los diagnósticos en todo el territorio. Estudios posteriores del problema basados en las recomendaciones emanada de la Comisión de Laboratorio de la Unión Internacional contra la Tuberculosis y del Centro Regional de Referencia para Bacteriología de la Tuberculosis de la OMS Caracas, Venezuela, fijarán los índices correctos que permitirán a la vez evaluar el proceso de la resistencia de Mycobacterium tuberculosis a las drogas antibacilares en todo el país.

Porcentaje total de copias recibidas
...ada, incluyendo copias
...tratamiento, de ...
...asos crónicos
...

C O N C L U S I O N E S

El presente trabajo tuvo por objeto poner de manifiesto el porcentaje de resistencia a las drogas primarias isoniácida, estreptomycinina y ácido para-amino-salicílico de M.tuberculosis aislado de pacientes vírgenes de tratamiento. Los estudios fueron realizados en el Laboratorio de Tuberculosis en pacientes con tuberculosis pulmonar internados en el Instituto Nacional del Tórax en el período comprendido de 1967 a 1971.

Todos los cultivos fueron aislados de muestras de esputo, procesadas por la técnica clásica de Petroff y sembradas en el medio de Lowenstein Jensen modificado. Los estudios de resistencia se hicieron en este mismo medio adicionado de los antibióticos isoniácida, estreptomycinina y ácido para-amino-salicílico, en las concentraciones establecidas en el método de las concentraciones absolutas.

Los resultados obtenidos comprueban el aislamiento de cepas con resistencia primaria que oscila entre un 13.7% en el año de 1968 y un 20% entre los años 1967 y 1971. Los porcentajes más altos de resistencias primarias encontradas corresponden a isoniácida y estreptomycinina y los más bajos al ácido para-amino-salicílico.

Para tener un reflejo fiel de la situación real que existe en el país, se recomienda hacer evaluaciones periódicas del proceso de la resistencia de M. tuberculosis basado en el diseño de investigación de la frecuencia de resistencias primarias y secundarias, descritas en el Manual de Bacteriología de la Tuberculosis, Técnicas y Procedimientos Básicos, cuyo texto fué revisado y discutido por un Comité Asesor y publicado por la Oficina Sanitaria Panamericana en 1973.

1978. Madrid
Luz y Tiempo

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Herrera Malmsten, L., 1973. Manual de Bacteriología de la Tuberculosis. Técnicas y Procedimientos Básicos OPS/OMS 105-107.
- 2.- Cannetti, G., 1965 Amer. Rev. Resp. Dis. 92: 687-690, tomado de Herrera Malmsten, 1973 (1).
- 3.- Cannetti, G., 1963 Rev. Tuberc. (París) 27:217-272, tomado de Herrera Malmsten, 1973 (1).
- 4.- David, H.L., Fundamentals of Drug Susceptibility Testin in Tuberculosis, U.S. Department of Health, Education and Welfare. Public. Health Service, Atlanta, Georgia.
- 5.- Tuberculosis, OMS/OPS Publicación Científica N º 112, 1965.
- 6.- Transactions of the 24 th Research Conference in Pulmonary Diseases, Veterans Administration-Armed Forces, 1965.
- 7.- Marks, J., 1958 Monthly Bull. Minist. Hlth, 17:194 tomado de Documento de trabajo, 1a Reunión de la Comisión Latino-Americana para la Bacteriología de la Tuberculosis, Instituto Nacional de Tuberculosis, Caracas.
- 8.- Baker, F.J., 1967. "Handbook of Bacteriological Techniques", Butterworths Londres, 2a edición, tomado de Documento de Trabajo, 1a Reunión de la Comisión Latinoamericana para la Bacteriología de la Tuberculosis, Instituto Nacional de Tuberculosis, Caracas.
- 9.- Transations of the 31 st Pulmonary Disease Research Conference, Veterans Administration-Armed Forces, 1972.
- 10.- Curiel, J., Lozano Gómez, L. y L. Quevedo Segnini, 1966 "Resultados de Tratamiento antibacteriano dispensarial en pacientes tuberculosos que lo siguieron irregularmente", Rev. Tisiol. Neumol. (Caracas), 8 (1): 5-9.
- 11.- Mazó, Domínguez, J., 1970. Boletín Informativo No. 3 del Centro Regional de Referencia de la OMS para Bacteriología de la Tuberculosis, Caracas.