

## Epidemiología molecular de la tuberculosis en el Perú.

### Molecular epidemiology of tuberculosis in Peru.

Paolo Wong<sup>A</sup>, Maritza Puray<sup>A,B</sup>, Arturo Gonzales<sup>A</sup>, Carlos R. Sevilla<sup>A,B</sup>

#### RESUMEN

La tuberculosis (TB) es un gran problema de salud pública. La biología molecular ha aportado significativamente al estudio de la epidemiología de la TB a través de diversos métodos como el RFLP. Con ello se ha podido describir mejor los brotes epidémicos de TB, la dinámica de transmisión, el estudio de TB posprimaria, los factores de riesgo para TB en población general y en grupos vulnerables, la identificación de fuentes de contaminación en laboratorios u hospitales, la distribución geográfica de clones de *Mycobacterium tuberculosis* y la resistencia a medicamentos. En el Perú se han realizado diversos estudios moleculares para estudiar estos fenómenos epidemiológicos de TB, los que ayudarán a caracterizar con mayor precisión la situación de la TB en el país, proveyendo elementos clave para su control. Presentamos una breve revisión de cómo se ha estudiado molecularmente la TB en el Perú.

**PALABRAS CLAVE:** Tuberculosis, Epidemiología molecular, Dinámica de transmisión, Resistencia a antituberculosos

#### INTRODUCCIÓN

Algunos autores consideran que la epidemiología molecular es la incorporación de métodos y herramientas moleculares a las investigaciones epidemiológicas.<sup>1,2</sup> Tomando en cuenta la definición de epidemiología de Alarcón,<sup>3</sup> la epidemiología molecular podría ser definida como la ciencia que estudia las causas de la aparición, propagación, mantenimiento y descenso de los problemas de salud en poblaciones mediante el uso de las técnicas de la biología molecular -como el estudio del ADN para identificar biomarcadores en muestras humanas-, con la finalidad de prevenirlos o controlarlos.<sup>3,4</sup> Es decir, la biología molecular al servicio del enfoque epidemiológico.<sup>5</sup> Sin embargo, otros estudiosos consideran que la epidemiología molecular representa un cambio en el paradigma de las investigaciones epidemiológicas, ya que es una nueva manera de practicarla, con implicancias en su objeto de estudio y no sólo el uso de nuevas herramientas.<sup>1</sup> A pesar de las controversias en la definición, existe consenso en que las técnicas moleculares y el estudio de los genes y el genoma serán insumos básicos para el futuro de la epidemiología,<sup>1,5,6</sup> haciéndose extensivas a diversas áreas del conocimiento, como la epidemiología de las enfermedades infecciosas.<sup>1</sup>

Las enfermedades infecciosas son todavía un problema de salud a nivel mundial, sobre todo en los países en vías de desarrollo como el Perú, donde se mantienen como endemias o como enfermedades reemergentes. La biología molecular ha contribuido de manera importante a las investigaciones epidemiológicas de estas enfermedades, aportando nuevos conocimientos acerca de los agentes patógenos, los vectores y hospederos, y dando herramientas de mucha utilidad para la epidemiología como la identificación molecular y el rastreo genético.<sup>7</sup> Sumada a los métodos de la epidemiología convencional, la epidemiología molecular ha permitido una mejor comprensión de brotes epidémicos, cadenas y

dinámicas de transmisión, u otras características propias de los procesos infecciosos como la inmunidad y la resistencia al tratamiento.<sup>2,7,8</sup> Por la magnitud de cada enfermedad en la salud mundial, destacan entre estos estudios los aplicados a la malaria, la infección por VIH/Sida y la tuberculosis.

La tuberculosis (TB) sigue siendo un serio problema de salud pública, puesto que, según cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS), un tercio de la población mundial estaría infectado con el *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) y, sólo en el año 2006, habría matado a 1.7 millones de personas.<sup>9</sup> En los países de bajos recursos, se agrega además una elevada incidencia de tuberculosis resistente.<sup>9</sup>

Para el Perú, la TB es considerada como una prioridad sanitaria nacional, afectando a cerca de 50 000 peruanos cada año, la mayoría en Lima y Callao.<sup>10,11</sup> Asimismo, las alarmantes cifras de TB multidrogo resistente (MDR) y extensivamente resistente (XDR) colocan al Perú en el primer lugar de casos reportados para estas formas agresivas de TB en la región, casi al nivel de los países más pobres del África subsahariana,<sup>12</sup> siendo más afectadas las poblaciones de menos recursos y los estudiantes y profesionales de la salud. Si bien, a mediados de la década pasada el Perú mostraba un aparente control de los casos de TB sensible y era retirado de los 22 países con mayor carga de enfermedad, en los últimos años la TB resistente presenta una tendencia al aumento sostenido de casos, lo que ha llevado a plantear a algunos autores la necesidad de declarar a la TB como emergencia sanitaria nacional, para tomar medidas extraordinarias para su control.<sup>11</sup>

(A) Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética del Instituto de Medicina Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

(B) Departamento Académico de Microbiología Médica, Facultad de Medicina UNMSM.

Correspondencia a Paolo Wong: [pwongc@epiredperu.net](mailto:pwongc@epiredperu.net)

Recibido el 11 de mayo de 2011.

\* La epidemiología molecular fue inicialmente descrita y utilizada en los estudios sobre la patogénesis y transmisión del cáncer, y adquirió más relevancia con el desciframiento del genoma humano.<sup>5,6</sup>

Cita sugerida: Wong P, Puray M, Gonzales A, Sevilla CR. Epidemiología molecular de la tuberculosis en el Perú. *Rev peru epidemiol* 2011; 15 (1) [11 pp.]

Para poder controlar la transmisión y el impacto de la TB y la TB resistente es necesario conocer mejor las características que esta epidemia tiene en el país, y la biología molecular resulta una gran aliada para la investigación epidemiológica de la TB.

De manera general, los métodos moleculares incorporados al análisis epidemiológico de la TB se refieren principalmente a la diferenciación de cepas mediante el estudio del ADN de *Mtb*, a través de diversos análisis, como el polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés), estandarizado en 1993.<sup>27</sup> Este método, y los otros que describiremos brevemente, han brindado nuevos conocimientos sobre diversos aspectos de los fenómenos epidemiológicos de la TB que eran poco posible identificar mediante los métodos de la microbiología convencional,<sup>13</sup> como el diagnóstico sin sospecha clínica, el estudio de brotes epidémicos, el análisis de la dinámica de transmisión de la TB, el estudio de la TB latente -distinguiendo la reactivación endógena de la reinfección exógena-, la determinación de factores de riesgo para TB en población general y en grupos vulnerables (como los infectados con VIH/Sida), la identificación de fuentes de contaminación en laboratorios u hospitales, y el estudio de la distribución geográfica de clones de *Mtb*, así como el creciente problema de la TB MDR y XDR.<sup>2</sup> Además de ello, y del mismo modo que en la epidemiología convencional, también son de mucha utilidad los reportes de casos y la evaluación de las intervenciones utilizando las herramientas moleculares.

Entonces, teniendo en cuenta los conceptos y utilidades descritos, así como la pertinencia de la investigación en TB en el país, hemos llevado a cabo una revisión bibliográfica sobre la epidemiología molecular de la TB, los métodos moleculares que se vienen implementando y cómo han sido utilizados algunos de ellos en el Perú para el estudio de los fenómenos epidemiológicos mencionados.

## MÉTODOS MOLECULARES PARA EL ESTUDIO DE TB

Mediante el desarrollo y mejoramiento de las técnicas moleculares se pudo integrar los métodos de estudio de genotipo y la clásica investigación de epidemiología para la conocer la distribución de la enfermedad y comprender los mecanismos o modos de transmisión de TB. Como hemos mencionado anteriormente, entre las aplicaciones de la epidemiología molecular en TB podemos citar la detección de transmisión sin sospecha clínica, estimación de la extensión de una infección, identificación de contaminación cruzada en el laboratorio, diferenciación entre reinfecciones y reactivaciones de los pacientes, identificación de una misma cepa en micropoblaciones y distribución de cepas resistentes.<sup>28</sup> Asimismo, el mejoramiento de los sistemas de estudio, donde el acceso a la información de los diferentes genotipos es clave, permite a los investigadores no sólo realizar evaluaciones retrospectivas, sino también estudios prospectivos que generen intervenciones oportunas para la mejora del programa de control de TB.

La mayoría de los primeros estudios de epidemiología molecular aplicados en TB se basaron en el uso del método RFLP de la secuencia de inserción IS6110 de *Mtb* y -debido a su reproducibilidad, poder discriminativo y relativo bajo costo- fue considerado por varios años el método de referencia,<sup>44,45</sup> permitiendo caracterizar genéticamente aislamientos de *Mtb* discriminando entre cepas relacionadas y no relacionadas, en la identificación y estudio de resistencia. La aplicación de esta metodología se realizó en el Perú, con las investigaciones publicadas entre los años 2002 y 2006.<sup>28,46-47</sup> Sin embargo, el método IS6110-RFLP es laborioso y requiere de un buen crecimiento de bacterias en los medios de

cultivo, lo que ocasiona demora en la obtención de genotipos. Además, hay evidencia que una alta proporción de aislamientos tendrían bajo número de copias de IS6110.<sup>44</sup> Los métodos cuyo blanco incluye secuencias esparcidas polimórficas en la regiones de repeticiones directas (DR-direct repeat), incluyendo el spoligotipo, resultan buenos para la investigación; sin embargo, este método subestima la diversidad clonal cuando se trabaja solo.<sup>29</sup> Con el conocimiento de la secuencia completa del genoma de *Mtb* cepa H37Rv<sup>34</sup> se pudo evaluar otros genes para lograr un estudio epidemiológico.

En los últimos años se han desarrollado métodos alternativos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), los cuales podría mejorar los sistemas de intervención, utilizando los VNTR (variable number tandem repeat). En paralelo, investigaciones más tradicionales han sido mejoradas con la inclusión de marcadores fluorescentes en el análisis IS6110 - amplified fragment length polymorphism (AFLP).<sup>29</sup>

La integración de nuevas herramientas para el estudio de genotipo incluye el spoligotipo y MIRU-VNTRs (locus 12, 15 o 24). Esto ha permitido mejorar las investigaciones epidemiológicas clásicas sobre todo por la posibilidad de contar con una base de datos disponible para comparar los datos a partir de MIRU-VNTR.

