

Situación actual y perspectivas clínicas de la Tuberculosis. Problemas terapéuticos

Jose Luis Pérez Arellano^{1,2}, Oscar Sáenz Pelaez¹, Michele Hernández-Cabrera^{1,2}, Alfonso Angel-Moreno Maroto^{1,2}

¹Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. ²Unidad de Enfermedades Infecciosas y Medicina Tropical, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria

Correspondencia:

Prof. J.L. Pérez Arellano

Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 35080 Las Palmas de Gran Canaria.

E-mail: jlperez@dcmq.ulpgc.es

Resumen

La presente revisión pretende proporcionar al clínico una perspectiva global y concisa de la tuberculosis. Se revisan los conocimientos más relevantes sobre los aspectos microbiológicos, epidemiológicos y patogénicos, así como de diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad en la actualidad.

Palabras clave: Tuberculosis. Tratamiento.

Summary

The aim of this review is to provide a comprehensive, yet concise perspective on tuberculosis for the clinician. The most relevant knowledge about microbiologic, epidemiologic and pathogenetic aspects are reviewed, as well as those related to the diagnosis and therapy of this disease in the present time.

Key words: Tuberculosis. Treatment.

Introducción

La interacción entre las bacterias del complejo *M tuberculosis* y el ser humano ha sido constante a lo largo de la historia, ocasionando una importante morbilidad y mortalidad. El legítimo afán de los sanitarios por erradicar o, al menos limitar, las consecuencias de la infección tuberculosa, ha sido dificultado por las peculiares características de esta interacción. Por ello, señalaremos en la primera parte de este trabajo los aspectos diferenciales tanto de la infección como de la enfermedad tuberculosa. La consecuencia inmediata es la situación epidemiológica actual, cuyos aspectos esenciales serán contemplados en un segundo apartado. En el último apartado, realizaremos algunas consideraciones sobre el tratamiento actual de la tuberculosis, planteando finalmente las "necesidades" terapéuticas, desde un punto de vista clínico para abordar, de forma eficaz, este esencial problema de salud.

Aspectos particulares de la tuberculosis

A diferencia de otras enfermedades infecciosas, la tuberculosis presencia varias características específicas, que resumimos en la Figura 1.

Tuberculosis como síndrome

Los microorganismos causales de la tuberculosis se incluyen taxonómicamente en el orden *Actinomycetales* y en la familia *Mycobacteriaceae*. En la actualidad el denominado "complejo *Mycobacterium tuberculosis*" incluye cinco especies: *M tuberculosis*, *M bovis*, *M africanum*, *M microti* y *M canetti*^{1,2}. Sin lugar a dudas, la tuberculosis producida por *M tuberculosis* es la más importante desde el punto de vista sanitario y, por ello, en adelante nos referiremos de forma prácticamente exclusiva a este microorganismo. La tuberculosis por *M bovis* es menos frecuente en los países industrializados debido al control de la tuberculosis animal y a la pasteurización de la leche, aunque constituye todavía un problema importante en los países en vías de desarrollo³. *M africanum* es responsable de un menor número de casos de tuberculosis en África, debido a su menor virulencia⁴. La infección por *M microti* (agente causal de tuberculosis en roedores) ha sido recientemente descrita en humanos, principalmente en inmunodeprimidos^{5,6}. Los escasos pacientes con tuberculosis producidos por *M canetti* proceden del "cuerno de África" (Djibouti, Somalia)⁷.

Por otro lado, no todas las bacterias de la especie *M tuberculosis* tienen el mismo potencial de transmisión. En este sentido, tiene interés destacar la descripción de cepas con una elevada virulencia (cepas Beijing) en diferentes zonas, incluida España (Gran Canaria)^{8,9}.

Por ello, la tuberculosis no es, en sentido estricto, una enfermedad (un único agente causal) sino un síndrome producido por diferentes microorganismos. Esta matización no solo tiene interés académico, sino que presenta implicaciones terapéuticas (p. ej. *M bovis* presenta resistencia natural a la piracinamida)¹⁰.

