



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Resistencias a fármacos de *Mycobacterium tuberculosis* en la Comunidad de Castilla y León (España), 2001–2005: tercer estudio multicéntrico

Armando Alberte-Castiñeiras ^{a,*}, Ángel Campos-Bueno ^b, Luis López-Urrutia ^c, Elena Álvarez-Alonso ^d, Gregoria Megías ^e, Eva Ojeda-Fernández ^e, Ramiro López-Medrano ^f, Jesús Iglesias-García ^g, Santiago García-Carbajosa ^h y Pilar Pérez-Pascual ^a

^a Microbiología, Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid, Valladolid, España

^b Microbiología, Complejo Asistencial de Soria, Soria, España

^c Microbiología, Complejo Asistencial de Zamora, Zamora, España

^d Microbiología, Complejo Asistencial de Palencia, Palencia, España

^e Microbiología, Complejo Asistencial de Burgos, Burgos, España

^f Microbiología, Hospital El Bierzo, Ponferrada, León, España

^g Microbiología, Complejo Asistencial de Salamanca, Salamanca, España

^h Microbiología, Complejo Asistencial de Segovia, Segovia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 2 de junio de 2009

Aceptado el 19 de febrero de 2010

Palabras clave:

Mycobacterium tuberculosis

Resistencia primaria

Tuberculosis en Castilla y León

RESUMEN

Introducción: Durante el período 2001–2005 se llevó a cabo el tercer estudio de resistencia a los fármacos antituberculosos de primera línea en Castilla y León, España, en casos nuevos de tuberculosis (TB).

Métodos: Se estudiaron 918 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* procedentes de pacientes virus de la inmunodeficiencia humana negativos correspondientes a 6 hospitales que atienden al 46,7% del total de la población de la comunidad, y se utilizó el método de las proporciones en medio sólido.

Resultados: La proporción de resistencias (resistencia primaria) fue del 4,2% y la resistencia simple (monorresistencia) fue del 2,6%. El 1,2% fueron resistentes a estreptomicina; el 3,2% a isoniazida (I); el 0,3% a rifampicina (R); el 0,1% a etambutol, y el 0,5% a pirazinamida, y se observó una cepa (0,1%) multirresistente (resistencia a I y a R). No hubo diferencias significativas con los estudios previos.

Conclusiones: La incidencia de resistencia primaria y de multirresistencia en la Comunidad de Castilla y León es baja, asimismo, la resistencia a I es aceptable. Consecuentemente, la pauta de tratamiento de la TB puede incluir solamente a los 3 fármacos (R, I y etambutol). Es conveniente, de acuerdo con los programas de control de la TB, realizar estudios de resistencia a los fármacos antituberculosos para optimizar las pautas de tratamiento.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Drug-resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Castilla y León, Spain, 2001–2005: Third collaborative study

ABSTRACT

Introduction: During 2001–2005, a regional anti-tuberculosis drug resistance survey was conducted in Castilla y León, Spain, in newly treated HIV negative tuberculosis (TB) patients.

Methods: A total of 918 *Mycobacterium tuberculosis* strains were studied (one strain per patient) from six hospitals corresponding to 46.7% of the total population of Castilla y León, using the proportion method on solid medium.

Results: Primary drug resistance was 4.2% (streptomycin 1.2%, isoniazid 3.2%, rifampin 0.3%, ethambutol 0.1% and pyrazinamide 0.5%). Mono-resistance was observed in 24 (2.6%) and resistance to both isoniazid and rifampin (multi-drug resistance) was detected in one case (0.1%). These results were not statistically significant compared to previous studies in the same Community.

Conclusion: The incidence of primary drug resistance in the surveyed area was low, including isoniazid, allowing new anti-tuberculosis treatment with the standardised three-drug regimen to be started. Regular surveillance of drug resistance is recommended by the TB control programme in representative patient populations to optimize treatment regimens.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Mycobacterium tuberculosis

Primary drug resistance

Tuberculosis in Castilla y León

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: aalberteca@saludcastillayleon.es (A. Alberte-Castiñeiras).

Introducción

A pesar de los avances observados en los últimos años con relación a la precocidad en el diagnóstico, la tuberculosis (TB) continúa siendo un importante problema de salud pública con una incidencia a nivel mundial de 9 millones de casos nuevos.

