

## LA TUBERCULOSIS A 110 AÑOS DEL PREMIO NOBEL DE KOCH

VIVIANA RITACCO<sup>1</sup>, ISABEL N. KANTOR<sup>2</sup><sup>1</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS Carlos Malbrán,<sup>2</sup>Consultora en Tuberculosis, Buenos Aires, Argentina

**Resumen** Robert Koch recibió el Premio Nobel por sus investigaciones y descubrimientos sobre la tuberculosis (TB) en 1905. Descubrió su agente causal, describió los cuatro postulados que guiaron desde entonces las investigaciones en enfermedades transmisibles y preparó la tuberculina, que fracasó como elemento curativo pero fue el principio del diagnóstico de infección TB y del conocimiento de la inmunidad celular. Los logros más relevantes después de su muerte fueron el desarrollo de la vacuna BCG y el descubrimiento de la estreptomycin, primera droga bactericida que inauguró el tratamiento eficaz de la TB. Pronto apareció la resistencia. En la Argentina, los estudios de resistencia a las drogas se iniciaron en los años 60. En los 70 comenzó el tratamiento acortado de cuatro drogas por dos meses seguido de dos drogas por cuatro meses. La incidencia de TB disminuyó en todo el mundo, pero la inmunodepresión asociada al Sida y el mal empleo de los medicamentos permitieron la emergencia global de multirresistencia y resistencia extendida, con brotes intrahospitalarios, incluso en la Argentina. Se desarrollaron nuevos métodos diagnósticos basados en la biología molecular y nuevas drogas, pero el tratamiento de casos multirresistentes y con resistencia extendida es difícil y costoso. La TB ha marcado varios hitos en la historia de las ciencias médicas, entre ellos los memorables postulados de Koch aún vigentes, la prueba tuberculínica como base para el conocimiento de la inmunidad mediada por células, los ensayos clínicos aleatorizados y la idea de los tratamientos combinados de múltiples medicamentos.

**Palabras clave:** tuberculosis, Premio Nobel, medicamentos anti-TB, multirresistencia

**Abstract** *Tuberculosis 110 years after the Nobel Prize awarded to Koch.* The Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded in 1905 to Robert Koch "for his investigations and discoveries in relation to tuberculosis (TB)". He discovered the causal agent of TB, described the four principles that since then have guided research in communicable diseases and also prepared the old tuberculin, a bacillary extract that failed as a healing element but allowed the early diagnosis of TB infection and promoted the understanding of cellular immunity. After his death, the most conspicuous achievements against TB were the BCG vaccine, and the discovery of streptomycin, the antibiotic that launched the era of the effective treatment of TB. Drug-resistance soon appeared. In Argentina, studies on drug resistance began in the 60s. In the 70s, shortened anti-TB drug schemes were introduced consisting in two-month treatment with four drugs, followed by four months with two drugs. The incidence of TB decreased worldwide, but the immune depression associated with awarded together with the misuse of anti-TB drugs allowed the emergence of multidrug resistance and extensive resistance, with the emergence of nosocomial outbreaks worldwide, including Argentina. New rapid diagnostic methods based on molecular biology were developed and also new drugs, but the treatment of multidrug resistant and extensively resistant TB is still difficult and expensive. TB research has marked several milestones in medical sciences, including the monumental Koch postulates, the tuberculin skin test that laid the basis for understanding cell-mediated immunity, the first design of randomized clinical trials and the use of combined multi-drug treatments.

**Key words:** tuberculosis, Nobel Prize, antitubercular agents, multidrug-resistance

## Los notables hallazgos de Koch

Las contribuciones de Robert Koch a la bacteriología fueron muchas y variadas. En 1905, hace 110 años, se le otorgó el Premio Nobel en Medicina o Fisiología por

sus investigaciones y descubrimientos sobre la tuberculosis (TB).

El 24 de marzo de 1882, Koch hizo la presentación *Die Aetiologie der Tuberkulose* en la Sociedad de Fisiología de Berlín. Allí describió sus cuatro postulados: (1) El organismo debe ser aislado de tejidos del enfermo; (2) debe crecer en cultivo puro; (3) inoculado a un animal susceptible, debe reproducir la misma enfermedad; (4) debe poder recobrase del animal infectado y crecer nuevamente en cultivo puro<sup>1,2</sup>.

Estos postulados han guiado con su rigurosidad las investigaciones sobre los agentes causales de las en-

Recibido: 30-X-2015

Aceptado: 10-XI-2015

**Dirección postal:** Dra. Isabel N. Kantor, Av. Libertador 7504, 1429 Buenos Aires, Argentina

e-mail: Isabel.kantor1@gmail.com

fermedades transmisibles, salvo —aparentemente— las debidas a priones y otras proteinopatías, como las varias formas de amiloidosis, que parecen refractarias al análisis siguiendo estrictamente esos postulados<sup>3</sup>.

Koch recordó en esa presentación que una de cada siete personas moría en Berlín debido a TB y que al menos un tercio de los jóvenes estaban infectados. Pero que desde aquel momento, para luchar contra ese mal, además de mejorar las condiciones de vida de la gente, se contaba con el conocimiento de un parásito tangible. Y que ese parásito solo halla condiciones para existir dentro del organismo animal, y no —como el caso del ántrax— en el medio natural.

Describió el método empleado para distinguir los bacilos (*Tuberkel virus*) al microscopio, en hermoso azul, sobre el fondo castaño de otras células, lo que ilustró con unos 200 preparados.

