



Caracterización genotípica con oligonucleótidos espaciadores de aislados multidrogorresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en Cuba

Genotypic characterization with spacer oligonucleotides of multidrug-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in Cuba

Ileana Margarita Martínez Rodríguez^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-6698-5031>

Raúl Díaz Rodríguez² <https://orcid.org/0000-0001-9107-124X>

Dihadenys Lemus Molina² <https://orcid.org/0000-0001-6691-7629>

Andrea María Rodríguez Bertheau³ <https://orcid.org/0000-0003-4305-3367>

Karina Aguilar Rojas¹ <https://orcid.org/0000-0002-8143-8113>

¹Universidad de Ciencias Médicas de las Fuerzas Armadas Revolucionarias. La Habana, Cuba.

²Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis y Micobacteriosis. La Habana, Cuba.

³Facultad “Calixto García”, Universidad de Ciencias Médicas de las Habana, Departamento de Salud. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: ilemargara@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: *Mycobacterium tuberculosis* con resistencia a fármacos se ha convertido en uno de los principales obstáculos para el control de la tuberculosis a nivel mundial y su vigilancia constituye prioridad.

Objetivos: Ejecutar la caracterización molecular de aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* multidrogorresistentes en Cuba.



Métodos: Estudio observacional, descriptivo, longitudinal y retrospectivo, en Cuba, en el período 1995-2014. La muestra estuvo conformada por 54 aislamientos. Se realizó tipificación con oligonucleótidos espaciadores. Los datos epidemiológicos se obtuvieron de la encuesta nacional de vigilancia de la resistencia a las drogas antituberculosas.

Resultados: Se apreció predominio del genotipo Beijing, seguido del sublinaje LAM9. El 83,33 % del total de casos se encontraron en el rango de edad de 15 a 64 años. En las regiones occidental y oriental se concentran el 81,48 % de los casos, sin embargo, la occidental presenta más casos y mayor diversidad genotípica. El 75 % de los casos multidrogosresistentes son nuevos. Los 2 factores más frecuentes, que favorecen la aparición de casos multidrogosresistentes son los casos crónicos y los provenientes del extranjero.

Conclusiones: Este es el primer estudio de 20 años de aislados multidrogosresistentes en Cuba, que encuentra asociación entre el linaje Beijing y resistencia. Se presenta en pacientes en edad laboral y la relación de los casos cubanos con los reportados en la base de datos internacional hace imprescindible la vigilancia de la entrada a Cuba de aislados multidrogosresistentes.

Palabras clave: complejo *Mycobacterium tuberculosis*; spoligotyping; tuberculosis, vigilancia; epidemiología molecular.

ABSTRACT

Introduction: *Mycobacterium tuberculosis* with drug resistance has become one of the main obstacles to the control of this disease worldwide and its surveillance is a priority.

Objectives: Carry out the molecular characterization of isolates of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Cuba.

Methods: Observational, descriptive, longitudinal and retrospective study, in Cuba, in the period 1995-2014. The sample consisted of 54 isolates. Typing with spacer oligonucleotides was performed. Epidemiological data were obtained from the national anti-tuberculosis drug resistance surveillance survey.

Results: A predominance of the Beijing genotype was observed, followed by the LAM9 sublineage; 83.33 % of the total cases were found in the age range of 15 to 64 years. In the Western and Eastern



81.48 % of the cases are concentrated, however the Western presents more cases and greater genotypic diversity; 75 % of multidrug-resistant cases are new cases. The two factors that favor the appearance of the most frequent multidrug-resistant cases are chronic cases and those from abroad.

Conclusions: This is the first 20-year study of multidrug-resistant isolates in Cuba, where an association between the Beijing lineage and resistance is found. It occurs in patients of working age, and the relationship of the Cuban cases with those reported in the international database makes it essential to monitor the entry into Cuba of multidrug-resistant isolated.

Keywords: Mycobacterium tuberculosis complex; spoligoyping; tuberculosis, surveillance; molecular epidemiology.