Estructura de la pared de las bacterias tuberculosas

M tuberculosis ejerce sus efectos patógenos y evita la actuación de los mecanismos de defensa, mediante las estructuras presentes en su superficie y los elementos segregados. La *cubierta externa* de *M tuberculosis* (y de otras micobacterias) es muy diferente de la presente en otras especies¹¹⁻¹³ (Figura 2). Así, la capa de peptidoglicano se encuentra unida de forma covalente a glúcidos (arabinosa-galactosa) unidos a su vez a ácidos micólicos. Estos ácidos micólicos, constituyentes principales de la pared celular micobacteriana (50% del peso seco), son β -hidroxiácidos de cadena larga (C₆₀-C₉₀)^{14,15}. En íntimo contacto con los ácidos micólicos se encuentran varios componentes no unidos covalentemente: "cord factor" (factor trenza o trehalosa 6,6'-dimicolato), sulfolípidos, diacil y triacil trehalosas, lipooligosacáridos y micósidos. Estos componentes constitu-

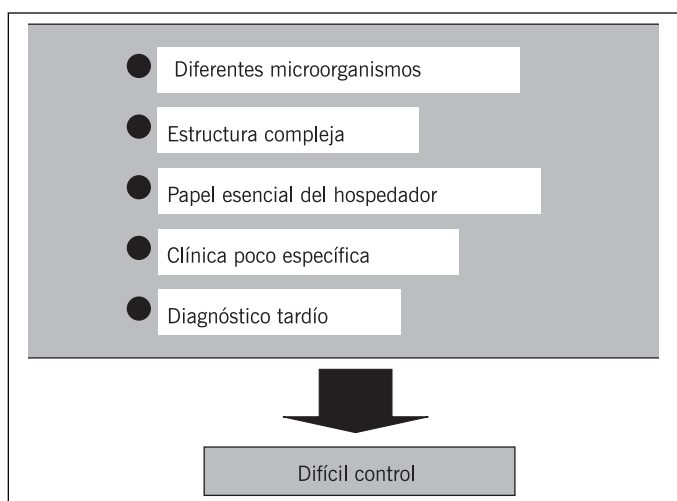
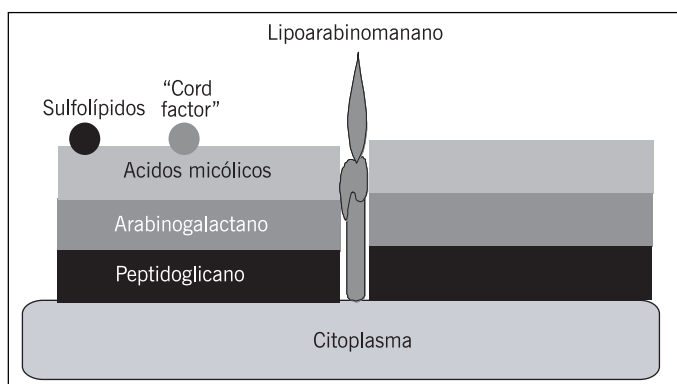


Figura 1. Peculiaridades de la tuberculosis

Figura 2. Esquema de la pared de *M tuberculosis*

yen la región más externa también conocida como "cápsula" micobacteriana, aunque esta denominación no es correcta conceptualmente al no estar unida covalentemente a capas más profundas. Otro elemento importante de la superficie de *M tuberculosis* es el lipoarabinomanano, anclado en la membrana plasmática y que atraviesa las estructuras descritas^{14,15}. Es menos conocido el efecto de los *componentes segregados* por *M tuberculosis*, aunque algunos estudios han demostrado la liberación específica de algunas enzimas clásicas o componentes antigénicos¹⁶.

Aunque se ha postulado, y es probable que sea correcto, el papel de diversos componentes en la patogenia de la tuberculosis, principalmente los ácidos micólicos y fragmentos del complejo peptidoglicano-arabinogalactano-ácido micólico, la mayor parte de datos experimentales se han obtenido de dos tipos de moléculas puras: el "cord factor" y el lipoarabinomanano (resumidos en 17).

En los últimos años, la caracterización del genoma de las principales especies del complejo *M tuberculosis*^{18,19} ha permitido identificar importantes dianas biológicas, específicas de estas bacterias² (Tabla 1).

Relación entre contacto-infección-enfermedad

La secuencia habitual de la interacción entre un microorganismo y el ser humano consiste en tres fases consecutivas: contacto, infección y enfer-

Tabla 1. Ejemplos de moléculas "diana" en *M Tuberculosis*

Proteínas estructurales y segregadas
HspX
Esat 6
19 kD
Erp
FadD26, FadD28
FbpA
OmpA
LAM
Enzimas del metabolismo
Lipídico Fosfolipasas C
Proteico LeuD
Captación de metales, MgtC, IdeR
Radicales libres: Nitrato reductasa
katG
SodA, SodC
Reguladores de la transcripción
Factores σ
reguladores de respuesta

medad. En la mayoría de casos, el contacto con un agente infeccioso, lleva a la infección y ésta da lugar a la aparición de enfermedad. Sin embargo, tras la interacción entre los bacilos tuberculosos y el ser humano los acontecimientos son algo diferentes, presentando además peculiaridades dependiendo de si afecta a sujetos inmunocompetentes (Figura 3) o inmunodeprimidos (Figura 4).