### Diagnóstico molecular de TB

Han transcurrido más de veinte años desde las primeras publicaciones del uso de un método de amplificación para el diagnóstico molecular de TB.<sup>16,17</sup> Desde entonces, estos métodos han permitido la obtención de resultados más rápidos comparados con los métodos tradicionales. Los métodos moleculares no solo han contribuido en el diagnóstico sino también en la tipificación y la detección de resistencia a drogas en el estudio de TB.<sup>18-20</sup> Se han evaluado diferentes protocolos en la búsqueda de un sistema óptimo de amplificación a partir de muestras biológicas, muchos de los cuales utilizan la secuencia de inserción IS6110, ADNr 16S ribosomal y ARN 16S ribosomal. Sin embargo, es difícil evaluar la efectividad de los métodos si no consideramos parámetros como la prevalencia de la enfermedad en la evaluación de la especificidad, sensibilidad y valores predictivos negativo y positivo. Igualmente, es necesario considerar la presencia de inhibidores de acuerdo al tipo de muestra a evaluar, esputo u otros fluidos corporales.<sup>21-24</sup>

### Métodos para estudio de ácidos nucleicos

#### IS6110-RFLP:

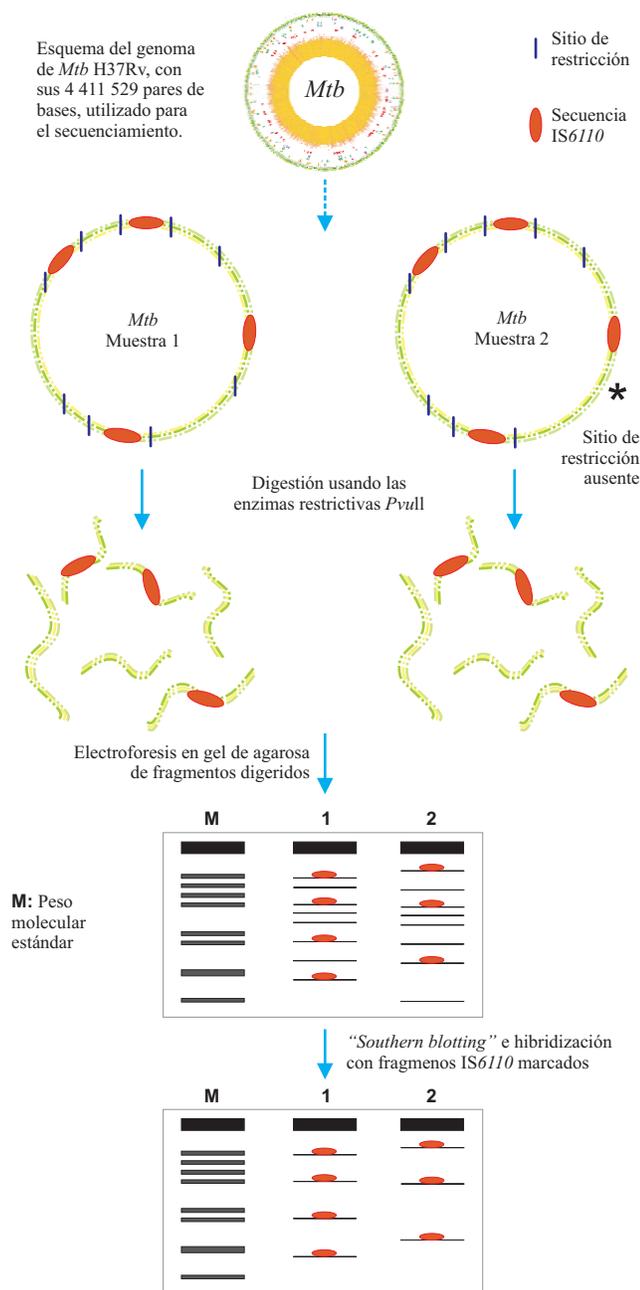
La secuencia de inserción 6110 (IS6110) que se detecta en las especies del complejo *Mtb* tiene 1 361 pares de bases (pb). En un inicio, esta secuencia fue utilizada para la detección de *Mtb* en muestras clínicas mediante la amplificación de ADN.<sup>25</sup> El polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP: restriction fragment length polymorphism) del gen IS6110 ha contribuido en el estudio epidemiológico discriminando cepas relacionadas y no relacionadas clonalmente.<sup>26-28</sup> Por muchos años fue considerado el método de referencia; sin embargo, requiere intensa labor, cultivo, poder discriminativo y la base de datos RIVM.<sup>45</sup> En la Figura 1 podemos observar un esquema de la prueba de RFLP IS6110.

#### Pruebas basadas en PCR

Tiene reproducibilidad, poder discriminativo cuando se usa en asociación, requiere de las bases de datos en IP Guadeloupe, CDC Atlanta e IP Lille/Borstel.

- **DVR-Spoligotyping:** La técnica *Direct Variable Repeat Spacer Oligonucleotide Typing* se basa en la amplificación mediante PCR de una región locus DR (direct repeat) altamente polimórfico, obteniéndose un patrón (perfil de spoligotipo).<sup>29-31</sup>

FIGURA 1. Método RFLP de la secuencia de inserción IS6110 de *Mtb* para diferenciación de cepas de dos muestras



- **MIRU-VNTRs (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units - Variable Number Tandem Repeats):** Mediante una PCR se amplifica una selección de loci MIRU-VNTR. Estos loci (locus 12, 15 y 24) son elementos que se repiten en tándem (de 40 a 120 pares de bases) y están localizados en regiones intergénicas del genoma de los miembros del complejo *Mtb*.<sup>32-34</sup> Este método está siendo considerado como referencia en el estudio epidemiológico de cepas de *Mtb*.

**Métodos comerciales**

- **GenoType® MTBDRplus:** Prueba de hibridación en fase sólida, puede detectar e identificar el complejo *Mtb* a partir de aislamientos en cultivos y muestras clínicas. Sin embargo, su aplicación mayor es

la detección de resistencia rifampicina e isoniazida.<sup>40</sup>

- **GeneXpert System:** Mediante PCR en tiempo real, amplificación y detección simultánea mediante sondas marcadas. A partir de muestras clínicas con la adición de hidróxido de sodio y alcohol, utiliza un cartucho y permite detectar la secuencia blanco. El sistema GeneXpert MTB/RIF incluye la detección del complejo *Mtb* y de la resistencia a rifampicina en un mismo análisis.<sup>36</sup>

**Resistencia a drogas mediante detección molecular de Mtb**

Los métodos moleculares para el estudio de resistencia a drogas tienen como principio amplificar la zona "blanco" de acción del antibiótico, con un consecuente estudio de la mutación del gen asociado a la resistencia al antibiótico, siendo el método referente el secuenciamiento (Tabla 1). Aunque ampliaremos posteriormente, los principales genes asociados a la resistencia a antibióticos se describen a continuación de acuerdo al tipo de droga empleada.<sup>37</sup>

**Resistencia a rifampicina:**

El gen estudiado es *rpoB* (sub unidad β de la ARN polimerasa) asociado con mutaciones entre los codones 507 a 533. Se conoce que más del 95% de la resistencia a rifampicina tiene una mutación en esta zona. Los primeros métodos empleados fueron el secuenciamiento basado en PCR o el análisis del polimorfismo conformacional de cadena simple (PCR-SSCP),<sup>38</sup> siendo ahora complementados por los métodos comerciales.

**Resistencia a fluoroquinolonas:**

Las quinolonas bloquean la topoisomerasa II (heterotetramero con dos subunidades A y B), denominado ADN girasa del *Mtb*. Los genes que la codifican son *gyrA* y *gyrB*, que están asociados en su mayoría con mutaciones entre los codones 67 a 106.<sup>39,40</sup> Existen métodos comerciales que detectan mutaciones *gyrA*.

**Resistencia a isoniazida:**

La isoniazida es una prodroga que requiere activación de la enzima catalasa-peroxidasa (KatG), la cual es codificada por el gen *katG*, para luego inhibir la enzima enoil-ACP reductasa dependiente de NADH codificada por el gen *inhA*. Las mutaciones del gen *katG* varían de acuerdo al origen geográfico de los aislamientos, en tanto que puede existir alteración o sobreexpresión de *InhA*. Otros genes cuyas mutaciones también están relacionadas a resistencia son: *kasA*, *ahpC*, *ndh* que codifican β-cetoacil ACP sintetasa, alclilhidroperoxido reductasa y NADH dehidrogenasa respectivamente. Los métodos de estudio de las mutaciones incluyen amplificación e hibridación.<sup>41</sup>

**Resistencia a pirazinamida:**

El gen estudiado es *pncA* (que codifica la pirazinamidasa) asociado con mutaciones diversas. Sin embargo, algunos aislamientos resistentes no han mostrado ninguna mutación, por lo que algunos investigadores sugieren que aún hay mecanismos que deben estudiarse.<sup>42</sup>

**Resistencia a etambutol:**

Los genes *embA*, *embB* y *embC* codifican tres proteínas homólogas de la enzima arabinosiltransferasa. Los métodos de estudio de las mutaciones incluyen amplificación e hibridación inversa.<sup>37,38</sup>

**ESTUDIO DE LA DINÁMICA DE TRANSMISIÓN DE TB**

La dinámica de transmisión se refiere básicamente a la velocidad de propagación de una enfermedad infecciosa a través de la población, que es medida mediante la tasa de reproducción de la infección. Este parámetro toma en cuenta la locación espacial, la tasa de contagio entre grupos y la infecciosidad entre cada caso.<sup>15</sup> La epidemiología

TABLA 1. Comparación de diferentes métodos comerciales de amplificación de ácidos nucleicos para la detección del complejo *Mtb* de muestras clínicas (Tomado de Alcaide F, et al).<sup>49</sup>

Ensayo	Método de amplificación	Blanco	Detección	Volumen de muestra (µL)	Cambio de tiempo (h)	Automatización	Control interno de amplificación
Cobas Amplicor	PCR	16S rRNA	Colorimétrica	100	6-7	Sí	Sí
AMTD	TMA	16S rRNA	Quimioluminiscencia	450	2.5	No	No
LCx	LCR	PAB	Fluorométrica	500	6	Sí	No
BD Probe Tec	SDA	IS6110 - rRNA	Fluorométrica	500	3.5-4	Sí	Sí
Inno-Lipa	Nested-PCR	Gen <i>rpoB</i>	Colorimétrica	500	12	Sí	No
GenoType MD	NASBA	23S RNA	Colorimétrica	500	5.5	Sí	Sí
RT-PCR	Real Time PCR	16S rRNA	Fluorométrica	10-100	2-3	Sí	Sí
GeneXpert	Real Time PCR	Gen <i>rpoB</i>	Fluorométrica	1 000	2	Sí	Sí
GenoQuick	PCR	IS6110	Colorimétrica	500	2.5	No	Sí

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa; LCR: reacción en cadena de la ligasa; NASBA: amplificación basada en secuencia de ácido nucleico; SDA: amplificación de desplazamiento de cadena; TMA: amplificación mediada por transcripción.

convencional utiliza el estudio de los contactos tuberculosos para aproximarse a la dinámica de transmisión de la TB, investigando parientes, compañeros de trabajo, convivientes y personas cercanas a un caso de TB confirmado, midiendo la carga de TB entre contactos, los factores de riesgo y el tiempo de ocurrencia de un caso secundario.<sup>16</sup> De esta manera, ha sido posible determinar el riesgo de contraer TB intradomiciliariamente y en la comunidad.<sup>16</sup>

Uno de los aspectos más importantes para establecer la posible dinámica de transmisión y caracterizar un brote epidémico es determinar la clonalidad de las muestras aisladas. Este es un gran aporte de la biología molecular, ya que se pueden identificar aislamientos genotípicamente relacionados en *clusters* utilizando técnicas moleculares, a través de la detección de patrones idénticos de *fingerprinting* de *Mtb* (Figura 2). Si existen clones diferentes entre los casos, ha de considerarse que una de las muestras no es parte de la cadena de transmisión.<sup>2</sup> Más adelante explicaremos la distribución clonal de *Mtb* en el Perú.