Recibido: 19/04/2022

Aprobado: 30/07/2022

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa y se considera un problema de salud pública de primera magnitud; una de las 10 primeras causas de muerte a nivel mundial y hasta que apareció la pandemia por la COVID-19, era la primera causa de muerte por un solo agente infeccioso, incluso por encima del VIH/Sida.⁽¹⁾

Alrededor de la cuarta parte de la población mundial está infectada con *Mycobacterium tuberculosis* y corren el riesgo de desarrollar la enfermedad.⁽¹⁾

La pandemia de la COVID-19 ha revertido años de progreso en la prestación de servicios esenciales de TB y la reducción de la carga por esta enfermedad. Los objetivos globales de TB están en su mayoría fuera de camino y el impacto más obvio es una gran caída global en el número de personas recién diagnosticadas con TB y reportadas.⁽²⁾



La tuberculosis con resistencia a fármacos se ha convertido en uno de los principales obstáculos que existen en la actualidad, para el control de esta enfermedad a nivel mundial.⁽²⁾

La tuberculosis multidrogorresistente (MDR) y la extremadamente resistente (XDR) son formas graves de la enfermedad. Sin lugar a dudas comprometen el éxito del tratamiento y adquieren gran importancia clínica y epidemiológica, por el alto costo de las drogas, su toxicidad, regímenes prolongados y baja tasa de éxito. Por tales motivos, la prevención cobra cada día mayor interés, así como la vigilancia de la resistencia mediante métodos convencionales y de técnicas rápidas de detección.⁽³⁾

Aunque es bien conocido que *Mycobacterium tuberculosis* puede mutar espontáneamente, la aparición de la resistencia se relaciona con un grupo de factores asociados a las fallas del Programa nacional de control de la TB en el que intervienen los regímenes terapéuticos no normados, suministro irregular o insuficiente de medicamentos, dificultades médicas al prescribir tratamiento inadecuado, por malas combinaciones, dosis insuficientes, tratamientos no controlados y otros factores atribuibles al paciente, que comprometen la adherencia; o por comorbilidades que comprometen la absorción o empeoran la toxicidad de los medicamentos.⁽³⁾

La vigilancia de la resistencia en *Mycobacterium tuberculosis* constituye una prioridad del Programa nacional de control de la TB en Cuba, en el contexto actual que el país avanza hacia la eliminación de la enfermedad. En el estudio realizado por Lemus y otros⁽⁴⁾ en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en TB, Lepra y Micobacterias, demostró bajos porcentajes de TB-MDR, 0,8 % para los casos nuevos y 5,2 % para los casos previamente tratados, durante los años 2012-2014 en consonancia con informes previos realizados en el Cuba.⁽⁴⁾

En la presente investigación, se aprovechan las cualidades que ofrece el método de tipificación con oligonucleótidos espaciadores (*Spoligotyping* en inglés) y se ejecuta la caracterización molecular de aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* MDR en Cuba.



MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo, longitudinal y retrospectivo, en Cuba, en el período comprendido entre enero de 1995 a diciembre del 2014. Se ejecutó en la Sección de Biología Molecular del Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias (LNRITM) del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK).

Se estudiaron, aislados de *Mycobacterium tuberculosis* obtenidos a partir de muestras clínicas, recibidos en el LNRITM del IPK, procedentes de los Laboratorios de TB de los centros provinciales de higiene, epidemiología y microbiología de Cuba y de la sección de diagnóstico del LNRITM.

El universo del estudio estuvo constituido por todos los aislamientos (84) de *Mycobacterium tuberculosis*. Se mantuvieron conservados a -70°C en agua destilada estéril. De ahí se tomó una alícuota de cada aislamiento y se inoculó en 2 tubos de Lowenstein-Jensen que se incubaron por 4 semanas a 37°C , para su posterior extracción de ADN.

Se excluyeron los cultivos contaminados, con escaso crecimiento o de muy difícil recolección de su biomasa.

La muestra la conformaron 54 aislamientos; lo cual representó el 65,47 % del total identificado en el periodo analizado.

Los aislamientos primarios se obtuvieron por inoculación de la muestra clínica en medio Löwestein-Jensen, incubados a 37°C . La identificación de especie se efectuó mediante pruebas bioquímicas convencionales y por el sistema inmunocromatográfico (BIO-LINE SD Ag MPT64 TB, Yongin, Korea).^(5,6)

A todos los aislamientos se le realizaron pruebas de sensibilidad mediante el método de la nitrato reductasa en medio de Löwestein-Jensen; se midió la sensibilidad a la isoniacida y la rifampicina, con una concentración crítica de $0,2\ \mu\text{g}/\text{mL}$ y $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

En los aislamientos que resultaron multirresistentes se evaluó mediante el método de las proporciones en medio de Löwestein-Jensen, la sensibilidad a isoniacida, rifampicina, estreptomina, etambutol, ofloxacina, kanamicina y capreomicina, utilizando las concentraciones críticas recomendadas para cada una de ellas: $0,2\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $4\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $2\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $2\ \mu\text{g}/\text{mL}$, $30\ \mu\text{g}/\text{mL}$ y $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.⁽⁴⁾



Los cultivos positivos, que además cumplieron con la característica de ser resistentes a la isoniacida y la rifampicina fueron enviados a la sección de biología molecular del LNRITM donde se les realizó la tipificación por *spoligotyping*.