El *contacto* entre el bacilo tuberculoso y el ser humano lleva a la infección en un porcentaje variable. En esta fase influyen dos tipos de factores: exógenos y endógenos^{17,20,21}. En lo que respecta a los factores exógenos, como el único reservorio de *M tuberculosis* es la especie humana, la única forma posible de transmisión es interhumana, siendo excepcional el contagio por fómites o desde animales (domésticos o salvajes). Por otro lado, el 95% de los casos la tuberculosis se transmite por vía aérea siendo excepcional la transmisión por vía digestiva (en el caso de la infección por *M bovis*) y existiendo casos concretos de escaso interés epidemiológico de transmisión por otras vías (p. ej. cutánea o sexual).

La transmisión por vía aérea se relaciona directamente, además de los factores de virulencia mencionados, con el potencial de generación de partículas infectantes por el transmisor. Esta situación guarda relación directa con:

1. *El número de bacilos*,
2. *La localización del foco tuberculoso*, por lo que el riesgo de transmisión se incrementa en la tuberculosis laríngea, en las formas pulmonares cavitarias y neumónicas, descendiendo en los casos de formas bacilíferas negativas y siendo prácticamente nulo en las formas con cultivo negativo,
3. *El tiempo de contacto* con el enfermo, siendo máximo para las personas que conviven con un paciente tuberculoso disminuyendo en los contactos esporádicos,
4. *La aerosolización del bacilo* producida al estornudar, hablar, cantar y, sobre todo, al toser y,
5. *Las condiciones de hacinamiento* que aumentan la facilidad de transmisión entre sujetos enfermos y sanos.

De cualquier forma, varios datos observacionales sugieren que también existen *factores endógenos* (sexo, raza, variaciones individuales) que con-