Asimismo, los cambios socioeconómicos, que en algunos casos están agudizándose entre los diferentes países, provocan movimientos migratorios, los que van acompañados de un lastre de enfermedades infecciosas reemergentes que se implantan en los países de acogida. Este panorama se complica si los países de origen contemplan una incidencia alta de TB resistente, multirresistente (MDR) y extremadamente MDR.

España no es ajena a este problema, y se ha declarado según datos oficiales (Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica) para 2005 una tasa global de TB de 18,02/100.000 habitantes, aunque la OMS la estima en 27/100.000 habitantes.

De ahí que las autoridades sanitarias españolas hayan propiciado la elaboración de un nuevo documento¹ que propone unos «criterios básicos para el control de la TB» y reafirma la conveniencia del conocimiento a nivel nacional de los resultados de las pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosos.

En Castilla y León y con el objetivo de conocer los niveles de resistencia primaria (RP) entre los casos primarios de TB se propició una serie de estudios de colaboración entre diversos hospitales en los quinquenios 1991–1995² y 1996–2000³. Este tercer trabajo de colaboración muestra, asimismo, la proporción de resistencias a los fármacos antituberculosos de *Mycobacterium tuberculosis* aislados de pacientes, todos ellos casos nuevos, diagnosticados en el período 2001–2005 en la Comunidad de Castilla y León. La similitud en la recogida de datos posibilita conocer la evolución de esta durante 15 años.

Material y métodos

En el presente estudio se contempló disponer de un tamaño muestral representativo del área, en el que cada cepa procedía de un paciente diferente (casos nuevos), y se contó con la colaboración de laboratorios acreditados para la realización de las pruebas de susceptibilidad. No fue necesario disponer de consentimiento para la realización de este estudio ni existió ningún conflicto de intereses.

Definiciones

Se evaluó la resistencia a estreptomicina (S), a isoniacida (I), a rifampicina (R) y a etambutol (E). La RP o resistencia a algún fármaco se define como la que se presenta en cepas de *M. tuberculosis* procedentes de pacientes sin una historia previa de tratamiento. La monorresistencia es la resistencia a un solo fármaco. Las cepas con MDR son aquellas que presentan al menos resistencia a I y a R.

Centros participantes y recogida de datos

En este estudio de colaboración participaron 6 hospitales de la Comunidad de Castilla y León pertenecientes a la red del Sacyl, los que atendían a una población de 1.177.637 habitantes (el 46,7% del total de la comunidad). El tamaño muestral necesario para calcular la proporción de resistencias de *M. tuberculosis* con un intervalo de confianza del 95% se estimó en 918 casos, y se asumió una precisión del 1%, una proporción esperada del 4,0% y una población total de 2.200 casos nuevos de TB en el período⁴. El período de estudio abarcó desde el 1 de enero de 2001 hasta el 31 de diciembre de 2005 (5 años).

Aislamiento e identificación de *Mycobacterium tuberculosis*

Se estudiaron 918 cepas de *M. tuberculosis* procedentes de diferentes pacientes (virus de la inmunodeficiencia humana negativo) correspondientes a los diagnósticos bacteriológicos realizados en los centros participantes. Cada muestra se procesó de acuerdo con los protocolos propios de cada laboratorio, se utilizó o bien N-acetil L-cisteina-sosa o lauril sulfato sódico, y se procedió a la inoculación de los viales líquidos correspondientes a los sistemas de detección continua (Bact-Alert 3D [Biomerieux®, Francia] o Bactec MGIT960 [Becton Dickinson®, EE. UU.]). Algunos laboratorios inocularon paralelamente el medio sólido de Lowenstein-Jensen. Para la identificación se utilizó el kit Accuprobe *M. tuberculosis* complex culture confirmation (Biomerieux®, Francia). Finalmente, las cepas frescas se remitían al laboratorio de referencia para la realización de las pruebas de susceptibilidad, previa confirmación de la identidad de estas.

Laboratorio de referencia

Las pruebas de susceptibilidad a los fármacos antituberculosos se realizaron en el Laboratorio de Referencia Nacional (Dra. M.S. Jiménez del Instituto de Salud Carlos III de Majadahonda, Madrid), y se utilizó el método convencional de las proporciones⁵. Se consideró a una cepa como resistente cuando se observó un crecimiento de colonias mayor o igual al 1% a las concentraciones críticas de los fármacos utilizados (4 mg/l de S; 0,2 mg/l de I; 40 mg/l de R; 2 mg/l de E, y 200 mg/l de pirazinamida) con respecto al crecimiento control.