Su conferencia comenzó recordando que Villemin, había demostrado en 1865 la transmisibilidad de la TB inoculando muestras de enfermos tuberculosos a conejos, de vacas a conejos, y de conejos entre sí. Es bueno recordar también aquí a Villemin, y a su presentación en la Academia de Medicina de París, en 1868. Frente a una audiencia hostil, después de presentar sus resultados, dijo: *Creo que he respondido a estos argumentos: ¿no es la tuberculosis virulenta? Sí lo es, ¡yo la he inoculado! Por lo tanto, modestamente, es mejor estar de acuerdo en que la solución a las cuestiones relativas a la propagación de la tuberculosis en la especie humana se debe dejar al futuro, que, podemos estar seguros, no concluirá sobre la base de argumentos y teorías, sino sobre la base de hechos positivos, perfectamente demostrados*<sup>4</sup> (Traducido por las autoras).

Se refirió Koch a la TB bovina que, dijo, es idéntica a la humana, y por lo tanto transmisible al hombre. El consumo de carne y leche contaminadas constituye un riesgo —manifestó— que debe ser evitado. Él consideraba entonces que los bacilos bovinos y los humanos eran especies diferentes, confirmando lo que Villemin ya había establecido por la diferente virulencia para el conejo. Sin embargo, más tarde Koch, en 1884, concluyó que ambos bacilos tuberculosos eran idénticos y que, si bien la TB bovina era transmisible al hombre, esa infección no constituía un riesgo de importancia para la salud humana. En 1898, Theobald Smith, en Harvard, publicó sus hallazgos sobre los bacilos bovino y humano, demostrando que eran diferentes especies<sup>5</sup>.

En 1890 Koch anunció, en la *Tenth International Medical Conference* en Berlín, haber aislado una sustancia del bacilo tuberculoso, a la que se llamó tuberculina. Esa tuberculina “vieja” o “bruta”, se preparaba cultivando en caldo al bacilo, filtrando esos cultivos autoclavados, y concentrando por calor el líquido filtrado.

## Una aplicación inesperada de la tuberculina

Si bien fracasó como medio curativo, su valor para el diagnóstico de infección tuberculosa fue descubierto por Von Pirquet y por Mantoux, con aplicación intradérmica. También, simultáneamente, se adoptó la prueba tuberculínica para detectar la TB en el ganado bovino. Florence Seibert, en la década del 30, reemplazó la tuberculina, ese líquido de brujos, por una solución proteica estandarizada que permitió la clasificación de las respuestas, medidas en milímetros de diámetro de induración. Para ello cultivó el *Mycobacterium tuberculosis* en medio líquido sintético, filtró los cultivos esterilizados, y separó las proteínas producidas por el bacilo mediante precipitación por sulfato de amonio (PPD-S)<sup>6</sup>. Más tarde, Magnusson, en Copenhague, por encargo de la OMS, preparó un lote especial denominado PPD-RT23, en el que la precipitación proteica se realizó con ácido tricloroacético, se estandarizó en cobayos y luego en escolares, y en pacientes tuberculosos. Este lote fue distribuido gratuitamente, a través de OMS, y empleado en casi todo el mundo entre los años 60 y 90. Los criterios de positividad se adaptaron a los casos de inmunodepresión.

En sus experimentos con la tuberculina vieja, Koch, sin saberlo, reveló el fenómeno de hipersensibilidad retardada, que décadas más tarde se convirtió en el paradigma de un peculiar tipo de inmunidad que no podía ser transferida por el suero (inmunidad humoral) sino solo por células viables (inmunidad celular). La prueba de gamma interferón (IGRA) tiene el mismo principio que la prueba tuberculínica, pero se realiza *ex vivo*, en una muestra de sangre<sup>7</sup>.

## Aún sin una vacuna mejor que la tradicional BCG

El siguiente gran hito para el control de la TB correspondió a Calmette y Guérin, quienes sub-cultivaron más de 200 veces en caldo bilioglicerinado —entre 1908 y 1921— una cepa aislada de un bovino (*Mycobacterium bovis*) demostrando, por inoculación en cobayos, una significativa disminución de la virulencia. Así comenzó la era de la vacunación. En la Argentina la cepa BCG fue traída por Andrés Arena en 1925 desde el Instituto Pasteur de París. Arena preparó la vacuna, que se comenzó a aplicar, primero por vía oral y luego intradérmica, y que ha contribuido a disminuir la TB infantil, especialmente las formas primarias diseminadas<sup>8, 9</sup>.

Actualmente, la búsqueda de nuevas vacunas más efectivas que la BCG es una de las prioridades de la investigación. Los ensayos incluyen también vacunas-refuerzos, administrados después de la BCG. Sin embargo, hasta ahora no se ha comprobado en humanos que alguna vacuna tenga efecto protector superior al de

la BCG, ni que aumente el efecto de esa vacuna previamente aplicada<sup>10</sup>. La recomendación de OMS sigue siendo vacunar al recién nacido, antes del egreso de la maternidad, en los países de mediana o de alta incidencia. Y esta es la recomendación en la Argentina desde 1985.

### La tuberculosis en cifras

Los estudios epidemiológicos originariamente se basaban en los datos de mortalidad. Para 1900, la tasa de mortalidad por TB en Checoslovaquia era de 380 por 100 000 habitantes, la más alta de países europeos con estadísticas, y las más bajas se registraban en Holanda y Alemania, con ~ 200/100 000. Al comenzar a aplicar un tratamiento eficaz, la información sobre la incidencia adquiere relevancia epidemiológica. En 1949, después de la guerra, la incidencia total en Alemania (R. Federal Alemana) llegó a 343/100 000. En 1979 había descendido a 45.4/100 000<sup>11</sup>.