A los aislamientos se les realizó la extracción de ADN siguiendo un protocolo de referencia internacional descrito por *van Soolingen* y otros.⁽⁷⁾

Se empleó el sistema Spoligotyping Kit IM9701 (Ocimum Biosolutions Ltd, Hyderabad, India), de acuerdo a lo publicado por *Kamerbeek* y otros.⁽⁸⁾ Brevemente, se amplificó por PCR la región externa a las secuencias repetitivas directas (DR) del genoma de *Mycobacterium tuberculosis*, empleando los cebadores DRa (GGT TTT GGG TCT GAC GAC) y DRb (CCG AGA GGG GAC GGA AAC, biotinilado). El producto amplificado se desnaturalizó e hibridó contra una membrana con 43 oligonucleótidos (derivados de la región DR) utilizando un Miniblotter MN 45 (Immunogenetics, Boston, EE.UU.). La membrana hibridada se enfrentó a un conjugado de estreptavidina-peroxidasa y luego se realizó una reacción quimioluminescente con el sistema ECL (GE Healthcare, Pittsburgh, EE.UU.). Finalmente, la membrana se expuso a una película de rayos X y se reveló después de 20 minutos de exposición. En cada membrana se utilizó como controles positivos ADN de *Mycobacterium bovis* P3 y *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Los resultados se introdujeron en una tabla de Microsoft Excel y se compararon con la base de datos internacional SpolDB4-SITVIT2 y con la base de datos nacional (LNRITM).⁽⁹⁾

Para el estudio de agrupamientos, los patrones genéticos se analizaron con la herramienta bioinformática en línea MIRU-VNTRplus (<http://www.miru-vntrplus.org>). El índice discriminatorio de Hunter-Gaston (HGDI) se usó para estimar el poder discriminatorio de la técnica.⁽¹⁰⁾ El índice de agrupamiento (como estimado mínimo de proporción de casos de TB relacionados a transmisión reciente), se calculó según *Small* y otros.⁽¹¹⁾

Los datos epidemiológicos generales se obtuvieron a partir de la encuesta nacional de vigilancia de la resistencia a las drogas antituberculosas y la base de datos nacional de TB del Ministerio de Salud Pública (Minsap) del período entre enero de 1995 a diciembre del 2014.

Se expresaron los resultados en forma de tablas y gráficos. Se usó el porcentaje como medida de resumen.



Consideraciones éticas: se cumplieron estrictamente las buenas prácticas de laboratorio, así como todas las medidas de bioseguridad para el trabajo y la manipulación de microorganismos según los niveles de riesgo establecidos por la lista oficial de agentes biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas, de la Resolución No. 38/06 del Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente vigente en Cuba. Este estudio recibió la aprobación del Comité de Ética (CEI-IPK-35-12).

RESULTADOS

En la figura 1 se hace un resumen de la tendencia de la TB en Cuba y la cantidad de casos MDR detectados en el periodo de 20 años. Se observa cómo ha ido disminuyendo el número de casos, sin embargo hay una tendencia al alza de casos MDR, sobre todos en el periodo 2008-2012, con un pico en el 2011, a pesar de que el por ciento es sumamente bajo. Esta predisposición al alza puede estar dada por el incremento de los viajes internacionales y los movimientos migratorios.