Análisis estadístico

Los casos de TB con cepas resistentes se estratificaron usando las categorías siguientes: RP, monorresistencia, resistencia a I y MDR por años. No se tuvieron en cuenta para estos cálculos los resultados observados frente a pirazinamida. Las proporciones se compararon con la prueba del chi cuadrado mediante la utilización del sistema Epidat (versión 3.1 para Windows, Xunta de Galicia-OPS/OMS, España). Se calculó, asimismo, el intervalo de confianza del 95% para las proporciones. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados

Se realizaron pruebas de susceptibilidad a los fármacos antituberculosos a un total de 918 cepas de *M. tuberculosis* aisladas de pacientes diferentes que no presentaban historia previa de tratamiento. De ellas, 39 (4,2%) fueron resistentes a algún fármaco (RP); 11 a S (1,2%); 30 a I (3,2%); 3 a R (0,3%), y una a E (0,1%). La resistencia simple o la monorresistencia se observó en 24 cepas (2,6%) y en una cepa (0,1%) se observó MDR (tabla 1). De 425 cepas testadas, el 0,5% mostró resistencia a pirazinamida.

La misma tabla 1 muestra la evolución de la RP durante los 3 períodos de estudio en la Comunidad de Castilla y León. Por otra parte, durante estos 5 años no se ha observado un incremento en la resistencia a I, y no han sido significativas las diferencias observadas (tabla 2). Solamente en el año 2001 se observó una cepa con MDR.

Discusión

El plan para la prevención y el control de la tuberculosis en España¹ contempla como desafío, entre otros, la «detección de las resistencias a los fármacos antituberculosos». Como se apuntó

Tabla 1

Resistencia primaria de *Mycobacterium tuberculosis* aislados de pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana negativos a los fármacos antituberculosos en 3 períodos en la Comunidad de Castilla y León

Período Aislados, n	1991-1995 825			1996-2000 985			2001-2005 918		
	n	%	IC del 95%	n	%	IC del 95%	n	%	IC del 95%
Resistencia a algún antibiótico (RP) (cepas con resistencia a algún fármaco antituberculoso)	34	4,1	2,7-5,5	38	3,8	2,6-5,1	39	4,25	3,9-5,6
Monorresistencia o resistencia simple: resistencia solamente a un antibiótico	24	2,9	1,7-4,1	33	3,3	2,2-4,5	24	2,61	1,5-3,7
Estreptomicina-R	22	2,6	1,4-3,7	13	1,3	0,6-2,1	11	1,2	0,4-1,9
Isoniacida-R	15	1,8	0,8-2,8	19	1,9	1,0-2,8	30	3,27	2,1-4,5
Rifampicina-R	2	0,2	0,03-0,9	3	0,3	0,06-0,9	3	0,32	0,06-0,9
Etambutol-R*	5	0,6	0,2-1,4	9	0,9	0,3-1,6	1	0,1	0,003-0,6
MDR (resistencia a isoniacida y a rifampicina)	0	0	0,0-0,4	1	0,1	0,003-0,6	1	0,1	0,003-0,6

IC: intervalo de confianza; MDR: multirresistencia; R: cepas resistentes; RP: resistencia primaria.

* p < 0,05 entre 1996-2000 y 2001-2005.

Tabla 2

Resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a isoniacida y multirresistencia en el período de estudio

Año	Aislados, n	Resistencia a isoniacida		MDR	
		n (%)	IC del 95%	n (%)	IC del 95%
2001	212	7 (3,3)	0,6-5,9	1 (0,5)	0,01-2,6
2002	207	6 (2,9)	0,3-5,4	0 (0)	-
2003	181	3 (1,6)	0,3-4,7	0 (0)	-
2004	179	9 (5,0)	1,5-8,5	0 (0)	-
2005	139	5 (3,6)	1,2-8,2	0 (0)	-
Total	918	30 (3,2)			

IC: intervalo de confianza; MDR: multirresistencia.