¿Qué sucedía mientras tanto en la Argentina? En 1883, la población de Buenos Aires era (probablemente) de 310 000 habitantes, con 8510 defunciones, 1505 de estas debidas a viruela; ese número se reduciría en años siguientes por la vacunación, con lo que la mortalidad quedaría en 23/1000. Esas muertes se concentraban en las llamadas casas de inquilinato, y se relacionaban básicamente con la TB. En 1901 Buenos Aires ya contaba con 850 000 habitantes. La mortalidad por TB era alrededor de 21/10 000<sup>12</sup>. En 1904 se inauguró el Hospital Tornú, y se habilitaron pabellones para la internación de tuberculosos en el recién inaugurado Hospital Muñiz, el tratamiento era "helioterapia" y buena alimentación. En mayo de 1900 se había inaugurado el Hospital Santa María de Punilla, cerca de Cosquín, Córdoba, provincia en la que se estimaba que el 50% de la mortalidad se debía a TB.

### Algunos avances en el diagnóstico

En nuestro país se fueron adoptando los métodos de diagnóstico y de control de la TB seguidos en los países europeos, que no tuvieron significativas variaciones hasta la aparición de la estreptomycin (SM).

El diagnóstico de la TB pulmonar y su seguimiento se hacían por radiografía de tórax, radioscopia (fluoroscopia) y baciloscopia de esputo. El neumotórax fue introducido originalmente en Italia, por Carlo Forlanini en 1888, luego su aplicación se generalizó en todo el mundo. La toracoplastia, una colapsoterapia quirúrgica, se aplicaba a las cavernas no colapsables por el neumotórax.

El diagnóstico de certeza es el bacteriológico. Si bien fue Koch el primero en cultivar al bacilo, y los métodos de cultivo se han ido perfeccionando desde entonces, su empleo diagnóstico no se ha generalizado, en especial en las zonas del mundo con mayor carga de la enfermedad,

que son también las de menores recursos dedicados a la salud. Esto se debe a los mayores requerimientos de instrumental, técnica, bioseguridad y costos del cultivo con respecto a la baciloscopia.

En consecuencia, el método básico para el diagnóstico sigue siendo la baciloscopia, el examen microscópico de la muestra, generalmente esputo, teñida por Ziehl-Neelsen, que permite diagnosticar, para luego tratar y curar, a los casos infecciosos. En todos estos años, su principal avance ha sido el agregado de la microscopia de fluorescencia con lámpara de mercurio, reemplazada más recientemente por LED (*light emitting diode*), con las ventajas de no requerir oscuridad, menores costos, y una mayor duración de las lámparas. Además, es al menos 6% más sensible que el Ziehl-Neelsen, sin pérdida de especificidad, y requiere la mitad de tiempo por determinación.

### Por fin antibióticos y quimioterápicos contra la tuberculosis

La verdadera terapia se inició con la SM (Selman Waksman, 1943). El *British Medical Research Council* condujo en 1948 el primer ensayo clínico aleatorizado, para evaluarla en el tratamiento de la TB. Allí se determinó el fenómeno de *fall and rise*: la caída del número de bacilos observables en la baciloscopia y en el cultivo hasta su negativización, y luego, con la continuación del tratamiento con esta única droga, la reaparición de bacilos cultivables. Aunque muchos pacientes curaban, se observaban recaídas en las que se comprobaba la aparición de resistencia bacteriana<sup>13</sup>.

En 1948 aparecieron la tioacetazona y el ácido para-amino salicílico (PAS) y se comprobó que con el tratamiento combinado declinaba la aparición de resistencia<sup>14</sup>. La viomicina se agregó en 1946. Salvo la SM, estos medicamentos eran solo bacteriostáticos. La primera droga altamente bactericida fue la isoniazida (INH), descubierta en 1951. Más tarde (1952) aparecieron la pirazinamida (PZA), la cicloserina (CS) y la clofazimina, la kanamicina (KM) entre 1955 y 1958, la etionamida (ETH, 1956-7), el etambutol (1957) y la capreomicina (1960). En 1966 el italiano Pietro Sensi aisló la rifampicina (RMP), derivado semisintético de la rifamicina S, que demostró una extraordinaria actividad contra todas las poblaciones bacilares, complementada con la actividad de la PZA contra los bacilos intracelulares. En estos hallazgos se basó el tratamiento corto, de seis meses de duración, originariamente ensayado en estudios controlados en África del Este entre 1972-76<sup>15</sup>.

En los hospitales de Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba, a inicios de la década de los 60, los medicamentos llamados "de primera línea" para el tratamiento inicial eran INH, SM y PAS. La PZA se usaba en los enfermos "crónicos" combinada con ETH y CS. La dosis de PZA

era de 2 g/día, abandonándose su uso por la toxicidad hepática que se registraba; y reiniciándose una década después, con las dosis actuales de 20-30 mg/kg. Con esos regímenes (PZA - ETH - CS), en pacientes ya resistentes a INH y SM (algunos incluso a PAS), la evolución no era en general exitosa.