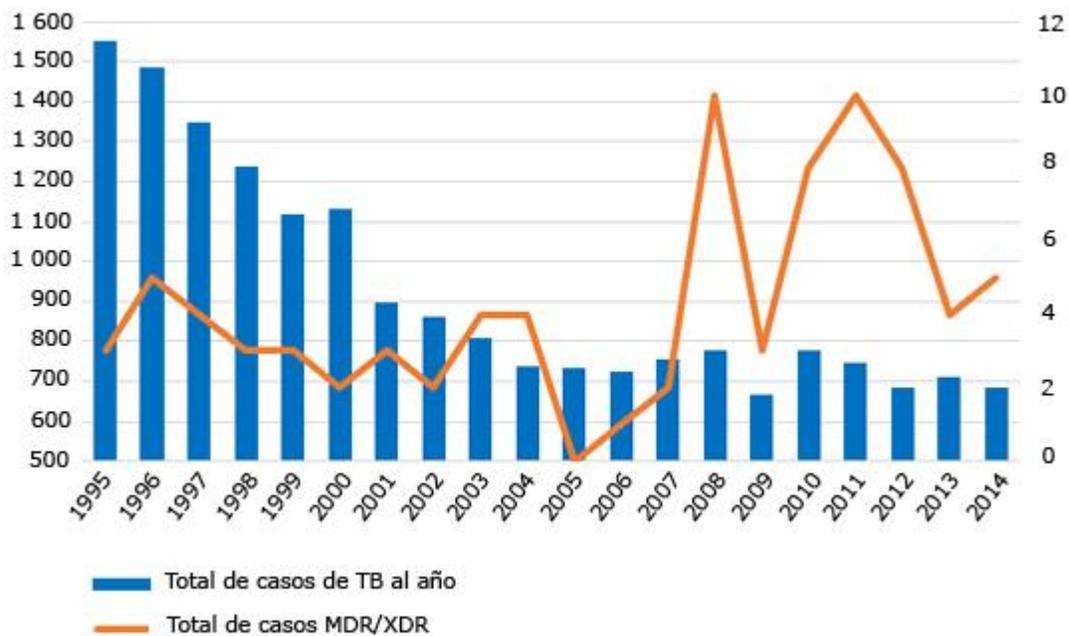


Fig. 1 - Total de casos de TB diagnosticados y total de casos MDR/XDR en Cuba.



Análisis de la tipificación molecular con *spoligotyping*

Según la Base Internacional SpolDB4.0 se identificaron 4 linajes predominantes de *Mycobacterium tuberculosis*, que incluyeron al 85,18 % de los aislamientos estudiados. De manera individual predominó la familia Beijing (31,4 %), seguido por los genotipos LAM (24,07 %), T (9,25 %) y Haarlem (14,6 %) (Fig. 2).

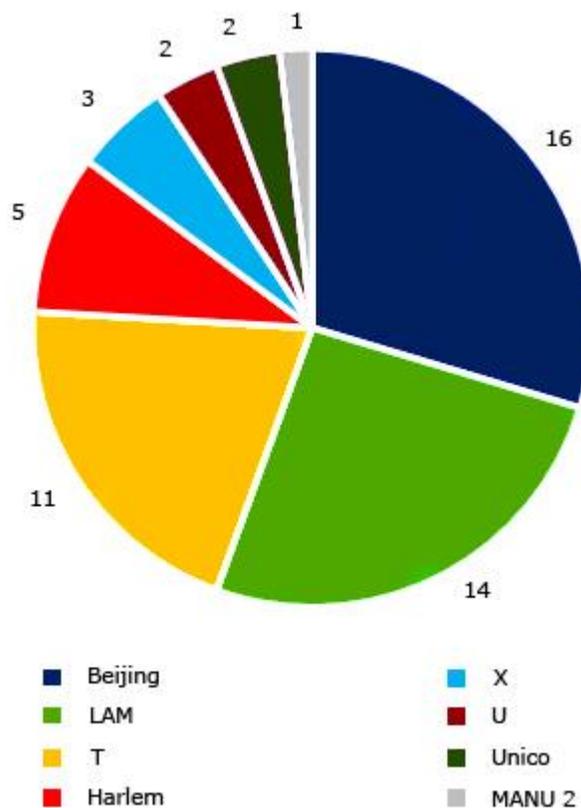


Fig. 2 - Linajes encontrados en los aislamientos MDR y XDR en Cuba.

La tipificación por *spoligotyping* realizada a 54 aislamientos de MDR y XDR produjo 21 patrones de espoligotipos diferentes, de los cuales 3 (5,55 %) fueron patrones no reportados anteriormente. El índice



de agrupamiento calculado mediante la fórmula de referencia⁽¹¹⁾ resultó de 0,6111 (61,11 %). Por su parte el HGDI fue de 0,8837.