**Reactivación endógena y reinfección exógena**

En países como el nuestro, un gran porcentaje de la población se encuentra expuesto al *Mtb*. Es difícil encontrar cifras exactas, pero muchos de los expuestos al bacilo no llegan a ser infectados por éste o lo eliminan rápidamente, mientras que otro grupo desarrolla la infección por TB. Según el paradigma convencional, dentro de este grupo es posible encontrar los siguientes estadios de la enfermedad: la primoinfección o TB primaria (generalmente en la niñez), la TB posprimaria temprana dentro de los primeros años del contagio (cerca del 10% de las personas infectadas con *Mtb*), y la TB latente, en la cual los pacientes pueden mantener inactiva la enfermedad por largos periodos. Luego de ello, si el paciente con TB latente desarrolla la infección activa, se denomina reactivación endógena. Existe además la posibilidad de que un mismo paciente con antecedente de TB pueda adquirir nuevas infecciones por *Mtb*; lo que se denomina reinfección exógena.<sup>50</sup>

En lugares de baja prevalencia, como USA, el 80% de los casos de TB activa provienen de una infección latente reactivada.<sup>51</sup> En estos lugares, el criterio epidemiológico es muy útil para determinar como

TB reactivada a la presencia de enfermedad activa en un paciente con antecedente de TB. Sin embargo, en países de alta prevalencia como el Perú o India, la mayoría de las formas se deben a TB posprimaria temprana y a reinfecciones exógenas.<sup>50</sup>

La determinación de un caso como TB reactivada o una nueva reinfección por TB en países de alta prevalencia se hace difícil sólo con criterios epidemiológicos. Aquí entran a tallar las herramientas moleculares, como el RFLP. Estas han relativizado muchos de los postulados de la epidemiología convencional, incluso en los países desarrollados que han logrado controlar la TB.<sup>50</sup>

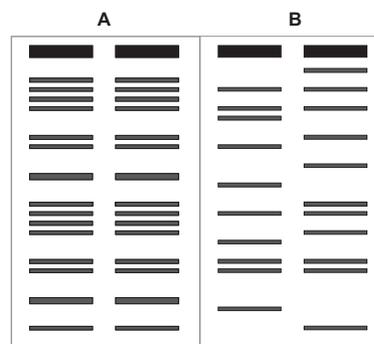
En la Figura 3 se aprecia de manera simple cómo un estudio de *fingerprinting* RFLP IS6110 de *Mtb* puede ayudar a diferenciar una reinfección exógena de una reactivación endógena.

Asimismo, la epidemiología convencional tiene limitaciones para estudiar los casos de TB latente, ya que en muchas ocasiones se trata de pacientes sin sospecha clínica actual, y no se dispone de biomarcadores eficientes aún. Por esto, en los últimos años se viene investigando citokinas y otros marcadores moleculares de la respuesta inmune a TB en busca de un indicador adecuado para medir la respuesta inmune a la infección por *Mtb* y diagnosticar la TB latente.

**Rol del sistema inmune**

La inmunidad del infectado y características genéticas del mismo juegan un papel importante en la historia natural de la enfermedad, en la eliminación del bacilo o en la TB latente. Esta, en presencia de otros factores externos de transmisión, favorece el incremento de nuevos casos.

FIGURA 3. Diferenciación entre TB endógena versus transmisión activa mediante métodos moleculares.



A. Se muestra la comparación entre dos muestras con huellas idénticas de RFLP del IS6110. En este caso, se podrían esperar nexos epidemiológicos entre los pacientes y suponer que se trata de transmisión activa de la enfermedad por una fuente común o reinfección exógena. B. Cuando las muestras proveen patrones diferentes de RFLP IS6110 no se esperarían que estén relacionadas epidemiológicamente se podría suponer que corresponde a una reactivación endógena.

FIGURA 2. Modelo de conformación de grupos genotípicamente similares en *clusters*.

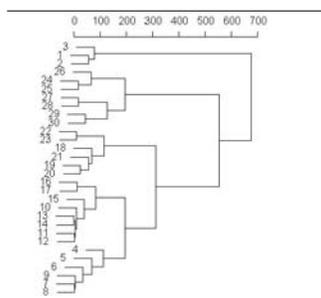
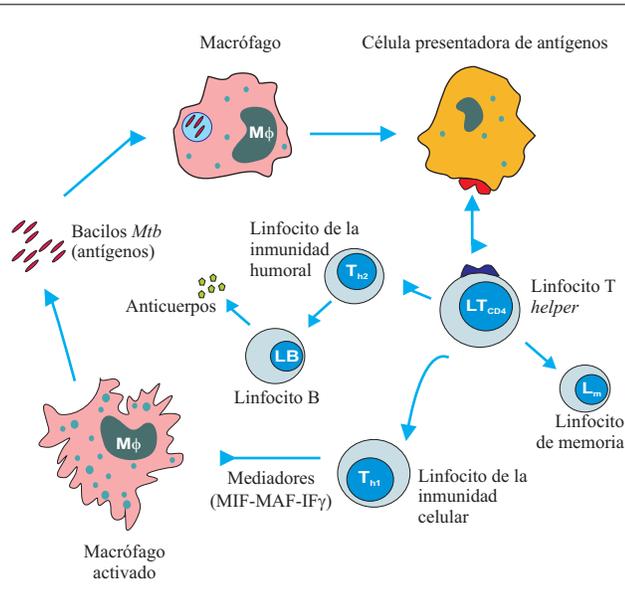


FIGURA 4. Respuesta inmune celular en tuberculosis (Tomado de Farga & Caminero<sup>50</sup>)



MIF: Factor inhibidor de la migración del macrófago; MAF Factor activador del macrófago; IFγ: Interferón gamma.

El primer contacto que tiene el *Mtb* con el sistema inmune es a través de los Receptores de Reconocimientos de Patrones (receptores tipo Tolk TLR, receptores tipo RIF-I, receptores tipo NOD y receptores lectinas tipo C), activando a la inmunidad innata para la producción de moléculas efectoras para el control de la infección y modular la inmunidad adaptativa. La autofagia de los bacilos por parte de los macrófagos es otro mecanismo de eliminación bacteriana. Entre los TLR estudiados, se encuentra el TLR9 que reconoce a la secuencia palindrómica del ADN del *Mycobacterium* 5'-CG-3' (CpG), esta interacción induce el aumento de actividad de las células NK e induce la producción de interferones tipo I; el TLR2 de los macrófagos, son receptores para varios glicolípidos de la pared de las mycobacterias (lipoarabinomannano, lipomannano, fosfatidil-myo-inositol manosido) además de la lipoproteína 19-KDa de *Mtb*. Los receptores tipo NOD ( NOD2, NRLP1, NRLP3 IPAF) reconocen otros patrones moleculares del *Mycobacterium*; los NOD2 reconocen al dipéptido muramyl del peptidogluano, y NRLP1, NRLP3 e IPAF favorecen la secreción de IL-1β e IL18. Los receptores tipo lectina C reconocen a la manosa bacteriana favoreciendo la fagocitosis.

La primera línea de defensa contra la infección, esta dado por las células fagocíticas de la inmunidad innata celular (macrófagos alveolares, macrófagos del parénquima pulmonar y células dendríticas) que inician una respuesta inflamatoria local, reclutando células monocucleares al sitio de infección, las *Mtb* son fagocitadas por las células presentadoras de antígenos (CPA) y luego presentadas los linfocitos T vírgenes. La evasión inmune durante la fagocitosis del *Mtb* es por inhibición de la acidificación fagosoma o por escape del fagosoma hacia el citosol (Figura 4).

La infección activa de la TB en el hospedero comprende la presencia de mutaciones y al polimorfismos de los genes relacionados a la inmunidad innata, por ejemplo la proteína Nramp1 (proteína del macrófago asociada a resistencia natural) podría estar involucrada en la unión de cationes como el Fe<sup>2+</sup> en la membrana del fagolisosoma causando la muerte de la bacteria; la proteína Nramp1 es codificada por el gen SLC11A1, cuyo polimorfismo esta

relacionado a agentes infecciosos intracelulares. Además el polimorfismo del genotipo del TLR2 ha sido asociado a susceptibilidad tuberculosa. Uno de los factores en el medio ambiente del tejido infectado, observado en animales de experimentación, durante el estado de latencia de la infección, es atribuida a la hipoxia, y ello depende de un sistema regulatorio de dos componente (dosRS), el sistema regula la transcripción de 50 genes bajo condiciones de hipoxia y en respuesta a oxido nítrico. Bajo condiciones de estrés el monóxido de carbono producido por *Mtb* regula al regulon dosR favoreciendo la sobrevivencia del *Mtb* *in vivo*. Algunos genes del regulon 2R como el nar X, es previsto a codificar para la nitrato reductasa permitiendo a la bacteria a adaptarse a hipoxia. Genes de la nitrato reductasa (acg, RV3127y Rv3131) podrían proteger al *Mtb* del estrés a nitrógeno.

Los linfocitos helper T<sub>CD4+</sub> (T<sub>H1</sub> y T<sub>H17</sub>) producen IFN γ e IL-17 los cuales ejercen una función protectora contra la enfermedad. La inmunidad activa es evocada cuando las CPA presentan los antígenos del *Mtb* por medio de la moléculas HLA-II hacia los linfocitos T<sub>CD4+</sub> específicos a *Mtb*, desencadenando una mayor respuesta de tipo celular (T<sub>H1</sub>). Durante la primoinfección TB es controlado por la formación de granuloma, limitando la diseminación de la bacteria. Por tal motivo, los brotes de nuevas infecciones pueden tomar tiempo hasta que haya una disminución de la inmunidad.

## RESISTENCIA A DROGAS ANTITUBERCULOSAS

### Antituberculosos de primera línea

#### Resistencia a la Rifampicina

La rifampicina (RIF) fue introducida para uso de la terapia antituberculosa en el año de 1972.<sup>51</sup> Es utilizada en pacientes infectados con cepas sensibles a este medicamento o por lo menos a isoniazida o estreptomocina. El descubrimiento del sitio de acción de la RIF se llevó a cabo gracias a estudios realizados en *Escherichia coli*,<sup>52,53</sup> los cuales también dieron información auxiliar para la comprensión de las bases moleculares de la resistencia a la RIF en *Mtb*.