### La resistencia a las drogas anti-tuberculosas

A fines de la década de los 50 ya se realizaban pruebas de sensibilidad (PS) a la INH, SM y PAS en el laboratorio de la Cátedra de Tisiología de Buenos Aires, dirigido por el Dr. A. Cetrángolo, en aislamientos de los pacientes atendidos en el Dispensario, y las internadas en el Pabellón Koch de dicha Cátedra. Entre 1960 y 1961, los porcentajes de enfermos ambulatorios, eliminadores de bacilos resistentes a una droga (generalmente INH) fue de 23.6% (sobre 174 casos), y a dos drogas (INH-SM) 27.6%. Estos enfermos crónicos, contagiosos, diseminadores de TB poli-resistente, fueron ciertamente el origen de casos de resistencia inicial o primaria, que en 1961 alcanzaba al 7.3% de los nuevos pacientes ingresados a tratamiento<sup>16, 17</sup>.

Algo similar se observaba en Córdoba, en el Instituto de Tisiología Prof. Gumersindo Sayago y en el Hospital Tránsito Cáceres de Allende. En 1961, de los pacientes que se internaban con TB confirmada, ~ 70% habían ya recibido tratamiento, la mayoría de ellos con medicamentos suministrados en forma aislada, en dosis inapropiadas, o con discontinuidad. Como resultado, solo el 31.7% eran sensibles a 3 medicamentos (INH, SM y PAS)<sup>18</sup>.

Este fenómeno también se observaba en París y en Nueva York, y es lógico pensar que las cepas resistentes y poli-resistentes fueron mantenidas por pasajes de un paciente a otro. Al incorporarse la RMP y otros medicamentos, en las décadas siguientes, se fueron sumando mutaciones, dando lugar al fenómeno de la multiresistencia (MDR), definida como la resistencia simultánea a INH y RMP, acompañada o no de resistencia a otras drogas<sup>19</sup>.

### Los estudios de resistencia

Las primeras encuestas sobre "resistencia primaria" fueron realizadas entre 1957 y 1960 por Rist y Crofton, y por Thibier, Canetti y col.<sup>20</sup>. En la Argentina, con dos laboratorios de referencia para las PS, donde se aplicaba el método de las proporciones<sup>21</sup>, se comenzaron a informar encuestas de las resistencias primaria y adquirida en 1963. En el Hospital Muñiz, sobre 153 enfermos estudiados, el 12% presentaba resistencia primaria a una o más drogas; y sobre 161 enfermos ya tratados, el porcentaje de casos con resistencia a una o más drogas era 58.3%, similar para INH y para SM (47.7%). También se comenzó a determinar la resistencia a drogas de segunda

línea, ETH, CS y KM. Sobre 1292 enfermos ya tratados, el 83.5% resultaba sensible (Cetrángolo A, Di Lonardo M, Kantor IN. Xmo. Congreso Argentino de Tisiología y Neumonología, Mar del Plata, 1965).

Entre esas drogas de segunda línea predominaba la resistencia a ETH, lo que ya se interpretaba como posible resistencia cruzada con la INH, por la analogía entre sus moléculas. Esto ha sido confirmado posteriormente: existe resistencia cruzada entre ambas drogas, pero es parcial. Las mutaciones en los genes estructurales *ethA* e *inhA* pero no las mutaciones en el gen *katG*, se asocian con niveles altos de resistencia a ETH. Por otra parte, las mutaciones en el gen *katG* se asocian a niveles altos, y las mutaciones en el gen *inhA* a niveles bajos, de resistencia a INH<sup>22</sup>.

Los estudios sobre la resistencia del bacilo tuberculoso a los medicamentos se fueron ampliando a muchos países en las siguientes décadas, promovidos por la OMS, con metodología estandarizada y evaluación de la calidad de las PS<sup>23, 24</sup>. Con la incorporación de la RMP, también aparece la MDR, que se complica al asociarse con la inmunodepresión por HIV.

Los resultados de encuestas nacionales sobre MDR publicadas en 2008 por OMS mostraban para Argentina una prevalencia de MDR de 2.2% en casos nuevos, y de 15% en los ya tratados<sup>25</sup>. En el informe de OMS, 2014, las estimaciones del número de casos MDR indicaban 160 (87-260) entre los casos nuevos, y 200 (130-300) entre los ya tratados. Estos datos provenían de 3157 PS a medicamentos anti-tuberculosos efectuadas, una muestra que cubría algo más del 30% de los casos notificados en 2013<sup>26</sup>. Por otra parte, el Programa Nacional de Control de Tuberculosis, en su Reunión de Jefes de Programa (Buenos Aires, 1/10/2015) informó un total de 99 casos MDR, de los que 39 eran ya tratados (no nuevos) y 60 sin aparente tratamiento previo (nuevos).

### La detección rápida de resistencia

La necesidad de conocer rápidamente no solo la presencia del *M. tuberculosis* en la muestra diagnóstica, sino también su resistencia, al menos a RMP, considerada la marcadora de MDR, ha sido respondida por los métodos moleculares, en especial por *Xpert®MTB/RIF*, un test automatizado, en el que la muestra, previamente esterilizada, se introduce en un cartucho (*cartridge*), donde los bacilos son purificados y concentrados, el ADN aislado y las secuencias "blanco" amplificadas por PCR en tiempo real y detectadas por sondas moleculares fluorescentes. Estos procedimientos automatizados presentan mínimo riesgo biológico y reducen el tiempo al diagnóstico, el personal y la probabilidad de contaminación cruzada. Pero su instrumentación requiere una fuente de electricidad estable, control ambiental, calibración periódica, y fondos suficientes y continuados para el mantenimiento y recambio<sup>27</sup>.