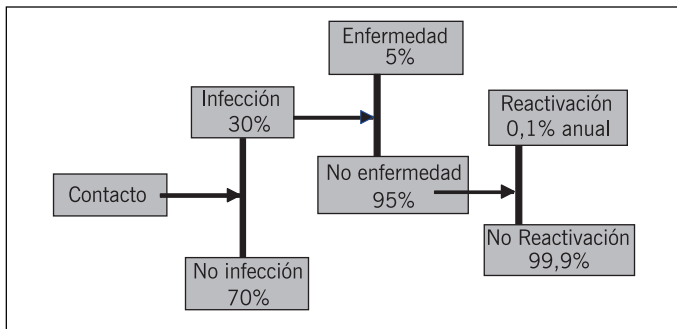


Figura 3. Historia natural de la infección tuberculosa en inmunocompetentes

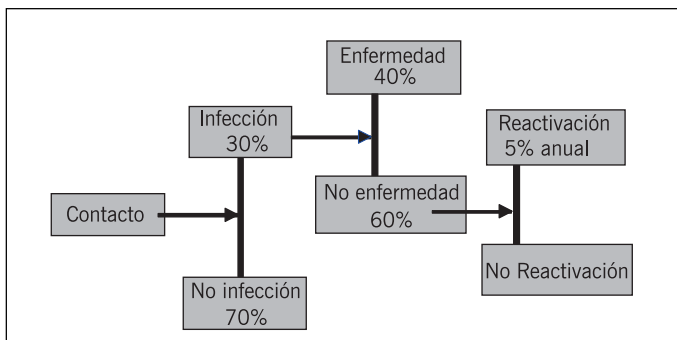


Figura 4. Historia natural de la infección tuberculosa en inmunodeprimidos

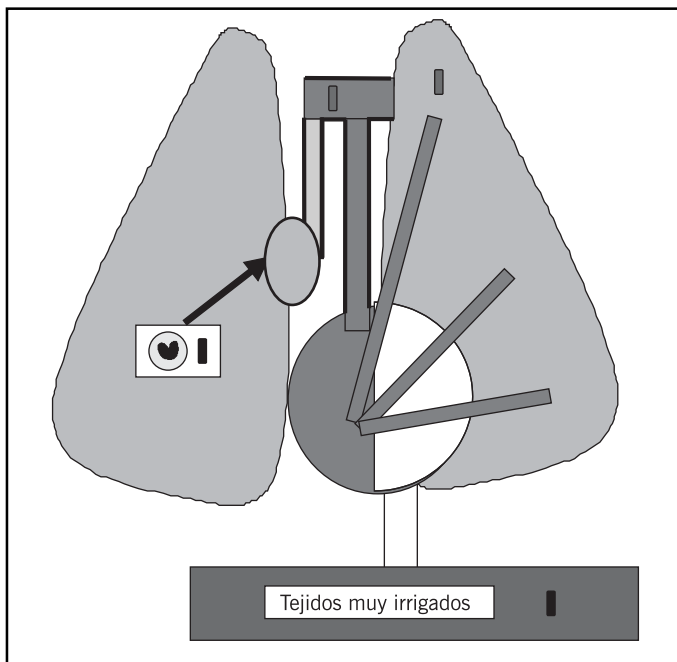


Figura 5. Diseminación de los bacilos

dicionan la mayor o menor facilidad para que tras un contacto tenga lugar la infección²²⁻²⁶.

La infección se produce tras la llegada de partículas al alveolo. Aunque los pacientes tuberculosos activos generan varios tipos de partículas portadoras de bacilos, sólo las partículas de 1-5 μm , formadas por condensación de otras de mayor tamaño, son las realmente infecciosas, accediendo y depositándose en la región alveolar. Cada una de ellas contiene aproximadamente entre 1 y 5 bacilos, considerándose que deben llegar un mínimo de 10 a 200 partículas para que tenga lugar la infección.

La zona de llegada preferente es, lógicamente, la zona mejor ventilada del pulmón y corresponde a la región subpleural del lóbulo inferior. Los bacilos tuberculosos se encuentran en la región alveolar principalmente con los macrófagos alveolares, que constituyen más del 95% de las células presentes en el dicha región^{27,28}, y con el surfactante que tapiza los alvéolos. La interacción inicial bacilo tuberculoso-macrófago alveolar humano se produce por fagocitosis mediada por varios tipos de receptores:

1. Para elementos del complemento (CR1, CR3 y CR4),
2. Para manosa,
3. Los receptores para proteínas del surfactante,
4. Tipo *Toll*.

Tras la unión a los macrófagos alveolares los bacilos tuberculosos son internalizados e incluidos en la vacuola de fagocitosis. En esta fase, los bacilos ponen en marcha estrategias de evasión capaces de superar los mecanismos de defensa, ya que los macrófagos alveolares no se encuentran activados por las citocinas^{29,30}. Con la excepción de la producción de óxido nítrico, se ha demostrado que todos los mecanismos bactericidas macrófágicos son anulados por productos derivados de las micobacterias. La consecuencia inmediata es la generación de un conjunto de sustancias quimioatrayentes procedentes tanto de las propias micobacterias o de sus fragmentos como de los propios macrófagos alveolares. Globalmente, las consecuencias son de tres tipos:

1. El crecimiento exponencial del número de bacilos que aumenta la carga infecciosa
2. La aparición de una alveolitis, es decir, una inflamación de la región alveolar y
3. El escape de micobacterias, por vía linfática, hacia los ganglios regionales (Figura 5).

En esta última región tiene lugar la respuesta inmunológica inicial del organismo a la infección tuberculosa, aunque habitualmente los bacilos escapan hasta el conducto linfático y entran en la circulación pulmonar accediendo al intersticio pulmonar y, atravesando el filtro pulmonar, a todos los órganos de la economía. Los principales focos metastásicos son los órganos muy irrigados, es decir, el sistema nervioso central, el hueso esponjoso, hígado, riñón y región genital. En cada uno de estos órganos los bacilos son fagocitados por las células locales del sistema mononuclear fagocítico.

La respuesta inmune a las micobacterias tuberculosas es compleja siendo, en humanos, principalmente celular (no humoral). El papel principal correspondería a los linfocitos $T\alpha/\beta$ CD4 activados con fenotipo Th1 colaborando directamente con los macrófagos, en segundo lugar a los linfocitos citotóxicos y en tercer lugar a los linfocitos $T\gamma/\delta$, siendo menos importante el papel de las células "natural killer". Los datos inmunológicos y los estudios experimentales permiten sugerir que el control de la infección tuberculosa cursa en dos fases: 1. Una primera fase en la que se produce una respuesta global citotóxica y apoptótica y 2. Una segunda fase en la que la activación macrófaga por citocinas linfocitarias lleva a un control de la infección.

Desde el punto de vista clínico, los sujetos inmunocompetentes desarrollan un equilibrio entre el bacilo y el organismo, que actúa hasta que una circunstancia predisponente sea capaz de reactivar la infección^{31,32}. Sin embargo, los individuos inmunodeficientes no son capaces de controlar la infección, desarrollando la enfermedad y, lógicamente, no se hacen positivos para la reacción tuberculínica.