La rifampicina actúa a nivel de la subunidad β de la RNA polimerasa, codificada por el gen rpoB, inhibiendo la etapa de la transcripción. El 95% de los casos de cepas RIFR se da por mutaciones puntuales, inserciones y deleciones en una región limitada del gen rpoB, de 81 pares de bases (pb), confiriendo 35 variantes alélicas distintas.<sup>54-56</sup>

Las mutaciones que predominan en esta región son las dadas en los codones Ser53 I Leu, His526 Tyr y Asp516 Val.<sup>57,58</sup>

La resistencia se puede dar por un inadecuado esquema de tratamiento o por mutaciones espontáneas en cepas no expuestas previamente a drogas antituberculosas, en este último caso la tasa de mutación es de una mutación por cada 10<sup>7</sup> a 10<sup>8</sup> organismos.<sup>59</sup>

Con respecto al 5% restante de cepas RIFR que no pueden explicarse por mutaciones en el gen rpoB, definitivamente implica por lo menos un mecanismo de resistencia adicional como la alteración de la permeabilidad o mutaciones en otras subunidades de la RNA polimerasa ya que la RNA polimerasa esta compuesto por cuatro subunidades distintas (α, β, β', σ), codificadas por los genes rpoA, rpoB, rpoC,

rpoD.

Es poco común encontrar solo cepas RIFR, ya que generalmente esta resistencia va acompañada a otros medicamentos como la isoniazida, en el 90% de los casos.<sup>60</sup> Es por esto que la detección, de cepas RIFR, constituye un marcador para la detección de cepas multidrogoresistentes (TB-MDR).<sup>61</sup>

En el Perú, los estudios respecto a la epidemiología molecular de la resistencia a rifampicina son escasos. En el año de 1998, Escalante y cols. realizaron un estudio con muestras de esputo de personas que vivían en Lima y Cusco, en el cual encontraron que las mutaciones más frecuentes, presentes en el gen rpoB, estuvieron dentro de la región hipervariable de 81 pb y los codones Ser531 y His526 fueron los más afectados con 61.1% y 27.7% respectivamente.<sup>62</sup> En el año 2002, Agapito y cols. estudiaron 62 cepas de *Mtb*, detectando 52 cepas RIFR, 96% de estas cepas tuvieron mutaciones en la región hipervariable del gen rpoB, encontrando 20 diferentes alteraciones genéticas, el 70% de estas mutaciones ocurrieron en los codones Ser-531 y His-526, siendo complementarios con los hallazgos de Escalante y cols.<sup>63</sup> También se encontró, solo, una cepa RIFR que no tuvo mutación alguna en esta región hipervariable, confirmando que existe más de un mecanismo necesario para la resistencia a la rifampicina como es descrito por otros autores (4,5) y por último en este estudio se reportó que todas las cepas RIFR con excepción de 2, tenían resistencia a por lo menos un fármaco más, constituyendo 98% de cepas multidrogoresistentes (TB-MDR), confirmando la estrecha relación de la detección de cepas RIFR con la resistencia a otros medicamentos antituberculosos, siendo un marcador útil, también en el Perú, para la detección rápida de cepas MDR.

Espinoza y cols. hicieron lo propio en el estudio titulado "Frecuencia de mutaciones genéticas asociadas a multidrogoresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*",<sup>64</sup> en el cual se analizaron 88 muestras para el gen rhoB, en el cual se encontró un predominio de mutaciones en el codón 531, el cual representó el 68.2% de las mutaciones analizadas para este gen, la mutación del codón Ser531Leu correspondió al 67.05% de estas, también se encontraron mutaciones en el codón 526 (12.5%) y 516 (14.8%) y, teniendo una correspondencia con los hallazgos por Agapito y cols., se halló un 1% de cepas RIFR cuyas mutaciones no estuvieron dentro de la región de 81pb, concluyendo que tal vez sea por mutaciones en el codón 176 o fuera del cluster I. S.S.Shin y cols., en un estudio realizado con personas al norte de Lima-Perú, tuvieron hallazgos semejantes a los ya descritos, 70% de mutaciones en los codones Ser531 y His516.<sup>65</sup>

#### Resistencia a la isoniazida

La isoniazida o hidrazina del ácido isonicotínico (INH), fue descubierta en los inicios de 1900s pero su acción antituberculosa fue descubierta en 1951.<sup>66</sup> Considerado la médula espinal junto a la RIF en el tratamiento contra la tuberculosis, tiene acción inhibiendo la biosíntesis de los ácidos micólicos que componen la pared celular, tornando

susceptible la bacteria a los radicales de oxígeno u otros factores del medio.<sup>67</sup> La resistencia a INH está asociada a una variedad de mutaciones que afectan más de un gen como:

**katG.-** Este gen codifica a la enzima catalasa-peroxidasa. Esta enzima es la única que tiene la capacidad de transformar a la INH en su forma activa.<sup>68</sup> La mayoría de las alteraciones son encontradas entre los codones 138 y 328, siendo la mutación en el codón Ser315Thr la más común, representando el 30-60% de las cepas INHR.<sup>67</sup> Sin embargo, no todas las mutaciones en este gen corresponden a cepas resistentes como por ejemplo es el caso de Arg463Leu, el cual es el polimorfismo más común no asociado a cepas INHR.<sup>69</sup>

**inhA.-** Este gen codifica la enzima enoyl-carrier protein (ACP) reductasa. Esta enzima forma un complejo activo con el NADH el cual tiene la función de reducir la molécula 2-trans-octenoyl-acyl carrier protein, importante en la biosíntesis de ácido micólico.<sup>70</sup> La acción de la forma activa de la INH es la unión al complejo inhA-NADH, imposibilitando su acción y procurando la inhibición de ácidos micólicos.<sup>79</sup> La resistencia se produce por dos motivos: el primero es la mutación del gen inhA, modificando su afinidad por el NADH y resultando en la expresión de un fenotipo INHR. Se han identificado siete puntos de mutación (Ile16Thr, Ile21Thr, Ile21Val, Ile47Thr, Val78Ala y Ile95Pro, Ser94Ala),<sup>57,71</sup> dentro de la región codificadora. La segunda causa, la cual corresponde a la mayoría de casos de resistencia a INH por mutación del gen inhA, se da por mutaciones en la región promotora del gen inhA, en las posiciones -24(G-T), -16(A-G), -8(T-G/A) y -15(C-T),<sup>69</sup> causando una sobre expresión de la enzima y llevando a una baja tasa de resistencia. Las mutaciones en la región promotora del gen inhA ocurren en el 20-34% de cepas INHR ya sea solo o en combinación con mutaciones en el gen katG.<sup>55</sup> Las mutaciones de los genes katG e inhA son encontradas en el 75-85% de los aislamientos de cepas INHR.<sup>57</sup>

**oxyR-aphC.-** Este gen codifica a la enzima alkyl hidroperóxido reductasa la cual tiene como función la detoxificación del daño causado por los peróxidos.<sup>72</sup> Esta enzima tiene mayor actividad cuando se producen mutaciones en el gen katG (Ser315Thr), debido a una falta de actividad de esta, sin embargo no se presenta ningún cambio cuando existe la mutación en el codón Arg463Leu,<sup>57,69</sup> es por esto que las mutaciones en el gen aphC se postulan principalmente como un marcador de resistencia a INH. Se han identificado cinco mutaciones en la región promotora.<sup>57</sup> Sin embargo se requieren más estudios para llegar a una conclusión definitiva.

**kasA.-** Este gen que codifica a la enzima  $\beta$ -ketoacyl ACP syntase, interviene en la biosíntesis del ácido micólico. La resistencia producida por sus mutaciones confiere resistencia a la INH.<sup>69,72</sup> Se han detectado cuatro mutaciones que envuelven a los codones 66, 269, 312 y 413. Sin embargo, hay estudios que muestran mutaciones de estos mismo codones en cepas INHS.<sup>73,74</sup>

Sin embargo estos no son los únicos genes relaciones con

cepas INHR. Se han encontrado mutaciones en diversos genes como: furA, iniA, iniB, iniC, ndh sin embargo en muy bajo porcentaje<sup>75,76</sup> y efpA podrían estarlo sin embargo se ha encontrado mutaciones en cepas INHS y INHR.<sup>75</sup>

La resistencia molecular a INH en el Perú ha sido descrita por pocos autores y muy pocos de sus genes han sido estudiados. Escalante, en el año de 1998, fue el primero en el Perú, en reportar el patrón de resistencia molecular a INH, utilizando la técnica molecular de secuenciamiento, estudió el gen katG y determinó en 24 cepas INHR, 79% de mutación en el codón Ser315Thr; sin embargo, hubieron cinco cepas INHR, determinadas por estudios fenotípicos, que no pudieron explicar su resistencia a nivel molecular, esto fue debido a la falta de estudios de otros genes relacionados con la resistencia a isoniazida.<sup>62</sup> Calderón, utilizando la técnica molecular PCR - Single-strand conformation polymorphism (SSCP), analizó la implementación de este método en reemplazo al método referencial de proporciones,<sup>77</sup> encontrando una correlación de 80% en pacientes con resistencia primaria y de 90.9 en pacientes con resistencia adquirida, teniendo una correlación total del 83.9%, postulando este método como alternativo para contribuir con la predicción de la resistencia y TB-MDR en pacientes con riesgo. Posteriormente este mismo autor realizó un estudio titulado “Frecuencia de Mutaciones genéticas asociadas a multidrogoresistencia en *Mycobacterium tuberculosis*”,<sup>14</sup> en el cual encontró, analizando el gen katG, por el método de secuenciamiento, que el codón 315 presentó mutaciones en el 46.3% de las muestras analizadas, siendo el cambio nucleotídico Ser315Thr la mutación más frecuente con 44.2%, habiendo correlación con el estudio realizado por Escalante. Un reporte importante hecho por Calderón fue que la presencia de mutaciones en el codón 315 del gen katG fue más frecuente en la población multidrogoresistente en pacientes tratados con anterioridad (46.8%), que en nunca tratados (37.5%), indicando asociación.