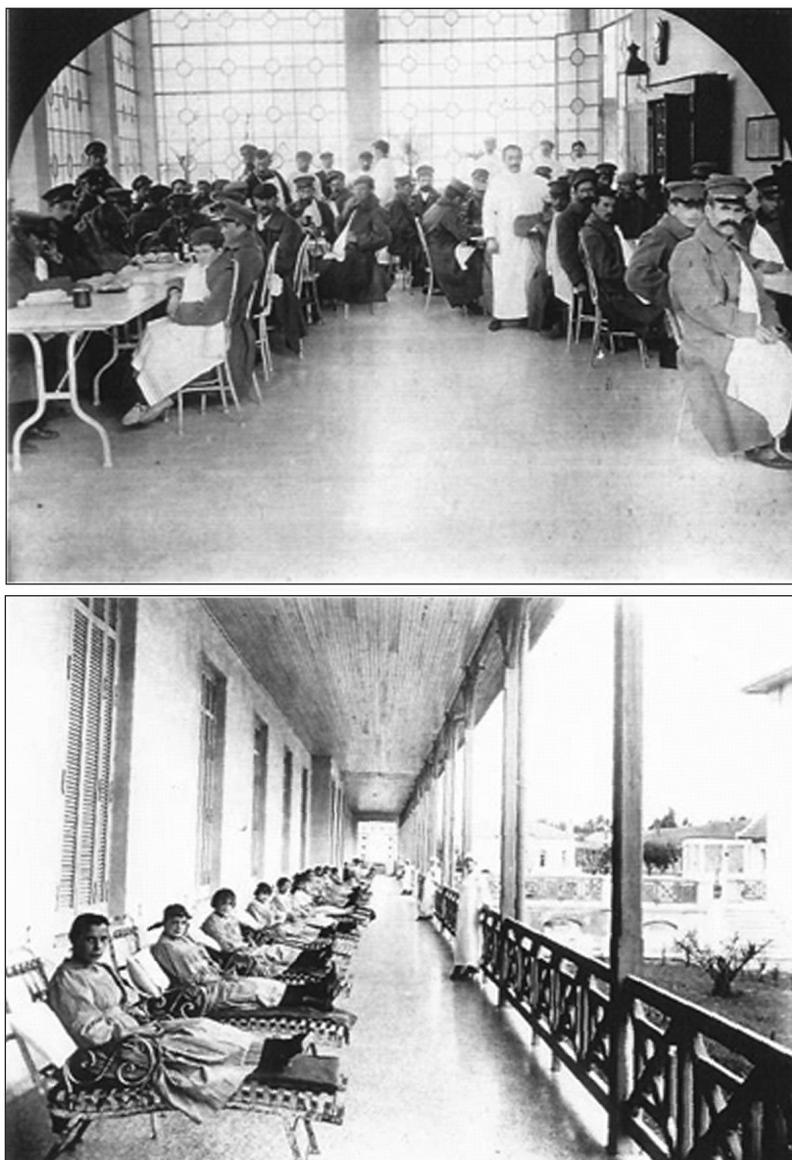


Fig. 1.— Hospital Tornú, alrededor de 1910. Gentileza de Dra. Marta Hoffman, 2013.

Aun en la era de los métodos rápidos moleculares, el cultivo y los métodos “convencionales” fenotípicos de determinación de la resistencia bacilar a los medicamentos siguen siendo los de mayor sensibilidad, y es contra ellos que se evalúa cada nuevo método propuesto. La enorme ventaja de los métodos moleculares es su rapidez, pero una desventaja es no poder determinar la proporción de bacterias drogo-resistentes, y por lo tanto no detectar niveles de resistencia (proporción de mutantes) con significación clínica. Sin embargo, es innegable su papel como rápido complemento de los métodos fenotípicos de determinación de la resistencia<sup>28, 29</sup>.

Con la emergencia de la MDR y la resistencia extendida (XDR), definida como la MDR más la resistencia

a una fluoroquinolona y al menos a una de las tres drogas de segunda línea inyectables (KM, amikacina, capreomicina) se ha propulsado el ensayo de otros medicamentos, nuevos o ya conocidos, que puedan emplearse combinados, para el tratamiento de estos casos. Entre los propuestos figuran linezolid (oxazolidinona), clofazimina, moxifloxazina, levofloxazina (fluoroquinolonas), meropenem-clavulonato, y rifapentina. Se hallan en estudio (experimental o en fase 2) algunas drogas bactericidas, tales como bedaquinina (diarilquinolina, TMC207), delamanid (nitroimidazoles), cuya actividad es aumentada al agregar PZA, y sutezolid (oxazolidinona)<sup>14</sup>.



Fig. 2.— Frasco para recolección de esputo, diseñado por el Dr. Peter Dettweiler en 1899, siendo él mismo paciente TB y un pionero de los sanatorios en Alemania. Se conocía a este frasco como “der blaue Heinrich” y fue el primer envase para muestras de esputo producido industrialmente (precio 1 Mark 50 Pf). Gentileza del Prof. Dr. Richard Urbanczik, Berlín, 2014.