Al confrontar los patrones de los aislamientos analizados con la base de datos internacional SpolDB4-SITVIT2 se pudo apreciar la diversidad de sublinajes dentro de las familias circulantes en Cuba. Se observa un amplio predominio del genotipo Beijing, seguido del sublinaje LAM9.

Al analizar la información epidemiológica de los casos relacionados con los aislamientos estudiados, se observó que de los 54 pacientes, la edad media fue de $47,57 \pm 16,53$ años. El 83,33 % del total de casos se encontraron en el rango de edad de 15 a 64 años, fundamentalmente en el grupo de 45 a 64 años. Este alto por ciento se encuentra en una población laboralmente activa. Esto hace que la detección precoz de los factores de riesgo y su adecuado control es importante para evitar la enfermedad y la pérdida de calidad de vida. Solamente el 16,66 % restante se encuentra por encima de los 65 años. También se apreció un predominio marcado del sexo masculino (tabla 1).

Cuando se analizó por regiones, se observó que el occidente y el oriente acumulan el 81,48 % de los casos; sin embargo, el occidente presenta más casos y una mayor diversidad genotípica (tabla 2). La proporción entre el sexo femenino y el masculino se mantuvo en todas las zonas.



Tabla 1 - Distribución de los factores que favorecen la aparición de casos MDR en 54 aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* MDR y XDR diagnosticados en Cuba

Características	Total	Por ciento
Tipo de caso de TB		
Nuevo	40	74,07
Recurrente o crónico	14	25,92
Tipo de TB		
TB BK positivo	43	79,72
TB BK negativo	10	18,51
TB extrapulmonar	1	1,85
Edad		
Menos 15 Años	0	0
15-29 Años	10	18,51
30-44 Años	13	24,07
45-64 Años	22	40,74
Igual o Más de 65 Años	9	16,66
Sexo		
Femenino	12	22,22
Masculino	42	77,77
Región de Procedencia		
Occidente	24	44,44
Centro	10	18,51
Oriente	20	37,03
Factor predisponente		
Casos crónicos	12	22,22
Provenientes del extranjero	9	16,66
Reclusos	3	5,55
Recaídas	2	3,70
TB extrapulmonar	1	1,85
Fallecidos	1	1,85
Sin factor predisponente	26	48,14

El hecho de que casi el 75 % de los casos MDR se encuentren en pacientes sin antecedentes de tratamiento con fármacos antituberculosos constituye una alerta y apunta hacia la prioridad que tiene la búsqueda de su posible fuente de infección (tabla 1).



Este hecho se refuerza al comparar los aislamientos con la base de datos internacional; se observa cómo en algunos sublinajes, los aislamientos cubanos están muy relacionados con otros procedentes de países con los cuales se mantienen estrecha vinculación, como EE.UU., Ecuador, México o Venezuela. Esto constituye una evidencia de la posibilidad de la entrada al país de casos MDR/XDR y la importancia de su vigilancia (tabla 3).

Cuando se procesó los datos de los pacientes, se observó una serie de factores que favorecen la aparición de casos MDR, en 28 de los 54 casos, para un 51,85 %. Los 2 más frecuentes son los casos crónicos de TB y los pacientes provenientes del extranjero. Sin embargo, hay un 48 % no se encontró relación con los factores estudiados, lo que hace necesario continuar el estudio epidemiológico (tabla 1).

Tabla 2 - Distribución de los genotipos de 54 aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* MDR y XDR diagnosticados en Cuba

Genotipo	Región			Total
	Occidente	Centro	Oriente	
Beijing	6	5	5	16
H1	2	-	1	3
H3	1	-	1	2
LAM1	-	-	1	1
LAM12 MAD 1	-	1	-	1
LAM3	2	-	-	2
LAM4	1	-	-	1
LAM9	3	1	5	8
MANU2	-	-	1	1
T1	3	2	2	7
T2	3	1	-	4
U	1	-	-	1
X2	2	-	-	2
X3	-	-	1	1
Desconocidos	1	-	2	3
Total	24	10	20	54



Tabla 3 - Frecuencia de aparición de aislamientos MDR en Cuba de Cuba en la base de datos internacional (SpolDB-SITVIT2)

Sublinaje (tipo)	Aislamientos MDR genotipados	Base de Datos SpolDB4-SIT-VIT2	
		Cantidad de aislamientos	%
Beijing (1)	15	6162	0.24
Beijing (1168)	1	5	20*
LAM1 (1769)	2	4	50**
LAM3(35)	1	775	0.13
LAM4(60)	1	373	0.27
LAM9(42)	9	2716	0.33
LAM-MAD1(209)	1	28	3.57
T1(53)	7	7786	0.09
T2(153)	4	46	8.69
Harlem1(47)	3	1830	0.16
Harlem3(50)	2	4209	0.05
X2(132)	2	8	25***
X3(92)	1	1133	0.09
MANU2(54)	1	115	0.87
U(1188)	2	4	50***

* Aislamientos procedentes de EE. UU. (3), China (1) y Cuba (1).