La *enfermedad tuberculosa* presenta tres patrones diferentes:

1. La que aparece durante la primoinfección,
2. La reactivación y
3. La reinfección.

Durante la *primoinfección* aproximadamente el 95% de los pacientes permanecen asintomáticos (o con síntomas mínimos que recuerdan un episodio gripal) y sólo un 5% desarrollan enfermedad aparente. Lo habitual en estos sujetos es que se produzca una conversión tuberculínica que traducirá el desarrollo de linfocitos CD4 que reconocen al bacilo tuberculoso. Sin embargo, aproximadamente un 5% de los sujetos que sufren una primoinfección tuberculosa presentan manifestaciones clínicas de la misma que pueden ser locales: (p. ej. neumonía tuberculosa, por extensión de la alveolitis al resto del lóbulo pulmonar, o pleuritis tuberculosa, por rotura de un foco próximo a la cavidad pleural) o generales (tuberculosis miliar). En estos casos, la regla es que no se produzca la conversión tuberculínica, ya que la infección no ha sido adecuadamente controlada por el sistema inmune.

La *reactivación* tuberculosa tiene lugar en circunstancias en las que los mecanismos inmunes son incapaces de controlar la replicación de las micobacterias. Estas formas de enfermedad tuberculosa (las más frecuentes en nuestro medio) pueden expresarse con manifestaciones locales (principalmente en los vertices pulmonares, debido a la elevada concentración tisular de oxígeno), o afectar simultáneamente a diferentes órganos y sistemas. La reacción tuberculínica en la reactivación de la tuberculosis puede ser positiva (asumiendo en estos casos una alteración local de la inmunidad) o negativa (señalando un profundo déficit de la inmunidad celular sistémica).

Finalmente, en diferentes circunstancias es posible que una *reinfección tuberculosa* sea la responsable de las manifestaciones clínicas³³.

Métodos diagnósticos

En la práctica clínica, el diagnóstico de enfermedad tuberculosa se basa en la baciloscopia, el cultivo, las técnicas de identificación bioquímica y las pruebas de sensibilidad a fármacos^{21,34}. La *baciloscopia* (detección de bacilos ácido-alcohol resistentes o BAAR mediante la tinción de Ziehl-Neelsen o fluorocromos como la auramina) es una prueba muy útil, aunque tiene dos limitaciones importantes: la sensibilidad (siendo negativa en casos poco bacilíferos) y la especificidad (ya que también detecta micobacterias no tuberculosas y no permite identificar la especie concreta dentro del complejo *M tuberculosis*). El *cultivo*, en medios sólidos (p. ej. Löwenstein-Jensen, Coletsos), líquidos (radiométricos o no) o bifásicos (p. ej. MB Septi-Check®), constituye el "patron áureo" en el diagnóstico de tuberculosis ya que tiene mayor sensibilidad y permite el aislamiento preciso para su identificación bioquímica y el estudio de resistencias. Sin embargo, estas técnicas de cultivo son lentas por lo que la información aportada es tardía.

En los últimos años, las técnicas de biología molecular han aportado una mayor rapidez en el diagnóstico y en la identificación de marcadores de resistencia³⁴⁻³⁷. Sin embargo, estas técnicas no están al alcance de todos los laboratorios, lo que limita su utilidad práctica.

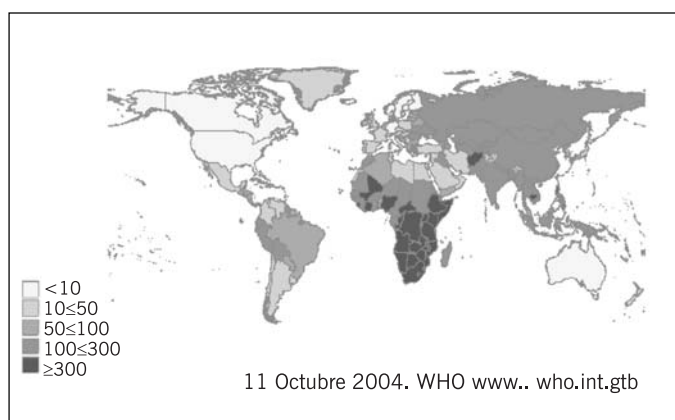


Figura 6. Casos de tuberculosis/100.000 habitantes/año

Situación epidemiológica de la infección y enfermedad tuberculosa

Como consecuencia de las peculiares características mencionadas previamente y de la deficiente aplicación de métodos de control, la tuberculosis sigue siendo una enfermedad con una elevada prevalencia. Así, se considera que un tercio de la humanidad está infectada y en riesgo de desarrollar la enfermedad³⁸. En lo que respecta a la enfermedad tuberculosa, se calcula que la incidencia es de 9 millones de casos nuevos al año y la mortalidad por enfermedad tuberculosa, de 2-3 millones/anuales³⁹. En otros términos, y siguiendo los datos aportados por la estrategia DOTS, puede afirmarse:

1. Que la tuberculosis mata a más personas que cualquier otra enfermedad curable del mundo,
2. Que una persona con enfermedad tuberculosa contagia aproximadamente a 10-15 personas al año, lo que equivale a que cada segundo, una persona se infecta por el bacilo tuberculoso,
3. Que aproximadamente fallecen 4 personas debido a la tuberculosis cada minuto y
4. Que cada día 25.000 personas desarrollan tuberculosis y 5.000 mueren de la enfermedad.

Un dato de especial trascendencia es que el 80% de los casos se localizan en un número limitado de países, principalmente los localizados en África sub-sahariana, Marruecos, algunos países sudamericanos (Ecuador, Perú, Bolivia) y Asia (China, India, Filipinas). En la Figura 6 se indica la situación actual de la tuberculosis en los diferentes países.

La tuberculosis, de forma similar a otras enfermedades infecciosas, debiera seguir una evolución temporal experimentando una tendencia al declive. Sin embargo, los datos actuales no confirman esta tendencia. Una causa común a países ricos y pobres es la coinfección por VIH, en colectivos diferentes (p. ej. usuarios de drogas por vía parenteral y situaciones marginales en países ricos, o a toda la comunidad en países pobres). Por otro lado, en los países ricos, el empleo de inmunosupresores y la inmigración desde países con elevada endemia son dos factores progresivamente más importantes. Sin embargo, en los países pobres, las malas condiciones nutricionales e higiénicas, así como la falta de recursos sanitarios y su adecuada gestión, tienen más relevancia.

Tratamiento actual de la tuberculosis y sus problemas

El tratamiento actual de la tuberculosis se fundamenta en la existencia de distintas poblaciones bacilares (Figura 7) en el foco tuberculoso²¹:

1. La más abundante, constituida por bacterias en crecimiento activo,
 2. Un conjunto de bacterias en fase de inhibición ácida (en el interior del fagosoma o en las zonas inflamatorias),
 3. Una población de microorganismos en fase de multiplicación esporádica, con periodos durmientes largos y
 4. Un pequeño número de bacilos totalmente durmientes.
- Cada una de estas poblaciones es responsable de diferentes manifestaciones. Así, los bacilos en crecimiento activo son los responsables de la clínica actual, mientras que tanto las bacterias en fase de inhibición ácida como las parcialmente durmientes son las responsables de las recaídas. Finalmente, las bacterias totalmente durmientes son las responsables de la reactivación.

La necesidad de eliminar estas diferentes poblaciones bacilares (excepto las totalmente durmientes, por el momento imposibles de erradicar) condiciona dos aspectos diferentes en el tratamiento antituberculoso^{21,40,41}:

1. El empleo de una combinación de fármacos activos frente a diferentes poblaciones y 2. La utilización de fármacos durante periodos prolongados de tiempo. En este sentido, los fármacos con actividad frente a las bacterias de crecimiento rápido se denominan bactericidas, siendo el fármaco con más actividad la isoniacida (H). Los fármacos que previenen las recaídas se denominan esterilizantes, siendo la pirazinamida (Z) el más eficaz frente a los microorganismos en fase de inhibición ácida y la rifampicina (R) el más útil en la erradicación de bacilos parcialmente durmientes.

Por ello, la combinación de tres o más fármacos antituberculosos, durante un periodo prolongado (meses), constituye la base del tratamiento de esta enfermedad. En el excelente trabajo de Coll⁴² se revisan de forma