#### Resistencia a pirazinamida

La pirazinamida (PZA), es un análogo estructural de la nicotinamida. En el año 1952 se descubre su acción anti-tuberculosa y se lo adiciona al esquema de tratamiento contra la tuberculosis, produciendo una fuerte sinergia y aceleración de los efectos de la INH y RIF en el tratamiento, reduciendo de doce a seis meses el periodo de tratamiento.<sup>69</sup> La PZA ejerce su acción in vitro a bajos niveles de pH (5.5), condición que inhibe el crecimiento de las *Mycobacterias*, especialmente las que se encuentran en estado latente como las *Mycobacterias* presentes en los fagolisosomas de los macrófagos.<sup>69,78,79</sup> Sin embargo, la PZA no actúa como tal ya que es una pro – droga, es necesaria su conversión a su forma activa (ácido pirazinoico [POA]), por la acción de la pirazinamidasa (PZAasa), enzima codificada por el gen pncA,<sup>69</sup> para que pueda actuar. El mecanismo de acción de la PZA no está del todo entendido pero se postula que luego de la activación del PZA, el POA es expulsado al medio externo por una bomba, donde es protonado, si el medio se encuentra a pH ácido, donde posteriormente vuelve a ingresar a la célula y protona moléculas del citoplasma, trayendo como

consecuencia la alteración de la permeabilidad y transporte de la célula.<sup>80-82</sup>

La resistencia a la PZA se produce, en la mayoría de casos, por mutaciones en el gen pncA (70%), sin embargo deben de haber otros mecanismos relacionados como: la alteración de la expresión del gen pncA o alteraciones en la bomba de eflujo – POA ya que reportes realizados por Sheen y cols demuestran que solo el 27.3% de cepas PZAR están relacionados con la función de la PZAasa.<sup>83</sup> Clásicamente se estima que no existe una región específica, hipervariable, como es en el caso de la RIF en la cual se limita las mutaciones a una región en específico, sin embargo estudios recientes realizados por Zimic y cols,<sup>84</sup> revelan una tentativa región “caliente”, entre el sitio catalítico (AS) y el sitio de coordinación de metales(MSC), produciendo alteraciones físico-químicas en el sitio catalítico.<sup>85</sup>

Con respecto a la resistencia molecular de PZA en el Perú, el único estudio encontrado fue el realizado por Escalante y cols., en donde se secuenciaron 24 cepas de *Mtb* pertenecientes al gen pncA, también se secuenció una región de 100 pares de bases, localizada por encima de la región putativa codificadora del gen, encontrando 4 cepas PZAR con mutaciones en la región pncA y una cepa PZAR con mutación en la región por encima de la región putativa; sin embargo, cuatro cepas PZAS, también tuvieron mutaciones en el gen pncA.<sup>62</sup>

#### Resistencia a etambutol

El etambutol (EMB), denominado químicamente dextro-etilenodiimino-di-1-butanol-dihidroclorido, es ampliamente utilizado en el esquema primario para el tratamiento de la tuberculosis. El mecanismo de acción del EMB es la inhibición de arabinosil transferasa, relacionada en la biosíntesis de la pared celular.<sup>86</sup> Esta enzima presenta tres formas homólogas entre sí, codificadas por los genes embC, embB y embA. Sin embargo, las bases genéticas para la resistencia a este fármaco están asociadas mayormente a mutaciones en el gen embB, en donde las mutaciones más frecuentes son dadas en los codones Met306Leu, Met306Ile, Met306Val, correspondiendo al 70-90% de las cepas EMBR;<sup>87-89</sup> siendo las mutaciones fuera del codón 306 raras. La resistencia molecular a ETB en el Perú ha sido descrita por Escalante y cols. En este estudio secuenciaron 11 cepas EMBR y solo pudieron encontrar cuatro organismos con mutaciones en la región del gen embB. Tres de estas cepas EMBR tuvieron mutación en el codón Met306Ile y un organismo tuvo una delección de un residuo de adenina en el codón 328.<sup>62</sup>

#### Resistencia a estreptomycin

La estreptomycin (SM), anti-tuberculoso de primera línea, es un aminociclitol glicosídico que inhibe la traducción del RNA mensajero (mRNA).<sup>89</sup> La SM interactúa con la región 16S del rRNA y la proteína ribosomal S12, codificado por los genes rrs y rpsL, respectivamente, induciendo mutaciones en estos genes. Sin embargo, el principal sitio de mutación es el gen rpsL.<sup>90-92</sup> El 65-67% de cepas SMR se relacionan a mutaciones en estos genes, en donde las mutaciones en los

codones 491, 512, 516, y 513 son las frecuentes en el gen *rrs* y las mutaciones en el codón 43 y 88 lo son en el gen *rpsL*.<sup>69</sup>

Clásicamente, se correlaciona a las mutaciones en el gen *rrs* con fenotipos de resistencia intermedia y a las mutaciones en el gen *rrsL* con fenotipos de alto grado de resistencia.<sup>93,94</sup>

En el estudio realizado por Espinoza y cols. se secuenció el gen *rpsL* para el estudio de la resistencia a SM, se analizaron 80 muestras en donde las mutaciones en los codones Lys43Arg y Lys88Thr presentaron una frecuencia de 8.8% cada una.<sup>64</sup>

### Antituberculosos de segunda línea

#### Fluoroquinolonas

Las fluoroquinolonas son usadas en el tratamiento de la tuberculosis como drogas de segunda línea, principalmente usada en cepas TB-MDR. La ciprofloxacina y la ofloxacina son los medicamentos más representativos. El sitio de acción corresponde a la DNA girasa.<sup>95,96</sup> Esta enzima es codificada por dos genes: *gyrA* y *gyrB*. La resistencia esta mediada por mutaciones en regiones específicas en estos dos genes, de 320pb y 375pb para el gen *gyrA* y *gyrB*, respectivamente.<sup>96</sup> Sin embargo mutaciones en el gen *gyrA* esta mayormente relacionado con cepas FQR, siendo los codones 90, 91 y 94 los más afectados.<sup>97</sup> Con respecto a la resistencia molecular en el Perú, Escalante y cols. no encontraron ninguna cepa con mutaciones en el gen *gyrA*,<sup>62</sup> sin embargo, tampoco realizaron estudios fenotípicos del caso, debido a que uno de los objetivos de este estudio fue la clasificación de las cepas analizadas por un método descrito por Sreevatsan,<sup>98</sup> en el cual mediante el secuenciamiento del gen *KatG* y *gyrA* se hallan patrones de agrupamiento.

#### Capreomicina

Es un péptido que inhibe la síntesis de proteínas en organismos procariontas. Se ha visto que mutaciones en el gen *rrs*, que codifica el 16S RNA esta relacionado con la resistencia a este medicamento.<sup>99</sup> No se han encontrado estudios moleculares en el Perú respecto a este medicamento.

#### Etionamida

Este medicamento esta muy relacionado estructuralmente con la INH. Este también es una pro-droga, activada por la enzima codificada por el gen *EthA*. Su nivel de acción es a nivel del complejo *inhA*-NADH y por lo mismo mutaciones en el gen *inhA* procuran resistencia a este medicamento, sin embargo mutaciones en el gen *EthA* también procuran resistencia.<sup>69,100</sup> No hemos encontrado reportes moleculares con respecto a este medicamento en el Perú.

De los estudios analizados sobre la epidemiología de la resistencia molecular de antituberculosos de primera línea en el Perú, se puede concluir que los estudios realizados en cepas resistentes a la rifampicina, son acordes con los reportes de la epidemiología mundial, siendo la mutación en el nucleótido Ser351 la más reportada. Sin embargo, se requieren más estudios que puedan describir la resistencia fenotípica en las regiones mutadas, externas a la región hipervariable de 81 pb. Con respecto a los estudios

moleculares de cepas resistentes a la pirazinamida, sólo se encontró en la literatura un estudio no concluyente debido a mutaciones en el gen *pncA* de cepas fenotípicamente sensibles. En el estudio molecular de cepas INHR, es pobre el contenido debido a la falta de estudio de genes. El único gen estudiado es el *KatG*. Sin embargo, como ya se ha establecido, existen muchos genes involucrados en la resistencia fenotípica que requieren mayores estudios. Lo mismo ocurrió en el estudio de cepas EMBR, en donde solo hemos encontrado un estudio que reportó 3/4 cepas con mutaciones en el codón Met306Ile, estando acorde con la literatura internacional y, finalmente, en el estudio molecular de la resistencia a la estreptomycin, sólo se ha estudiado el gen *rpsL*, faltando estudios con respecto al gen *rrs*.

Con respecto a la epidemiología de la resistencia molecular de antituberculosos de segunda línea en el Perú, sólo se encontró un estudio realizado por Escalante y cols.<sup>62</sup> en el cual se analizó el gen *gyrA*. Sin embargo, su objetivo no fue el estudio del mismo, ya que no se realizaron estudios fenotípicos para contraponer estos resultados. Por lo mismo, el estudio de la resistencia molecular a la capreomicina, etionamida y otros fármacos son ausentes en la literatura peruana.

### DISTRIBUCIÓN CLONAL DE *Mtb* EN EL PERÚ

Con respecto a la distribución clonal de *Mtb* en el Perú, los estudios tratan de determinar tres fenómenos. El primero se refiere al agrupamiento de los patrones genéticos en una determinada población de pacientes, estimando el grado de reactivación o transmisión activa de una población, el segundo es la distribución de la clonalidad tratando de identificar focos de infección que ayuden a controlar de una manera más ordenada y óptima la transmisión de la tuberculosis y el tercero se refiere a determinar genotipos específicos con alto grado de virulencia y patogenicidad.

Baldeviano y cols., en 2003, en un hospital referencial del Callao, encontraron 50 perfiles genéticos, RFLP IS6110 de 70 aislamientos en donde 34 (48.6%) se agruparon en 14 *clusters* y 36 tuvieron ocurrencia única.<sup>101</sup> Los autores concluyeron que esto posiblemente se deba al alto número de infecciones reactivadas; sin embargo, los autores estimaron que estos resultados no son concluyentes debido a que el estudio no refleja el grado de agrupamiento del Callao por el corto periodo de muestreo y también por la reducida fracción muestral. Lo mismo ocurrió en el estudio realizado por Escalante y cols., en donde se estudiaron 29 cepas, encontrando 27 perfiles IS6110 diferentes.<sup>62</sup> En otro estudio realizado por Capcha y cols., en el distrito de Villa María del Triunfo y publicado en el año 2005, se encontraron 97 perfiles genéticos RFLP IS6110 diferentes, obtenidos en 118 aislamientos. 35 (29.7%) perfiles genéticos se agruparon en 14 *clusters* y 83 tuvieron ocurrencia única, concluyendo que, dada la gran diversidad, se tratarían de casos de reactivación endógena o que probablemente hayan tenido diversas fuentes de contagio en el pasado.<sup>102</sup> Posteriormente, en un estudio realizado por Ritacco en 2008<sup>103</sup>, y analizado en Argentina, se

recolectaron 1202 muestras de siete países de Latinoamérica. El objetivo del estudio fue determinar la contribución de la infección con cepas de *Mtb* (genotipo *Beijing*) en la transmisión de la TB en Suramérica. Se detectaron 19 cepas genotipo *Beijing* por RFLP IS6110 y posteriormente confirmadas por *spoligotyping*. De estas, 11 provenían de Perú; sin embargo, 13 (68%) de las 19 cepas tipo *Beijing*, eran pacientes de origen peruano, atribuyendo esto a la inmigración China al Perú en el siglo XIX. Por otro lado, hubo una baja asociación de resistencia a medicamentos con cepas tipo *Beijing* en los aislamientos del Perú.

Agapito y cols., en 2003, genotipificaron según el perfil IS6110,<sup>77</sup> cepas resistentes a rifampicina con el fin de demostrar cierta asociación clonal entre ellas, no pudiendo concluirlo. Se encontraron 25 patrones genotípicos diferentes, concluyendo que la presencia de cepas rIFR no se deben a la transmisión en la comunidad de una única cepa resistente.<sup>104</sup>

Finalmente, en un estudio realizado por Ahmed y cols. con pacientes provenientes del Hospital Dos de Mayo y el Hospital Maria Auxiliadora, se analizaron 80 cepas de *Mtb* de pacientes VIH seropositivos y 25 cepas de pacientes VIH seronegativos, utilizando la técnica molecular de *Fluorescent amplified fragment length polymorphisms* (FAFLP). Encontraron dos tipos distintos de genotipos relacionados con el estado inmune del paciente, siendo el de los pacientes VIH seropositivos los más relacionados. Esto indicó un agrupamiento de clonalidad en este tipo de pacientes.<sup>105</sup>

Podemos decir, a manera de conclusión, que todavía no se ha podido determinar asociación de clonalidad en pacientes infectados debido a la baja carga poblacional estudiada y a la pobre unificación de esfuerzos para determinar los patrones de clonalidad en el Perú.