** Aislamientos originarios de Venezuela (2) y Cuba (2).

*** Aislamientos oriundos de EE.UU. (3), Ecuador (1), México (1), Venezuela (1) y Cuba (2).

**** Aislamientos provenientes de Tailandia (2) y Cuba (2).

DISCUSIÓN

La vigilancia ininterrumpida, por más de 30 años, de la resistencia a los fármacos antituberculosos en Cuba permite conocer las cifras de resistencia e identificar oportunamente los casos de TB resistente, para tratarlos de forma adecuada y evitar la diseminación en el país.

Se conoce que la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a los fármacos ocurre de manera natural, como resultado de mutaciones genéticas espontáneas que se originan en el cromosoma de la bacteria;



que la proporción de mutantes resistentes en una población de *Mycobacterium tuberculosis* salvaje es baja y que la selección ocurre como consecuencia de tratamientos inadecuados.^(4,12)

En los países con baja carga de la enfermedad, para lograr control de la TB se incluyen dentro de los programas, las técnicas de biología molecular. Dichas herramientas contribuyen a los esfuerzos de control y prevención de la TB a nivel nacional; son una plataforma para apoyar y fortalecer, la vigilancia y epidemiología tradicional.^(12,13)

La tipificación con oligonucleótidos espaciadores (*Spoligotyping*) fue el primer método de genotipado basado en PCR que se utilizó a gran escala para el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Es un método rápido, barato y usado en los 5 continentes. Cuenta con una gran base de datos internacional, lo que permite su comparación.⁽⁸⁾

La técnica de *spoligotyping* se evaluó con aislamientos cubanos en 1996-1997; demostró su valor como herramienta de primera línea de genotipificación, debido fundamentalmente a su rapidez, sencillez de interpretación y formato multimuestras. No obstante, no fue hasta 2010 (con recursos del proyecto del fondo mundial), que su utilización se ha hecho amplia como primera barrera de caracterización genética; se ha realizado el análisis de cientos de aislamientos de todas las provincias, en el periodo 2009-2012.⁽³⁾

Este estudio es el primero en Cuba, que analiza los aislamientos de TB-MDR de Cuba, durante los últimos 20 años, mediante la genotipificación por *Spoligotyping*. Se pudieron tipificar más del 60 % de los aislamientos MDR totales, lo cual representa una muestra representativa para este periodo.

La asociación entre el genotipo de Beijing y la TB-MDR varía en todo el mundo. El predominio de la familia Beijing en este estudio se corresponde con otros realizados en Cuba, como el de *Herrera* y otros,⁽¹⁴⁾ y *Martínez*.⁽¹⁵⁾ También se corresponde con lo encontrado en Kuwait, que es un país que, como Cuba, es de baja carga de TB y de baja incidencia de TB-MDR; así como Rusia, que tiene una alta incidencia de TB-MDR y que puede ser uno de los posibles orígenes de este linaje en Cuba, debido a las relaciones entre ambos países.^(12,16,17)

Al analizar la información epidemiológica, el 83,33 % del total de casos se encontraron en el rango de edad de 15 a 64 años, fundamentalmente en el grupo de 45 a 64 años. Este alto por ciento se encuentra en una población laboralmente activa. Esto hace que la detección precoz de los factores de riesgo y su adecuado tratamiento es importante para evitar la enfermedad y la pérdida de calidad de vida. Se



corresponde con lo detectado en otros estudios como el realizado en Japón,⁽¹⁸⁾ en 2 años; aunque la mayoría de los casos son de personas no nacidas en Japón.

En un estudio⁽¹⁹⁾ de 18 años realizado en Perú, la edad de los pacientes es mucho más baja que en los resultados del presente estudio y debe estar dado, por las diferencias entre un país de baja carga y uno de alta carga.