Esta figura se puede observar en color en [www.medicinabuenaaires.com](http://www.medicinabuenaaires.com)

### Los brotes de tuberculosis multirresistente y con resistencia extendida

La TB-MDR emergió abruptamente en el mundo hacia fines del siglo XX, cuando los países industrializados ya se consideraban próximos a eliminar TB. El detonante fue el encuentro de las dos pandemias: TB y sida. La aparición de la TB-XDR estaba apenas un paso más adelante. Argentina no fue exceptuada de esta emergencia. A principios de los años 90 se registraron varios brotes de TB-MDR en Buenos Aires y Rosario cuyas secuelas aún estamos padeciendo<sup>30, 31</sup>. Esta expansión explosiva de cepas MDR de *M. tuberculosis* fue consecuencia de la exposición de un gran número de pacientes con infección HIV en ámbitos hospitalarios especializados. El brote más importante ocurrió en el Hospital Muñiz y fue provocado por la cepa M<sup>32</sup>. Si no hay registro anterior de la transmisión de esa cepa es porque recién entonces estuvieron disponibles las herramientas de genotipificación necesarias para documentarla. Muy pronto, la cepa M causó transmisión secundaria en otros hospitales de Buenos Aires y en distritos vecinos y se convirtió en el genotipo de *M. tuberculosis* MDR predominante en el país. Se la identificó como la responsable de la emergencia de TB-MDR en pacientes HIV-negativos sin historia previa de tratamiento anti-TB, muchos de los cuales eran trabajadores de salud<sup>33</sup>. Las medidas de control de infección hospitalaria, la aceleración del diagnóstico, la libre disponibilidad de drogas anti-TB de segunda línea, y la aplicación masiva de tratamiento anti-retroviral de alto impacto contribuyeron a controlar la epidemia hacia fines de los 90. A partir de entonces, la cepa M continuó

transmitiéndose, aunque con menor frecuencia. En algunos casos, aumentó su espectro de resistencia y continuó transmitiéndose como XDR. En un estudio sistemático de vigilancia de casos nuevos de TB-MDR y TB-XDR en todo el país en el período 2003-2009, la cepa M mostró por fin una leve tendencia a la declinación, pero todavía seguía siendo responsable de 29 y 40% del total de casos de TB-MDR y TB-XDR en Argentina, respectivamente<sup>34</sup>.

Mediante secuenciación genómica masiva y análisis bio-informático se reconstruyó la evolución de la resistencia en la cepa M. Se demostró que su ancestro común más reciente, ya en 1970 era resistente a INH y SM. En 1973, adquirió resistencia a RMP. En 1977 agregó resistencia a etambutol y hacia 1979 resistencia a KM. En esta cepa, la resistencia a PZA fue conferida por una única mutación que apareció en forma muy temprana, mucho antes que la cepa iniciara su expansión clonal, e inmediatamente después de que la PZA fuera incorporada al esquema estándar de tratamiento de primera línea en nuestro país en 1979. También fueron identificadas mutaciones potencialmente compensatorias de la pérdida de aptitud biológica que suelen producir las mutaciones de resistencia, pero no se encontró suficiente evidencia de que estas mutaciones hayan tenido influencia en la transmisión de la cepa M.

En síntesis, la cepa M ya era MDR 40 años antes de causar el brote. Muy temprano adquirió el *status* pre-XDR, mucho antes de que los conceptos de TB-MDR y TB-XDR fueran acuñados<sup>34</sup>. Durante décadas, continuó circulando en la comunidad en forma solapada sin que se detectara su extenso perfil de resistencia. Por fin, la cepa M encontró una enorme oferta de huéspedes hipersusceptibles concentrada en tiempo y espacio, causó el brote y, en algunos casos, progresó a XDR y se transmitió como tal<sup>19</sup>. Esto muestra que aun en países con una larga tradición de lucha contra la TB, las formas resistentes a drogas pueden perpetuarse durante largo tiempo sin ser advertidas, lo que representa una amenaza para la salud pública.

Un fenómeno similar fue descrito, también por secuenciación genómica masiva, en Tugela Ferry, Kwa Zulu-Natal, Sudáfrica, adonde ocurrió el mayor brote de TB-XDR registrado en el mundo, que se inició en 2005 y continúa hasta hoy con altísima mortalidad. La acumulación progresiva de mutaciones de resistencia ocurrió paso a paso y comenzó varias décadas antes de la explosión de sida en la región. Tal como sucedió con la cepa M, esas mutaciones dieron origen a cepas MDR y XDR y permitieron la aparición de mutaciones compensatorias. Estos resultados reflejan vulnerabilidades no solo recientes sino históricas en el control. También, igual que en nuestra cepa, la resistencia a INH fue la primera en aparecer, y no habría sido detectada por los métodos moleculares de diagnóstico rápido que se emplean actualmente en Sudáfrica y que solo detectan resistencia a RMP. Estos resultados cuestionan la estrategia actual

de los organismos internacionales que promueven el uso de la resistencia a RMP como subrogante de MDR<sup>35, 36</sup>.

### La tuberculosis multirresistente y la resistencia extendida en la Argentina hoy

En perspectiva, en la Argentina estamos aún padeciendo las secuelas de los brotes de TB-MDR de los años 90. En la actualidad, el mayor problema de la TB-MDR/XDR en nuestro país no reside en el número de casos sino en las enormes dificultades que plantean su control y el enorme desvío de recursos que representa. El tratamiento es personalizado y debe ser diseñado por un médico especialista con mucha experiencia en la TB-MDR/XDR. Aún así, las chances de curación de la TB-XDR son menores al 50%, y se reducen a medida que la cepa adquiere resistencia a un creciente número de drogas. Los esquemas terapéuticos, que deben prolongarse por lo menos durante dos años, incluyen un gran número de drogas de mucha menor eficacia y mayor toxicidad que las de primera línea. Los pacientes recaen con frecuencia, adquieren resistencia a más drogas, y suelen permanecer durante años en la comunidad como fuentes de nuevos casos virtualmente intratables.