.....

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HUNTER DJ. THE FUTURE OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY. *INTER J EPIDEMIOL.* 1999; 28 (S): 1012-14
- NARAYANAN S. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS. *INDIAN J MED RES.* 2004; 120: 233-47
- ALARCÓN J. EPIDEMIOLOGÍA, CONCEPTO, USOS Y PERSPECTIVAS. *REV. PERU. EPIDEMIOL.* 2009; 13 (1)
- PERERA FP, WEINSTEIN IB. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY: RECENT ADVANCES AND FUTURE DIRECTIONS. *CARCINOGENESIS* 2000; 21 (3): 517-24
- KRAFT P, HUNTER D. INTEGRATING EPIDEMIOLOGY AND GENETIC ASSOCIATION: THE CHALLENGE OF GENE-ENVIRONMENT INTERACTION. *PHIL. TRANS. R. SOC. B.* 2005; 360: 1609-16
- TRAYNOR BJ. THE ERA OF GENOMIC EPIDEMIOLOGY. *NEUROEPIDEMIOLOGY* 2009; 33: 276-9
- HASNAIN SE. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF INFECTIOUS DISEASES: A CASE FOR INCREASED SURVEILLANCE. *BULL WORLD HEALTH ORGAN.* 2003; 81 (7)
- CONWAY DJ. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MALARIA. *CLINICAL MICROBIOL REV.* 2007; 20 (1): 188-204
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO REPORT: GLOBAL TUBERCULOSIS CONTROL SURVEILLANCE, PLANNING, FINANCING. GENEVA: WHO: 2008.
- BONILLA C. SITUACIÓN DE LA TUBERCULOSIS EN EL PERÚ. *ACTA MÉD. PERUANA* 2008; 25 (3): 163-70
- DEL CASTILLO H, MENDOZA-TICONA A, SARAVIA JC, SOMOCURCIO JG. EPIDEMIA DE TUBERCULOSIS MULTIDROGO RESISTENTE Y EXTENSIVAMENTE RESISTENTE A DROGAS (TB MDR/XDR) EN EL PERÚ: SITUACIÓN Y PROPUESTAS PARA SU CONTROL. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2009; 26(3): 380-86
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. ANTI-TUBERCULOSIS DRUG RESISTANCE IN THE WORLD. FOURTH GLOBAL REPORT. GENEVA: WHO: 2008
- ROSEDA DA, DEL CORRAL H. CONTRIBUCIÓN DEL ANÁLISIS RFLP DEL IS6110 DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS AL DISEÑO Y REFINAMIENTO DE ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS EN COLOMBIA. *REVISTA DE LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA* 2008; 12 (3): 175-91
- RILEY S, FRASER C, DONNELLY CA, GHANI AC, ABU-RADDAD LJ, HEDLEY AJ, ET AL. TRANSMISSION DYNAMICS OF THE ETIOLOGICAL AGENT OF SARS IN HONG KONG: IMPACT OF PUBLIC HEALTH INTERVENTIONS. *SCIENCE* 2003; 300: 1961-6
- BROOKS-POLLOCK E, BECERRA MC, GOLDSTEIN E, COHEN T, MURRAY MB. EPIDEMIOLOGIC INFERENCE FROM THE DISTRIBUTION OF TUBERCULOSIS CASES IN HOUSEHOLDS IN LIMA, PERU. *J INFEC DISEASES* 2011; 203: 1582-9
- HANCE AJ, GRANDCHAMP B, LÉVY-FRÉBAULT V, LECOSSIER D, RAUZIER J, BOCART D, GICQUEL B. DETECTION AND IDENTIFICATION OF MYCOBACTERIA BY AMPLIFICATION OF MYCOBACTERIAL DNA. *MOL MICROBIOL.* 1989; 3(7): 843-9.
- BRISSON-NOËL A, GICQUEL B, LECOSSIER D, LÉVY-FRÉBAULT V, NASSIF X, HANCE AJ. RAPID DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS BY AMPLIFICATION OF MYCOBACTERIAL DNA IN CLINICAL SAMPLES. *LANCET.* 1989; 2(8671): 1069-71.
- SCARPARO C, PICCOLI P, RIGON A, RUGGIERO G, SCAGNELLI M, PIERSIMONI C. COMPARISON OF ENHANCED MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS AMPLIFIED DIRECT TEST WITH COBAS AMPLICOR MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ASSAY FOR DIRECT DETECTION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX IN RESPIRATORY AND EXTRAPULMONARY SPECIMENS. *J CLIN MICROBIOL.* 2000; 38(4):1559-62.
- HERMANS P, VAN SOOLINGEN D, DALE J, SCHUITEMA A, MCADAM R, CATTY D, VAN EMBDEN J. INSERTION ELEMENT IS986 FROM MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS: A USEFUL TOOL FOR DIAGNOSIS AND EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS. *J. CLIN. MICROBIOL.* 1990; 28: 2051-8.
- FORBES BA. CRITICAL ASSESSMENT OF GENE AMPLIFICATION APPROACHES ON THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS. *IMMUNOL INVEST.* 1997; 26(1-2): 105-16.
- FORBES BA, HICKS KE. SUBSTANCES INTERFERING WITH DIRECT DETECTION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN CLINICAL SPECIMENS BY PCR: EFFECTS OF BOVINE SERUM ALBUMIN. *J CLIN MICROBIOL.* 1996; 34(9): 2125-8.
- WOODS GL. MOLECULAR TECHNIQUES IN MYCOBACTERIAL DETECTION. *ARCH PATHOL LAB MED.* 2001; 125(1): 122-6.
- KATO-MAEDA M, SMALL PM. HOW MOLECULAR EPIDEMIOLOGY HAS CHANGED WHAT WE KNOW ABOUT TUBERCULOSIS. *WEST J MED.* 2000; 172(4): 256-9.
- VAN SOOLINGEN. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS AND OTHER MYCOBACTERIAL INFECTIONS: MAIN METHODOLOGIES AND ACHIEVEMENTS. *J INTER MED.* 2001; 249(1): 1-26.
- THIERRY D, BRISSON-NOËL A, VINCENT-LÉVY-FRÉBAULT V, NGUYEN S, GUESDON JL, GICQUEL B. CHARACTERIZATION OF A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INSERTION SEQUENCE, IS6110, AND ITS APPLICATION IN DIAGNOSIS. *J CLIN MICROBIOL.* 1990 DEC;28(12):2668-73.
- OTAL I, MARTÍN C, VINCENT-LÉVY-FRÉBAULT V, THIERRY D, GICQUEL B. RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM ANALYSIS USING IS6110 AS AN EPIDEMIOLOGICAL MARKER IN TUBERCULOSIS. *J CLIN MICROBIOL.* 1991; 29(6): 1252-4.
- VAN EMBDEN J, CAVE M, CRAWFORD J, J. W. DALE, K. D. EISENACH, B. GICQUEL, P. HERMANS, C. MARTIN, R. MCADAM, T. M. SHINNICK, AND P. M. SMALL. STRAIN IDENTIFICATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS BY DNA FINGERPRINTING: RECOMMENDATIONS FOR A STANDARDIZED METHODOLOGY. *J. CLIN. MICROBIOL.* 1993; 31: 406-9.
- BALDEVIANO C, QUISPE N, BONILLA C, GASTIABURU D, PRO J, LLANOS-ZAVALAGA L. PERFILES GENÉTICOS (RFLP-IS6110) Y RESISTENCIA A DROGAS EN AISLAMIENTOS DE *M. TUBERCULOSIS* DE PACIENTES INTERNADOS EN UN HOSPITAL REFERENCIAL DEL CALLAO, PERU. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2003; 20 (2)
- BARNES PF, CAVE MD. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS. *NEW ENGL J MED.* 2003; 349:1149-56
- ARANAZ A, ROMERO B, MONTERO N, ALVAREZ J, BEZOS J, DE JUAN L, MATEOS A, DOMINGUEZ L. SPOLIGOTYPING PROFILE CHANGE CAUSED BY DELETION OF A DIRECT VARIABLE REPEAT IN A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ISOGENIC LABORATORY STRAIN. *J CLIN MICROBIOL.* 2004; 42(11): 5388-91.
- KAMERBEEK J, SCHOOLS L, KOLK A, VAN AGTERVELD M, VAN SOOLINGEN D, KUIJPER S, BUNSCHOTEN A, MOLHUIZEN H, SHAW R, GOYAL M, VAN EMBDEN J. SIMULTANEOUS DETECTION AND STRAIN DIFFERENTIATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS FOR DIAGNOSIS AND EPIDEMIOLOGY. *J CLIN. MICROBIOL.* 1997; 35(4): 907-14.
- SPURGIESZ RS, QUITUGUA TN, SMITH KL, SCHUPP J, PALMER EG, COX RA, KEIM P. MOLECULAR TYPING OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS BY USING NINE NOVEL VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEATS ACROSS THE BEIJING FAMILY AND LOW-COPY-NUMBER IS6110 ISOLATES. *J CLIN MICROBIOL.* 2003; 41(9): 4224-30.
- FROTHINGHAM R, MEEKER-O'CONNELL WA. GENETIC DIVERSITY IN THE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX BASED ON VARIABLE