El hecho de haber encontrado resistencia a isoniacida y rifampicina en pacientes sin antecedentes de tratamiento con fármacos antituberculosos, constituye una alerta y apunta hacia la prioridad que tiene la búsqueda de su posible fuente de infección.

Esto hace necesario profundizar en el estudio de las posibles fuentes de infección en los casos nuevos portadores de cepas resistentes. Los resultados del presente estudio revisten una gran importancia para el programa nacional de control y alertan sobre la necesidad de investigar las causas que conducen al incremento de la tuberculosis resistente en Cuba y su repercusión en las acciones que se llevan a cabo para alcanzar la eliminación de la TB en el 2035.^(4,20)

Esta situación es similar a la reportada en Perú, con respecto a no haber sido previamente tratado.⁽²¹⁾ Sin embargo las razones pueden ser diferentes, ya que Perú tiene una alta transmisión de casos MDR, a diferencia de Cuba.

Lo reportado en la literatura⁽²²⁾ para países con baja incidencia, es que los casos MDR son importados, con emigrantes de naciones con alta carga. Cuba no recibe emigrantes de estos países, pero se mantienen relaciones comerciales, económicas y familiares, por lo que la vigilancia de la posible importación de cepas MDR se vuelva vital. Además, es necesario mantener el rigor y el control durante el tratamiento de los pacientes con TB, para evitar el desarrollo de cepas MDR autóctonas.

En este estudio se conocen los linajes circulantes en Cuba y se tiene una estimación de la dinámica de transmisión de los aislamientos MDR. No se pudo estudiar el 100 % de los casos, de acuerdo con lo recomendado en este tipo de investigación.

De los aislados MDR en Cuba, se encuentra una asociación entre el linaje Beijing y la resistencia al tratamiento. Se presenta en pacientes activos laboralmente, lo que hace necesario el diagnóstico y tratamiento precoz. La relación de estos casos con los reportados en la base de datos internacional hace imprescindible la vigilancia de la entrada a Cuba de aislados MDR.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Global Tuberculosis report 2021. Ginebra: OMS; 2018. [acceso: 05/02/2022]. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240037021>
2. Caminero Luna JA. Retos y posibilidades ante la tuberculosis multirresistente. Arch Bronconeumol. 2017 [acceso: 05/02/2022]; 53(8):417–418. Disponible en: <https://www.archbronconeumol.org/index.php?p=revista&tipo=pdf-simple&pii=S0300289617300455>
3. Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis en Cuba. La Habana: Misnap. [acceso: 29/11/2019]. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/programa_2015.pdf
4. Lemus Molina D, Echemendía Font M, Díaz Rodríguez R, Rodríguez Estévez D, Martínez Rodríguez A, Suárez Álvarez L, et al. Resistencia a fármacos antituberculosos en Cuba, 2015-2017. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2021 [acceso: 05/02/2022]; 73(1):e590. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v73n1/1561-3054-mtr-73-01-e590.pdf>
5. Kent PT, Kubica GP. Mycobacteriology: A guide for the level III laboratory. Atlanta: Ga. US Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control;1985.
6. Marzouk M, Kahla IB, Hannachi N, Ferjeni A, Salma W, Ghezal S, et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011 [acceso: 05/02/2022]; 69(4):396-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21396535/>
7. van Soolingen D, de Haas P, Kremer K. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing of mycobacteria. Methods Mol Med. 2001; 54:165-203. DOI: 10.1385/1-59259-147-7:165
8. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, et al. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. J Clin Microbiol. 1997 [acceso: 05/02/2022]; 35(4):907-14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC229700/>