anteriormente³, el conocimiento periódico de los niveles de resistencia en la Comunidad de Castilla y León facilitó la aplicación de los esquemas terapéuticos más adecuados, y se sumó positivamente a las medidas de lucha adoptadas en esta comunidad; se observó un descenso de la morbilidad, hecho contrastado por las autoridades sanitarias⁴ en sus estudios de vigilancia. Así, se puede constatar cómo desde la puesta en marcha del Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis en la Comunidad de Castilla y León en 1998, la incidencia de casos de TB fue disminuyendo en esta con unas tasas comprendidas entre 18,5-14,42/100.000 habitantes entre los años 2001-2005, respectivamente. Por esto, de los datos expuestos en este trabajo de colaboración, se extrae una RP en esta comunidad que puede considerarse baja (4,25%), y se observa solamente una MDR en todo el quinquenio. Al comparar los 3 períodos, se constata que los datos de RP se mantienen muy similares, sin significación alguna, incluyendo asimismo a aquellos valores observados de resistencia a I ($p > 0,05$). Solamente se observó una diferencia significativa en la resistencia a E entre los períodos 1996-2000 y 2001-2005. En este estudio no se incluyeron los datos correspondientes a los pacientes con enfermedad tuberculosa coinfectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. La razón de tal hecho es que el número de pacientes coinfectados ha ido disminuyendo paulatinamente en los últimos años en esta comunidad, y los centros participantes han comunicado solamente 37 casos nuevos.

En España existe un interés por el conocimiento de las RP a *M. tuberculosis*, y se ponen de relieve en diversas publicaciones nacionales e internacionales que sitúan principalmente los niveles de resistencia a I como condicionantes de la pauta terapéutica inicial. Así, Jiménez, Casal y el Grupo Español de Micobacteriología (GEM) publicaron en 2008⁶ los resultados de una encuesta a nivel nacional en la que se analizaron 965 cepas, de las que el 93,3% procedía de pacientes no tratados previamente. La RP observada fue del 8,3%, casi el doble que en nuestra población

de estudio, y fue, asimismo, superior la resistencia en I con el 4,9% de cepas resistentes y con el 1,3% de cepas con MDR.

Al seguir una secuencia cronológica en cuanto al estudio de resistencias antibióticas a *M. tuberculosis* en períodos similares al del presente estudio, Calpe et al⁷ sitúan la resistencia a I en el 1,5% y a R en el 0,3% en un estudio sobre 459 cepas aisladas en un período que abarcó de 1987-2001 realizado en el Área 15 de la Comunidad de Valencia. Castilla et al⁸ en la Comunidad de Navarra y para un período de 14 años (1993-2006) observan una resistencia del 5,4%, aunque también se contabilizaron en este caso aquellos pacientes previamente tratados. En el período 1995-2006, García-Zamalloa y Arrizabalaga⁹ estudian 584 casos de un área sanitaria de Guipúzcoa, y presentan una resistencia a I del 1,4%, sin observar ninguna MDR. Dorronsoro et al¹⁰ para el período 1996-2003 estudian 475 casos en Navarra y publican una resistencia a I del 8% con una MDR del 3%. Ruiz et al¹¹ estudian 158 casos del área de Lorca para el período 1999-2004 y sitúan la resistencia a I en el 5,3%, mientras que Aragó et al¹² para el período 1999-2004 en el área de Sagunto y con 77 casos observan una RP del 12,1% y las resistencias a S, a I, a R y a E en el 3, el 3, el 3 y el 4,5%, respectivamente. Superiores son las cifras aportadas por Aznar et al¹³ en el Área 2 de Madrid que estudian 244 casos durante 5 años (2001-2004) con el 15,2% de cepas resistentes y una resistencia a I del 7,4%. En Castilla y León, Sáez-González et al¹⁴ publican una resistencia en el área sanitaria de Salamanca del 8,7% para I y del 8,3% para R con un 4,17% de MDR para el período 1992-2001. En León, Remacha et al¹⁵ observan una resistencia global del 6,5 y del 5% a I.