- NUMBERS OF TANDEM DNA REPEATS. *MICROBIOLOGY*. 1998; 144 (5): 1189-96.
34. SUPPLY P, ALLIX C, LESJEAN S, CARDOSO-OELEMANN M, RÜSCH-GERDES S, WILLERY E, SAVINE E, DE HAAS P, VAN DEUTERKOM H, RORING S, BIFANI P, KUREPINA N, KREISWIRTH B, SOLA C, RASTOGI N, VATIN V, GUTIERREZ MC, FAUVILLE M, NIEMANN S, SKUCE R, KREMER K, LOCHT C, VAN SOOLINGEN D. PROPOSAL FOR STANDARDIZATION OF OPTIMIZED MYCOBACTERIAL INTERSPERSED REPETITIVE UNIT-VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEAT TYPING OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *J CLIN MICROBIOL*. 2006; 44(12): 4498-510
35. MOURE R, MUÑOZ L, TORRES M, SANTIN M, MARTÍN R, ALCAIDE F. RAPID DETECTION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX AND RIFAMPIN RESISTANCE IN SMEAR-NEGATIVE CLINICAL SAMPLES BY USE OF AN INTEGRATED REAL-TIME PCR METHOD. *J CLIN MICROBIOL*. 2011; 49(3): 1137-9.
36. MARLOWE EM, NOVAK-WEEKLEY SM, CUMPIO J, SHARP SE, MOMENY MA, BABST A, CARLSON JS, KAWAMURA M, PANDORI M. EVALUATION OF THE CEPHEID XPERT MTB/RIF ASSAY FOR DIRECT DETECTION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX IN RESPIRATORY SPECIMENS. *J CLIN MICROBIOL*. 2011; 49(4): 1621-3.
37. ZHANG Y, YEW WW. MECHANISMS OF DRUG RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *INT J TUBERC LUNG Dis*. 2009; 13(11): 1320-30.
38. TELENTI A, IMBODEN P, MARCHESI F, LOWRIE D, COLE S, COLSTON MJ, MATTER L, SCHOPFER K, BODMER T. DETECTION OF RIFAMPICIN-RESISTANCE MUTATIONS IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *LANCET* 1993; 341(8846): 647-50.
39. TAKIFF HE, SALAZAR L, GUERRERO C, PHILIPP W, HUANG WM, KREISWIRTH B, COLE ST, JACOBS WR JR, TELENTI A. CLONING AND NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* GYRA AND GYRB GENES AND DETECTION OF QUINOLONE RESISTANCE MUTATIONS. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER*. 1994; 38(4): 773-80.
40. RISKA PF, JACOBS WR JR, ALLAND D. MOLECULAR DETERMINANTS OF DRUG RESISTANCE IN TUBERCULOSIS. *INT J TUBERC LUNG Dis*. 2000; 4 (2 SUPPL 1): S4-10.
41. VILCHÉZE C, JACOBS WR JR. THE MECHANISM OF ISONIAZID KILLING: CLARITY THROUGH THE SCOPE OF GENETICS. *ANNU REV MICROBIOL*. 2007; 61: 35-50.
42. DAVIES AP, BILLINGTON OJ, MCHUGH TD, MITCHISON DA, GILLESPIE SH. COMPARISON OF PHENOTYPIC AND GENOTYPIC METHODS FOR PYRAZINAMIDE SUSCEPTIBILITY TESTING WITH *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *J CLIN MICROBIOL*. 2000; 38(10): 3686-8.
43. GARCÍA D, MOKROUSOV I, RASTOGI N. INNOVATIONS IN THE MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS. *MICROBIOL CLIN*. 2011; 29 (SUPPL 1): 8-13
44. AHMED N, HASNAIN SE. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS IN INDIA: MOVING FORWARD WITH A SYSTEMS BIOLOGY APPROACH. *TUBERCULOSIS (EDINB)*. 2011
45. DALEY CL. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY: A TOOL FOR UNDERSTANDING CONTROL OF TUBERCULOSIS TRANSMISSION. *CLIN CHEST MED*. 2005; 26(2): 217-31
46. BALDEVIANO-VIDALÓN GC, QUISPE-TORRES N, BONILLA-ÁSALDE C, GASTIABURÚ-RODRIGUEZ D, PRO-CUBA JE, LLANOS-ZAVALAGA F. MULTIPLE INFECTION WITH RESISTANT AND SENSITIVE *M. TUBERCULOSIS* STRAINS DURING TREATMENT OF PULMONARY TUBERCULOSIS PATIENTS. *INT J TUBERC LUNG Dis* 9 (10): 1155-60.
47. CAPCHA L, URBINA M, VÁSQUEZ L, ASENCIOS L, QUISPE N, LEO E, BALDEVIANO C, ZAVALA A. PERFILES GENÉTICOS (IS6110) Y PATRONES DE RESISTENCIA EN AISLAMIENTO DE *M. TUBERCULOSIS* DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR. LIMA SUR, PERÚ. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2005; 22(1)
48. COLE ST, BROSCH R, PARKHILL J, GARNIER T, CHURCHER C, HARRIS D, GORDON SV, EIGLMEIER K, GAS S, ET AL. DECIPHERING THE BIOLOGY OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* FROM THE COMPLETE GENOME SEQUENCE. *NATURE*. 1998; 393(6685): 537-44. ERRATUM IN: *NATURE* 1998; 396(6707): 190
49. ALCAIDE F, COLL P. ADVANCES IN RAPID DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS DISEASE AND ANTI-TUBERCULOUS DRUG RESISTANCE. *ENFERM INFECC MICROBIOL CLIN*. 2011; 29 (SUPPL 1): 34-40
50. FARGA V, CAMINERO JA. TUBERCULOSIS. MEDITERRANEO. SANTIAGO: 2011.
51. RATTAN A, KALIA A, AHMAD N. MULTIDRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*: MOLECULAR PERSPECTIVES. *EMERG. INFECT. DIS*. 1998; 4: 195-209
52. MCCLURE WR, CECH C. ON THE MECHANISM OF RIFAMPICIN INHIBITION OF RNA SÍNTESIS. *J. BIOL. CHEM*. 1978. 253: 8949-56
53. LEVIN M, HATFULL G. *MYCOBACTERIUM* SMEGMATIS RNA POLYMERASE: DNA SUPERCOILING, ACTION OF RIFAMPICIN AND MECHANISM OF RIFAMPICIN RESISTANCE. *MOL. MICROBIOL*. 1993. 8:277-285
54. KAPURV, LI L, LONDANESCU S, HAMRICK MR, WANGER A, KREISWIRTH BN, ET AL. CHARACTERIZATION BY AUTOMATED DNA SEQUENCING OF MUTATIONS IN THE GENE RPOB ENCODING THE RNA POLYMERASE B SUBUNIT IN RIFAMPIN-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS FROM NEW YORK CITY AND TEXAS. *J CLIN MICROBIOL* 1994; 32: 1095-8
55. MUSSER JM. ANTIMICROBIAL AGENT RESITANCE IN MYCOBACTERIA: MOLECULAR GENETIC INSIGHTS. *CLIN MICROBIOL REV* 1995; 8: 496-514
56. TELENTI A, ISEMAN M. DRUG RESISTANT TUBERCULOSIS. WHAT DO WE DO NOW? *DRUGS* 2000; 59: 171-9
57. RAMASWAMY S, MUSSER JM. MOLECULAR GENETIC BASIS OF ANTIMICROBIAL AGENT RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*: 1998 UPDATE. *TUBERC. LUNG Dis*. 1998; 79: 3-29
58. HERRERA L, JIMENEZ S, VALVERDE A, GARCIA MA, SAEZ-NIETO J. MOLECULAR ANALYSIS OF RIFAMPICIN-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATED IN SPAIN (1996-2001). DESCRIPTION OF NEW MUTATIONS IN THE RPOB GENE AND REVIEW OF THE LITERATURE. *INT. J. ANTIMICROB. AGENTS*. 2003; 21: 403-8
59. WILLIAMS DL, WAGUESPACK C, EISENACH K, CRAWFORD JT, PORTAELS F, SALFINGER M, ET AL. CHARACTERIZATION OF RIFAMPIN RESISTANCE IN PATHOGENIC *MYCOBACTERIUM*. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER* 1994; 38(10): 2380-6
60. SOMOSKOVI A, PARSONS LM, SALFINGER M. THE MOLECULAR BASIS OF RESISTANCE TO ISONIAZID, RIFAMPICIN AND PYRAZINAMIDE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *RESPIR. RES*. 2001; 2: 164-8
61. VALIM ARM, ROSSETTI MLR, RIBEIRO MO, ZAHA A. MUTATIONS IN THE RPOB GENE OF MULTIDRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES FROM BRASIL. *J CLIN MICROBIOL* 2000; 38: 3119-22
62. ESCALANTE P, RAMASWAMY S, SANABRIA H, SOINI H, PAN X, VALIENTE-CASTILLO O, MUSSER JM. GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF DRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES FROM PERU. *TUBERCLE AND LUNG DISEASE*. 1998; 79(2): 111-8
63. AGAPITO J, NEYRA V, CASTRO J, ACCINELLI R, RODRIGUEZ I, ESPINOZA J. CARACTERIZACIÓN DE LAS MUTACIONES EN EL GEN RPOB ASOCIADAS A LA RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2002; 19(3)
64. CALDERON R. FRECUENCIA DE MUTACIONES GENÉTICAS ASOCIADAS A MULTIDROGORESISTENCIA EN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. DISPONIBLE EN: [HTTP://WWW.BVS.INS.GOB.PE/INSPRINT/CINDOC/INFORMES\\_TECNICOS/40.PDF](http://www.bvs.ins.gob.pe/insprint/cindoc/INFORMES_TECNICOS/40.PDF). INGRESADO EL 29/05/2011.
65. SHIN S, NARODITSKAYA V, SLOUTSKY A, WERNER B, TIMPERI R, BAYONA J, FARMER PE, BECERRA MC. RPOB GENE MUTATIONS IN CLINICAL ISOLATES OF MULTIDRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN NORTHERN LIMA, PERÚ. *MICROBIAL DRUG RESISTANCE* 2005; 11 (1)
66. HEYM B, SAINT-JOANIS B, COLE ST. THE MOLECULAR BASIS OF ISONIAZID RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *TUBERC. LUNG DIS*. 1999; 79: 267-71
67. ROSSETTI MLR, ROSANE A, NUNES M, SUMNIENSKI V. TUBERCULOSE RESISTENTE: REVISÃO MOLECULAR RESISTANT TUBERCULOSIS: A MOLECULAR REVIEW. *REV SAÚDE PÚBLICA* 2002; 36(4): 525-32
68. ZHANG Y, TELENTI A. GENETICS OF DRUG RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. IN: HATFULL GF, JACOBS WR-JR. MOLECULAR OF MYCOBACTERIA. WASHINGTON (DC): ASM PRESS; 2000. p. 235-54
69. JOHNSON R, STREICHER EM, LOUW GE, WARREN RM, HELDEN PD, VICTOR TC. DRUG RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *CURR. ISSUES MOL. BIOL* 2009; 8: 97-112
70. BANERJEE A, DUBNAU E QUEMARD A, BALASUBRAMANIAN V, UM KS, WILSON T, COLLINS D, DE LISLE G, JACOBS WR JR. INHA, A GENE ENCODING A TARGET FOR ISONIAZID AND ETHIONAMIDE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *SCIENCE* 263; 277-80
71. BASSO LA, BLANCHARD JS. RESISTANCE TO ANTITUBERCULAR DRUGS. *ADV. EXP. MED. BIOL*. 1998; 456: 115-44
72. SHERMAN DR, MDLULI K, HICKEY MJ, ARAIN, TM, MORRIS SL, BARRY CE, STOVER CK. COMPENSATORY AHPc GENE EXPRESSION IN ISONIAZID RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *SCIENCE* 1996; 272: 1641-3
73. LEE AS, LIM IH, TANG LL, TELENTI A, WONG SY. CONTRIBUTION OF KASA ANALYSIS TO DETECTION OF ISONIAZID-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN SINGAPORE. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 1999; 43: 2087-9
74. PIATEK AS, TELENTI A, MURRAY MR, EL HAJJ H, JACOBS WR JR, KRAMER FR, ALLAND D. GENOTYPIC ANALYSIS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN TWO DISTINCT POPULATIONS USING MOLECULAR BEACONS: IMPLICATIONS FOR RAPID SUSCEPTIBILITY TESTING. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 2000; 44: 103-10
75. RAMASWAMY SV, REICH R, DOU SJ, JASPERSE L, PAN X, WANGER A, QUITUGUA T, GRAVISA EA. SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN GENES ASSOCIATED WITH ISONIAZID RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 2003; 47: 1241-50
76. MIESSEL L, WEISBROD TR, MARCINKVICIENE JA, BITTMAN R, JACOBS WR JR. NADH DEHYDROGENASE DEFECTS CONFER ISONIAZID RESISTANCE AND CONDITIONAL LETHALITY IN *MYCOBACTERIUM SMEGMATIS*. *J. BACTERIOL*. 1998; 180: 2459-67
77. CALDERON R, ASENCIOS L, QUISPE N, CUSTODIO W, MONTOYA Y. DETECCIÓN RÁPIDA DE RESISTENCIA A DROGAS EN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MEDIANTE PCR-SSCP Y PCR-HETERODUPLIX. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2003; 20(2)
78. CUTLER RR, WILSON P, VILLARROEL J, CLARKE, FV. EVALUATING CURRENT METHODS FOR DETERMINATION OF THE SUSCEPTIBILITY OF MYCOBACTERIA TO PYRAZINAMIDE, CONVENTIONAL, RADIOMETRIC BACTEC AND TWO METHODS OF PYRAZINAMIDASE TESTING. *LETT APPL MICROBIOL* 1997; 24: 127-32.
79. HEWLETT D, HORN DL, ALFALFA C. DRUG RESISTANT TUBERCULOSIS: INCONSISTENT RESULTS OF