9. Couvin D, David A, Zozio T, Rastogi N. Macro-geographical specificities of the prevailing tuberculosis epidemic as seen through SITVIT2, an updated version of the Mycobacterium tuberculosis genotyping database. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019; 72:31–43. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.12.030
10. Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol*. 1988 [acceso: 05/02/2022]; 26(11): 2465-66. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC266921/>
11. Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med*. 1994; 330(24):1703-9. DOI: 10.1056/NEJM199406163302402
12. Al-Mutairi NM, Ahmad S, Mokaddas EM. Molecular characterization of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis (MDR-TB) isolates identifies local transmission of infection in Kuwait, a country with a low incidence of TB and MDR-TB. *Eur J Med Res*. 2019; 24:38. DOI: 10.1186/s40001-019-0397-2
13. Montserrat Alvarez-Corrales N, Pineda-García L, Carrasco Cáceres JA, Aguilar Molina PY. Evaluación de spoligotyping a partir de baciloscopías como metodología alterna e independiente de cultivo para la genotipificación de Mycobacterium tuberculosis. *Rev Chilena Infectol*. 2021 [acceso: 05/02/2022]; 38(1): 61-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33844794/>
14. Herrera Avila YM, Fonseca Gómez CM, Gozá Valdés R, Martínez Rodríguez IM, Lemus Molina D, Llanes Cordero MJ, et al. Tipificación con oligonucleótidos espaciadores de Mycobacterium tuberculosis en Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2015 [acceso: 21/02/2022]; 67:85-96. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v67n1/mtr09115.pdf>
15. Martínez Rodríguez IM. Caracterización genotípica de Mycobacterium Tuberculosis en Cuba en 2009 por MIRU – VNTR- 24. [Tesis de Máster en Bacteriología Micología]. La Habana: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri; 2013.
16. Haeili M, Darban-Sarokhalil D, Imani Fooladi AA, Javadpour S, Hashemi A, Siavoshi F, et al. Spoligotyping and drug resistance patterns of Mycobacterium tuberculosis isolates from five provinces of Iran. *Microbiology Open*. 2013; 2(6): 988–96. DOI: 10.1002/mbo3.139



17. Cerezo-Cortés MI, Rodríguez-Castillo JG, Hernández-Pandob R, Murcia MI. Circulation of M. tuberculosis Beijing genotype in Latin America and the Caribbean. *Pathogens and Global Health*. 2019; 113(8): 336–51. DOI: 10.1080/20477724.2019.1710066
18. Mizukoshi F, Kobayashi N, Kirikae F, Ohta K, Tsuyuguchi K, Yamada N, et al. Molecular epidemiology of drug resistant Mycobacterium tuberculosis in Japan. *mSphere*. 2021; 6(4): e00978-20. DOI: 10.1128/mSphere.00978-20
19. Chung-Delgado K, Guillen-Bravo S, Revilla-Montag A, Bernabe-Ortiz A. Mortality among MDR-TB Cases: Comparison with Drug-Susceptible Tuberculosis and Associated Factors. *Plos One*. 2015; 10(3): e0119332. DOI: 10.1371/journal.pone.0119332
20. Battista Miglioria G, Tiberi S, Zumlad A, Petersene E, Muhwa Chakayah J, Wejsej C, et al. MDR/XDR-TB management of patients and contacts: Challenges facing the new decade. The 2020 clinical update by the Global Tuberculosis Network. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020; 92S:S15-S25. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.01.042
21. Soto Cabezas MG, Munayco Escate CV, Escalante Maldonado O, Valencia Torres E, Arica Gutiérrez J, Yagui Moscoso MJA. Perfil epidemiológico de la tuberculosis extensivamente resistente en el Perú, 2013-2015. *Rev Panam Salud Publica*. 2020; 44: e29. DOI: 10.26633/RPSP.2020.29
22. Lönnroth K, Mor Z, Erkens C, Bruchfeld R, Nathavitharana R, van der Werf MJ, et al. Tuberculosis in migrants in low-incidence countries: epidemiology and intervention entry points. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2017; 21(6):624–36. DOI: 10.5588/ijtld.16.0845

Conflictos de interés

No se declaran conflictos de interés en relación con el trabajo.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: *Raúl Díaz Rodríguez, Ileana Margarita Martínez Rodríguez.*

Curación de datos: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez.*

Análisis formal: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez.*

<http://scielo.sld.cu>

<http://www.revmedmilitar.sld.cu>



Adquisición de fondos: *Raúl Díaz Rodríguez.*

Investigación: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez, Dihadenys Lemus Molina.*

Metodología: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez, Raúl Díaz Rodríguez.*

Administración del proyecto: *Raúl Díaz Rodríguez.*

Recursos: *Raúl Díaz Rodríguez, Dihadenys Lemus Molina.*

Supervisión: *Raúl Díaz Rodríguez.*

Validación: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez, Andrea María Rodríguez Bertheau.*

Visualización: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez, Andrea María Rodríguez Bertheau.*

Redacción – borrador original: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez, Andrea María Rodríguez Bertheau.*

Redacción – revisión y edición: *Ileana Margarita Martínez Rodríguez, Andrea María Rodríguez Bertheau, Raúl Díaz Rodríguez.*