La gran enseñanza de los brotes epidémicos, y de sus secuelas, sigue siendo la necesidad de asegurar: (i) la detección temprana de la TB y la resistencia a drogas, y (ii) la disponibilidad continua de tratamientos combinados eficaces de primera y segunda línea, en los que al menos dos medicamentos bactericidas sean activos, y que sean cumplidos hasta la negativización bacteriológica. Esto se aplica también, muy especialmente, a las nuevas drogas y a los nuevos esquemas combinados que se incorporen al tratamiento. En efecto, es necesario preservar su eficacia de modo de maximizar la enorme inversión en esfuerzo y tiempo que representan su desarrollo y evaluación<sup>14</sup>.

### La situación de la tuberculosis en la Argentina a 110 años del Premio Nobel de Koch

En un Editorial de *Medicina (B Aires)* de 10 años atrás, se afirmaba: "La absoluta prioridad para el control de la TB, y la principal acción para prevenirla, sigue siendo curar al enfermo con baciloscopia positiva, asegurando el cumplimiento del tratamiento para cortar la cadena epidemiológica mediante el tratamiento ambulatorio, temprano y controlado (TDO)"<sup>37</sup>. Esto conserva total validez.

De acuerdo a los informes periódicos de la OMS<sup>38</sup>, y al más reciente del Programa Nacional de Control de Tuberculosis (Buenos Aires, 1/10/2015), la situación de la TB en la Argentina se puede resumir así:

En 1990, cuando se firmaron los Objetivos de Desarrollo del Milenio (OMS), Argentina se había comprometido

do a reducir en 2015 la tasa de casos de TB a la mitad<sup>38</sup>. Actualmente, la tasa nacional se ubica en 22.5/100 000, por debajo de lo estimado en dichos objetivos. En el último decenio, la notificación de TB descendió aproximadamente un 3% anual para el total de casos nuevos en el país.

Respecto a la mortalidad por TB, el compromiso asumido por nuestro país en aquel entonces era reducir dicho indicador de 4.1 muertes/100 000 habitantes a la mitad. En los últimos años esa tasa ha registrado un fuerte descenso: si en 2003 era de 2.4 muertes/100 000, en la actualidad es de 1.8 muertes/100 000, lo que indica que Argentina ha superado ampliamente las previsiones<sup>38</sup>.

En 2014 se notificaron 9605 casos incidentes. Durante el mismo año 5832 casos de TB pulmonar fueron confirmados por bacteriología e iniciaron tratamiento. El porcentaje de éxito del mismo varía entre 78.6% en los pacientes "nuevos", sin tratamiento previo, y 61.6% en los "no nuevos" (ya tratados). Se alcanzaron mejores resultados con el tratamiento total o parcialmente supervisado (80% de éxito), que con el auto-administrado (74%).

Por otra parte, casi el 9% de los casos de TB son menores de 15 años. La tasa de notificación de TB en esas edades es de 9.9/100 000. El Ministerio de Salud ha lanzado la iniciativa: "Hacia cero muertes en TB infantil". Se cuenta para ello con un tratamiento efectivo, con una duración mínima de seis meses, que es de administración gratuita a través de todos los servicios de salud públicos.

Para terminar, queremos recordar que la TB ha marcado varios hitos en las ciencias médicas:

- Los postulados de Koch para determinar los agentes causales de enfermedades infecciosas
- La intradermorreacción para detectar infección por patógenos intracelulares, hipersensibilidad a drogas, y alergias
- Las bases para el descubrimiento de la inmunidad mediada por células
- Los ensayos clínicos aleatorizados
- Los tratamientos combinados de múltiples medicamentos, aplicados a varias enfermedades como lepra, malaria, cáncer y HIV

**Agradecimientos:** Las autoras expresan su agradecimiento a la Dra. Marta Hoffman y al Prof. Richard Urbanczik por las ilustraciones (Fig.1 y Fig.2), a la Dra. Beatriz López por la información sobre el Programa Nacional de Control de TB, y a los Dres. Isabel Miceli y Juan Antonio Barcat por la revisión y sugerencias sobre el manuscrito.

**Conflicto de intereses:** Ninguno para declarar

### Bibliografía

1. Blevins SM, Bronze MS. Robert Koch and the 'golden age' of bacteriology. *Int J Infect Dis* 2010; 14: e744-51.
2. Cambau E, Drancourt M. Steps towards the discovery of *Mycobacterium tuberculosis* by Robert Koch, 1882. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 196-201.