- PYRAZINAMIDE SUCCEPTIBILITY TESTING. *JAMA* 1995; 273: 916-7.
80. ZHANG Y, MITCHISON D. THE CURIOUS CHARACTERISTICS OF PYRAZINAMIDE: A REVIEW. *INT J TUBERC LUNG DIS* 2003; 7: 6-21.
81. KONNO K, FELDMANN FM, MCDERMOTT W. PYRAZINAMIDE SUSCEPTIBILITY AND AMIDASE ACTIVITY OF TUBERCLE BACILLI. *AM REV RESPIR DIS* 1967; 95: 461-9
82. WADE MM, ZHANG Y. MECHANISMS OF DRUG RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *FRONT BIOSCI* 2004; 9: 975-94
83. SHEEN P, FERRER P, GILMAN RH, LOPEZ-LLANO J, FUENTES P, VALENCIA E, ZIMIC MJ. EFFECT OF PYRAZINAMIDASE ACTIVITY ON PYRAZINAMIDE RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *TUBERCULOSIS* (EDINB). 2009; 89(2): 109-13
84. ZIMIC M, SHEEN P, QUILIANO M, GUTIERREZ A, GILMAN RH. PERUVIAN AND GLOBALLY REPORTED AMINO ACID SUBSTITUTIONS ON THE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PYRAZINAMIDASE SUGGEST A CONSERVED PATTERN OF MUTATIONS ASSOCIATED TO PYRAZINAMIDASE RESISTANCE. *INFECT GENT EVOL*. 2010; 10(2): 346-9
85. LEMAITRE N, SOUGAKOFF W, TRUFFOT-PERNOT C, JARLIER V. CHARACTERIZATION OF NEW MUTATIONS IN PYRAZINAMIDASE – RESISTANT STRAINS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AND IDENTIFICATION OF CONSERVED REGIONS IMPORTANT FOR THE CATALYTIC ACTIVITY OF THE PYRAZINAMIDASE PNCA. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER* 1999; 43: 1761-3
86. TAKAYAMA K, KILBURN JO. INHIBITION OF SYNTHESIS OF ARABINOGALACTAN BY ETHAMBUTOL IN *MYCOBACTERIUM SMEGMATIS*. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 1989; 33: 1493-9
87. LEE HY, MYOUNG HJ, BANG HE, BAI GH, KIM SJ, KIM JD, CHO SN. MUTATIONS IN THE EMBB LOCUS AMONG KOREAN CLINICAL ISOLATES OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* RESISTANT TO ETHAMBUTOL. *YONSEI MED* 2002; J(43): 59-64
88. SREEVATSAN S, STOCKBAUER KE, PAN X, KREISWIRTH BN, MOGHAZEH SL, JACOBS WR JR, TELENTI A, MUSSER JM. ETHAMBUTOL RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*: CRITICAL ROLE OF EMBB MUTATIONS. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER* 1997; 41: 1677-81
89. GARVIN RT, BISWAS DW, GORINI L. THE EFFECTS OF STREPTOMYCIN OR DIHYDROSTREPTOMICIN BINDING TO 16S rRNA OR TO 30S RIBOSSOMAL SUBUNITS. *PROC NATL ACAD SCI USA* 1974; 71: 3814-8.
90. COLE ST, BROSCHE R, PARKHILL J, GARNIER T, CHURCHER C, HARRIS D, ET AL. DECIPHERING THE BIOLOGY OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* FROM THE COMPLETE GENOME SEQUENCE. *NATURE* 1998; 393: 537-44.
91. FINKEN M, KIRSHNER P, MEIER A, WREDE A, BOTTGGER E. MOLECULAR BASIS OF STREPTOMYCIN RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*: ALTERATIONS OF THE RIBOSOMAL PROTEIN S12 GENE AND POINT MUTATIONS WITHIN A FUNCTIONAL 16S RIBOSOMAL RNA PSEUDOKNOT. *MOL MICROBIOL* 1993; 9: 1239-46
92. HONORÉ N, COLE ST. STREPTOMYCIN RESISTANCE IN MYCOBACTERIA. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTER* 1994; 11: 773-9
93. COOKSEY RC, MORLOCK GP, MCQUEEN A, GLICKMAN SE, CRAWFORD JT. CHARACTERIZATION OF STREPTOMYCIN RESISTANCE MECHANISMS AMONG *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES FROM PATIENTS IN NEW YORK CITY. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 1996; 40: 1186-8
94. MEIER A, SANDER P, SCHAPER KJ, SCHOLZ M, BOTTGGER EC. CORRELATION OF MOLECULAR RESISTANCE MECHANISMS AND PHENOTYPIC RESISTANCE LEVELS IN STREPTOMYCIN-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 1996; 40: 2452-54
95. MIDDLEBROOK G. ISONIAZID-RESISTANCE AND CATALASE ACTIVITY OF TUBERCLE BACILLI. *AM. REV. TUBERC*. 1954; 69: 471- 472
96. CYNAMON MH, SKLANEY M. GATIFLOXACIN AND ETHIONAMIDE AS THE FOUNDATION FOR THERAPY OF TUBERCULOSIS. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 2003; 47: 2442-4
97. GINSBURG AS, GROSSET JH, BISHAI WR. FLUOROQUINOLONES, TUBERCULOSIS, AND RESISTANCE. *LANCET INFECT*. 2003; 3: 432-42
98. TAKIFF HE, SALAZAR L, GUERRERO C, PHILIPP W, HUANG WM, KREISWIRTH B, COLE ST, JACOBS WR JR, TELENTI A. CLONING AND NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* GYRA AND GYRB GENES AND DETECTION OF QUINOLONE RESISTANCE MUTATIONS. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 1994; 38: 773-80
99. SREEVATSAN S, PAN X, ZHANG Y, KREISWIRTH BN, MUSSER JM. MUTATIONS ASSOCIATED WITH PYRAZINAMIDE RESISTANCE IN PNCA OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX ORGANISMS. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER* 1997; 41: 636-40
100. TELENTI A, PHILIPP WJ, SREEVATSAN S, BERNASCONI C, STOCKBAUER KE, WIELES B, MUSSER JM, JACOBS WR JR. THE EMB OPERON, A GENE CLUSTER OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* INVOLVED IN RESISTANCE TO ETHAMBUTOL. *NAT. MED*. 1997; 3: 567-70
101. MORLOCK GP, METCHOCK B, SIKES D, CRAWFORD JT, COOKSEY RC. ETHA, INHA, AND KATG LOCI OF ETHIONAMIDE-RESISTANT CLINICAL *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES. *ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER*. 2003; 47: 3799-805
102. BALDEVIANO C, QUISPE N, BONILLA C, GASTIABURU D, PRO J, LLANOS-ZAVALAGA LF. PERFILES GENÉTICOS (RFLP-IS6110) Y RESISTENCIA A DROGAS EN AISLAMIENTO DE *M. TUBERCULOSIS* DE PACIENTES INTERNADOS EN UN HOSPITAL REFERENCIAL DEL CALLAO, PERÚ. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2003; 20 (2)
103. CAPCHA L, URBINA M, VÁSQUEZ L, ASENCIOS L, QUISPE N, LEO E, BALDEVIANO C, ZAVALA A. PERFILES GENÉTICOS (IS6110) Y PATRONES DE RESISTENCIA EN AISLAMIENTO DE *M. TUBERCULOSIS* DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR. LIMA SUR, PERÚ. *REV PERU MED EXP SALUD PUBLICA* 2005; 22(1)
104. RITACCO V, LÓPEZ B, CAFRUNE PI, FERRAZOLI L, SUFFYS PN, CANDIA N, VÁSQUEZ L, REALPE T, FERNÁNDEZ J, LIMA KV, ZURITA J, ROBLEDO J, ROSSETTI ML, KRITSKI AL, TELLES MA, PALOMINO JC, HEERSMA H, VAN SOOLINGEN D, KREMER K, BARRERA L. *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS OF THE BEIJING GENOTYPE ARE RARELY OBSERVED IN TUBERCULOSIS PATIENTS IN SOUTH AMERICA. *MEM INST OSWALDO CRUZ, RIO DE JANEIRO* 2008; 103(5): 489-92
105. AGAPITO J, BALDEVIANO C, ESPINOZA J, ACCINELLI R. CARACTERIZACION DE LAS MUTACIONES EN EL GEN RPOB ASOCIADAS A LA RESISTENCIA A RIFAMPICINA Y TIFICACION MOLECULAR MEDIANTE RFLP (IS6110) EN CEPAS DE *M. TUBERCULOSIS* DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR. *ENFERM TORAX*. 2003; 46: 9-24
106. AHMED N, CAVIEDES L, ALAM M, K. RAO KR, SANGAL V, SHEEN P, GILMAN RH, HASNAI SE. DISTINCTIVENESS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* GENOTYPES FROM HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1-SEROPOSITIVE AND SERONEGATIVE PATIENTS IN LIMA, PERU. *J CLIN MICROBIOL* 2003; 41 (4): 1712-6

**ABSTRACT****MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF TUBERCULOSIS IN PERU.**

Tuberculosis (TB) is an important public health problem. Molecular biology has contributed to epidemiological study of TB through several methods, RFLP for example. As a result, it has been better described TB outbreaks, TB transmission dynamic, post primary TB studies, TB risk factors in general population and vulnerable groups, sources of contamination in labs or hospitals, geographic distribution of *Mycobacterium tuberculosis* clones and drug resistance. In Peru, there have been several studies to study of molecular epidemiology of TB. These help to characterize more accurately the situation of TB in our country. through the provision of key information to its control.

**KEY WORDS:** Tuberculosis, Molecular epidemiology, Transmission dynamicis, Drug resistance