De lo expuesto se observa una variabilidad en los niveles de resistencia a lo largo de la geografía nacional, en ocasiones, derivada de la dificultad del conocimiento de la historia a fármacos de los pacientes, como se apunta en algún trabajo¹⁵. Aun al contar con la realidad de estos problemas, se reconoce que la morbilidad de la TB es diferente desde tiempos pasados en las distintas regiones españolas. Por esto es conveniente realizar estudios precisos que permitan situar realmente este problema y planes que propicien y protocolicen un rápido diagnóstico así como una detección precoz de aquellos casos con MDR. En Castilla y León, de acuerdo con las directrices del documento¹ y habida cuenta de que la resistencia a I es inferior al 4% de los casos, el tratamiento de la TB en aquellos pacientes que no se han tratado previamente, es decir, casos nuevos, podría basarse en el triple tratamiento inicial (I+R+pirazinamida) durante 2 meses y continuar los 4 meses siguientes con I y R.

En conclusión, los datos de resistencias observadas en Castilla y León son aceptables, con una tendencia a un ligero incremento no significativo de estas, no es necesaria la utilización de un cuarto fármaco y con una incidencia de MDR escasa. Esta situación es la consecuencia de un diagnóstico de la enfermedad

lo más precoz posible, de un seguimiento próximo de la evolución de esta y de la colaboración que el mismo paciente ofrece.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración prestada en la revisión de los datos estadísticos del Dr. M. González-Sagrado de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid.

Bibliografía

1. Plan para la prevención y control de la tuberculosis en España. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2008.
2. Alberte Castiñeiras A, Pérez Pascual P, Grupo de Microbiólogos de Castilla y León. Resistencias primarias de *Mycobacterium tuberculosis* en diez hospitales de la Comunidad de Castilla y León. *Rev Clin Es.* 1999;199:132-5.
3. Alberte-Castiñeiras A, Brezmes-Valdivieso MF, Campos-Bueno A, Montes-Martínez I, López-Medrano R, Avellaneda C, et al. Drug-resistant tuberculosis in Castilla-León, Spain, 1996-2000. *Int J Tuber Lung Dis.* 2006;10:554-8.
4. Marcos Rodríguez MH. Registro regional de casos de tuberculosis en la Comunidad de Castilla y León. Año 2006. Evolución 2003-2006. Boletín Epidemiológico de Castilla y León. 2007;23.
5. Canetti G, Fox W, Komhmenko A, Mahler HT, Menon NK, Mitchison DA, et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull World Health Organ.* 1969;41:21-43.
6. Jiménez MS, Casal M. Situación de las resistencias a fármacos de *Mycobacterium tuberculosis* en España. *Rev Esp Quimioter.* 2008;21:22-5.
7. Calpe J, Chiner E, Marín J, Armero V, Calpe A. Epidemiología de la tuberculosis en el área 15 de la Comunidad Autónoma de Valencia: evolución 1987 a 2001. *Arch Bronconeumol.* 2005;41:118-24.
8. Castilla J, García Cenoz M, Irisarri F, Egíes N, Arriazu M, Barricarte A. Epidemiología de la tuberculosis en Navarra. *An Sist Sanit Navar.* 2007;30: 21-32.
9. García-Zamalloa AM, Arrizabalaga J. Tuberculosis en el Área del Bajo Deba (Guipúzcoa, España) desde 1995 a 2006. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2008;26: 187-93.
10. Dorronsoro I, Ojer M, Ruz A, Navascués A, Gastesi C, Sacilio Y. Estudio de la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a los principales tuberculostáticos (Hospital de Navarra 1996-2003). *An Sist Sanit Navar.* 2005;28:29-34.
11. Ruiz López FJ, Zarauz García JM, Ortiz Romero MM, Valero Martínez JR, Peñalver Mellado C, Sánchez Gascón F, et al. Tuberculosis en el área de Lorca: adaptarse o resistir. *An Med Interna.* 2006;23:321-5.
12. Aragó Galindo M, Belda Mira A, Albert Contell A, Serra Sanchís 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.
13. Aznar E, Domingo D, Abanades S, García-Peña E, López-Brea M. Resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* durante un período de cuatro años en un hospital de Madrid. *Rev Esp Quimioter.* 2005;18:222-5.
14. Sáenz González MC, González Celador R, Haro Pérez AM, Fernández Gorostazu JM. Situación epidemiológica de la tuberculosis en la provincia de Salamanca e influencia de la infección VIH/sida. *Rev Esp Quimioter.* 2002;15:241-6.
15. Remacha MA, Parra I, Esteban A, Blanco MD. Resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* en un hospital de León. *Rev Esp Quimioter.* 2003;16:455-6.