3. Walter L, Levine H, Jucker M. Koch's postulates and infectious proteins. *Acta Neuropathol* 2006; 112: 1-4.
4. Founders of our knowledge: Villemin JA. On the virulence and specificity of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2015; 19: 256-66.
5. Sakula A. Robert Koch: centenary of the discovery of the tubercle bacillus, 1882. *Thorax* 1982; 37: 246-51.
6. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med* 2006; 100: 1862-70.
7. Fogel N. Tuberculosis: A disease without boundaries. *Tuberculosis* 2015; 95: e527-31.
8. Aramburu H.G. Arena Andrés R. *Anales de la Acad Nac de Agr y Vet* 1976; 31:11-14.
9. Miceli I, de Kantor IN, Colaiácovo D, et al. Evaluation of the effectiveness of BCG vaccination using the case-control method in Buenos Aires, Argentina. *Int J Epidemiol* 1988; 17: 629-34.
10. Henao Tamayo M, Shanley CA, Verma D, et al. The efficacy of the BCG vaccine against newly emerging clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Future Microbiol* 2011; 6: 161-77.
11. Styblo K. Epidemiología de la Tuberculosis (Trad. Leonel Rojas). Santiago, Chile: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, 1979.
12. Rawson G. Escritos Científicos. Buenos Aires: Editorial Jackson, 1943, p 51-2.
13. Crofton J, Mitchison DA. Streptomycin resistance in pulmonary tuberculosis. *Br Med J* 1948; 2: 1009-15.
14. Schito M, Migliori GB, Fletcher HA, et al. Perspectives on advances in tuberculosis. Diagnostics, drugs and vaccines. *Clin Infect Dis* 2015; 61: S102-18.
15. Fox W, Ellard GA, Mitchinson DA. Studies on the treatment of tuberculosis undertaken by the British Medical Research Council Tuberculosis Units, 1946-1986, with relevant subsequent publications. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: S231-79.
16. Cetrángolo A, Dubra FA. Consideraciones sobre tuberculosos que eliminan bacilos de Koch resistentes a los tuberculostáticos. *Rev Asoc Med Arg* 1962; 76: 494-7.
17. Kantor IN, Barrera L. Susceptibility tests to second line drugs and re-treatment of tuberculosis. Revisiting early experiences. *Medicina (B Aires)* 2007; 67: 231-7.
18. Pérez JA, Amadio G, Fariás CE, Cafure N. El problema del tuberculoso pulmonar con gérmenes resistentes a dos drogas (incluida la isoniazida). *Revista Médica de Córdoba* 1962; 50: 225-43.
19. Eldholm V, Monteserin J, Rieux A, López B, Sobkowiak B, Ritacco V, Balloux F. Four decades of transmission of a multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* outbreak strain. *Nat Commun* 2015; 11-6: 7119.
20. Canetti G, Rist N, Grosset J. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Revue de Tuberc Pneumonol* 1963; 27: 217-72.
21. Cetrángolo A, Dubra FA. Consideraciones sobre tuberculosos que eliminan bacilos de Koch resistentes a los tuberculostáticos. *Rev Asoc Med Arg* 1962; 76:494-7.
22. Morlock GP, Metchock B, Sikes D, Crawford JT, Cooksey RC. *EthA*, *inhA*, and *katG* loci of ethionamide-resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Antim Ag Chemoth* 2003; 47: 3799-805.
23. Vareldzis BP, Grosset J, de Kantor I, et al. Drug resistant tuberculosis: laboratory issues. *Tubercle Lung Dis* 1994; 75: 1-7.
24. Laszlo A, Kantor IN. A random sample of initial drug resistance among tuberculosis cases in Latin America. *Bull WHO* 1994; 72: 603-10.
25. WHO. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report No.4. The WHO/IUATLD Global Project of Anti-TB drug resistance surveillance, WHO/HTM/TB/ 2008.894, Geneva 2008, p 43.
26. WHO. Global Tuberculosis Report, 2014. En: <http://www.who.int/tb/country/data/profiles/en/>; consultado el 10/10/2015.
27. WHO Policy Statement: Automated Real-Time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System. Geneva: World Health Organization 2011. En: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44586/1/9789241501545\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44586/1/9789241501545_eng.pdf); consultado el 10/10/2015.
28. Drobniowski F, Nikolayevsky V, Balabanova Y, Bang D, Papaventsis D. Diagnosis of tuberculosis and drug resistance: what can new tools bring us? *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16: 860-70.
29. Dorman S. Advances in the diagnosis of tuberculosis: current status and future prospects. *Int J Tuberc Lung Dis* 2015; 19: 504-16.
30. Morcillo N, Alito A, Romano MI, et al. Multidrug resistant tuberculosis outbreak in Buenos Aires. DNA fingerprinting analysis of isolates. *Medicina (B Aires)* 1996; 56: 45-7.
31. Aita J, Barrera L, Reniero A, et al. Hospital transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Rosario, Argentina. *Medicina (B Aires)* 1996; 56: 48-50.
32. Ritacco V, Di Lonardo M, Reniero A, et al. Nosocomial spread of human immunodeficiency virus-related multidrug-resistant tuberculosis in Buenos Aires. *J Infect Dis* 1997; 176: 637-42.
33. Palmero D, Ritacco V, Ambroggi M, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in HIV-negative patients, Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 965-9.
34. Ritacco V, López B, Ambroggi M, et al. HIV infection and geographically bound transmission of drug-resistant tuberculosis, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1802-10.
35. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006; 368: 1575-80.
36. Cohen KA, Abeel T, Manson McGuire A, et al. Evolution of extensively drug-resistant tuberculosis over four decades: whole genome sequencing and dating analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Kwa Zulu-Natal. *PLoS Med* 2015; 12: e1001880.
37. Miceli INP. Quousque tandem? Tratamiento autoadministrado en tuberculosis. *Medicina (B Aires)* 2005; 65: 553-6.
38. WHO. Global Tuberculosis Report, 2014. Tuberculosis country profiles. Argentina. En: <http://www.who.int/tb/country/data/profiles/en/>; consultado el 10/10/2015.