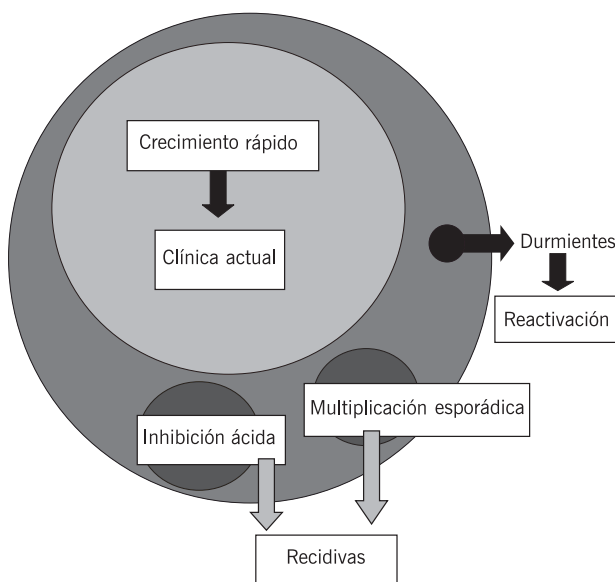


Figura 7. Poblaciones bacilares en un foco tuberculoso

detallada las principales características de los tuberculostáticos y su mecanismo de acción (Figura 8). Aunque no es el objetivo de este artículo la descripción de todos los esquemas de tratamiento antituberculoso, debemos señalar que la pauta “estándar” en personas autóctonas con tuberculosis se basa en la administración durante dos meses de isoniacida, rifampicina y piracinamida, continuando cuatro meses más con isoniacida y rifampicina. En el inmigrante procedente de países en vías de desarrollo, y debido a la tasa de resistencia primaria a isoniacida, es conveniente añadir etambutol durante la primera fase a la pauta anterior hasta conocer los estudios de sensibilidad.

Las pautas indicadas (varios fármacos, tiempo prolongado) presentan dos tipos de problemas: 1. Los derivados de la intolerancia, toxicidad individual e interacciones farmacológicas y 2. La falta de cumplimiento terapéutico. Este último problema da lugar al abandono del tratamiento o, lo que es más preocupante desde un punto de vista colectivo, al empleo subóptimo, lo que genera una selección de resistencias.

En los últimos años, la OMS ha emitido un informe acerca de la resistencia farmacológica de *M tuberculosis* en 62 países (75 localizaciones)⁴³. En lo que respecta a los nuevos casos (no pretratados) la resistencia a al menos un fármaco oscilaba entre el 0% en países de Europa del Oeste y un 57,1% in Kazakhstan, siendo la mediana de un 10,2%. La mediana de resistencia a fármacos específicos era la siguiente: estreptomycin 6,3%; isoniacida 5,9%; rifampicina 1,4% y etambutol 0,8%. La prevalencia de multiresistencia oscilaba entre el 0% en 8 países y 14,2% en Kazakhstan e Israel. Las más altas tasas de multiresistencia fue detectada en Tomsk Oblast (Federación rusa) (13,7%), Karakalpakstan (Uzbekistan) (13,2%), Estonia (12,2%), Liaoning (China) (10,4%), Lituania (9,4%), Latvia (9,3%), Henan (China) (7,8%), y Ecuador (6,6%).

En presencia de cepas resistentes es preciso el empleo de fármacos de “segunda línea”, que pueden ser encuadrados en dos grupos principales: clásicos y actuales⁴⁴. Los tuberculostáticos de segunda línea “clásicos” (ácido para-aminosalicílico, cicloserina, etionamida, tiosemicarbacina, kanamicina) son menos eficaces y, además, presentan importantes efectos secundarios, que obligan en muchos casos a la retirada del fármaco. Por otro lado, los “nuevos” fármacos de segunda línea (quinolonas y oxazolidinonas) presentan un precio elevado y no están exentos de efecto secundarios, sobre todo si se usan a largo plazo.

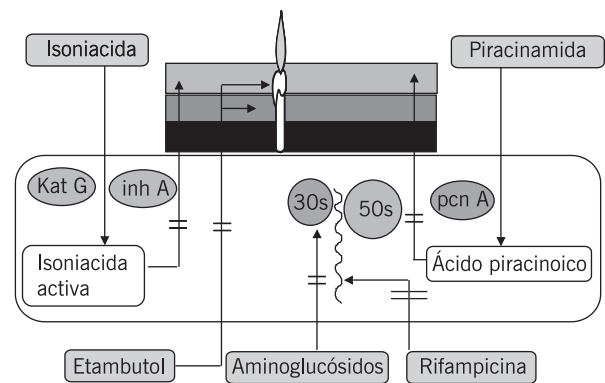


Figura 8. Mecanismo de acción de los Fármacos de primera línea

Conclusiones

Por todo lo mencionado en los epígrafes anteriores, es necesario el desarrollo de nuevos fármacos con acción frente al complejo M tuberculosis. Desde un punto de vista ideal, estos fármacos debieran ser

1. *Menos tóxicos*, lo que podría lograrse actuando sobre dianas específicas de *M. tuberculosis*,
2. *Más baratos*, para poder tratar la tuberculosis en países con bajos recursos económicos (en los que esta enfermedad es más frecuente) y
3. Con *acción más rápida*, lo que prevendría la aparición de resistencias.

Bibliografía

1. Warren NG, Body BA. Bacteriology and diagnosis. En: Rossman MD, MacGregor RR (ed) *Tuberculosis. New York McGraw Hill* 1995:35-3.
2. Smith I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:463-96.
3. Cosivi O, Grange JM, Daborn CJ, et al. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerg Infect Dis* 1998;4:59-70
4. Frothingham R, Strickland PL, Bretzel G, Ramaswamy S, Musser JM, Williams DL. Phenotypic and genotypic characterization of *Mycobacterium africanum* isolates from West Africa. *J Clin Microbiol* 1999;37:1921-6.
5. van Sooligen D, van der Zanf den AGM, de Haas PEW et al. Diagnosis of *Mycobacterium microti* infections among humans by using novel genetic markers. *J Clin Microbiol* 1998;36:1840-5.
6. Kremer K, van Sooligen D, van Embden J, Hughes S, Inwald J, Hewinson G. *Mycobacterium microti*: more widespread than previously thought. *J Clin Microbiol* 1998;36:2793-4.
7. Miltgen J, Morillon M, Koeck JL, Vamerot A, Briant JF, Nguyen G, et al. Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* subsp canetti. *Emerg Infect Dis* 2002;8:1350-2.
8. Bifani PJ, Mathema B, Kurepina NE, Kreiswirth BN. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. *Trends Microbiol.* 2002;10:45-52.
9. Caminero JA, Pena MJ, Campos-Herrero MI, Rodriguez JC, Garcia I, Cabrera P, et al. Epidemiological evidence of the spread of a *Mycobacterium tuberculosis* strain of the Beijing genotype on Gran Canaria Island. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 164: 1165-70.
10. Scorpio A, Zhang Y. Mutations in *pcnA*, a gene encoding pyrazinamidase/ nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. *Nat Med* 1996;2:662-7.
11. Brennan PJ, Nikaido H. The envelope of mycobacteria. *Annu Rev Biochem* 1995;64:29-63.
12. Karakousis PC, Bishai WR, Dorman SE. *Mycobacterium tuberculosis* cell envelope lipids and the host immune response. *Cell Microbiol.* 2004;6:105-16.
13. Fenton MJ, Vermeulen MW. Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes. *Infect Immun* 1996; 64:683-690.
14. Clemens DL. *Mycobacterium tuberculosis*: bringing down the wall. *Trends Microbiol* 1997; 5:383-385.
15. Asselineau J, Lanéelle G. Mycobacterial lipids: a historical perspective. *Front Bioscience* 1998; 3:E164-E174.
16. Raynaud C, Etienne G, Peyron P, Laneelle MA, Daffe M. Extracellular enzyme activities potentially involved in the pathogenicity of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiology* 1998;144 (Pt 2):577-87.
17. Pérez Arellano JL, Angel-Moreno Maroto A, Francés Urmeneta A, Caminero Luna JA. Aspectos actuales de la patogenia de la tuberculosis. Salamanca: *Tesitex*, 2001:19-64
18. Terwilliger TC, Park MS, Waldo GS, Berendzen J, Hung LW, Kim CY et al. The TB structural genomics consortium: a resource for *Mycobacterium tuberculosis* biology. *Tuberculosis (Edinb)* 2003;83:223-49.
19. Domenech P, Barry CE, Cole ST. *Mycobacterium tuberculosis* in the post-genomic age. *Curr Opin Microbiol.* 2001;4:28-34.
20. Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. *Am J Respir Crit Care* 1998; 157:679-91.
21. Caminero JA. *Guía de la tuberculosis para médicos especialistas*. París: Unión Internacional contra la tuberculosis y enfermedades respiratorias (UICTER), 2003.
22. Bellamy R, Beyers N, McAdam KP, et al. Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: a genome-wide scan. *Proc Natl Acad Sci USA*; 2000;97:8005-9.
23. Turner MW, Dinan L, Heatley S, et al. Restricted polymorphism of the mannose-binding lectin gene of indigenous Australians. *Hum Mol Genet* 2000;9:1481-6.
24. De March Ayuela P, Vidal Plá R. Concepto de infección y enfermedad tuberculosa. En Vidal Plá R y De March Ayuela P (ed) *Tratamiento de la infección y enfermedad tuberculosa*. Ed Doyma 1992;1-8.
25. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KPWJ, Whittle HC, Hill AVS. Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 1998;338:640-64.
26. Skamene E. Genetic control of susceptibility to mycobacterial infections. *Rev Infect Dis* 1989;2 (supl 2): S394-S399.
27. Pérez Arellano JL, Alcázar Montero MC, Jiménez A. Alveolar macrophage: Origin, kinetics and relationships with cells of the alveolo-interstitial region. *Allergol Immunopathol* 1990;18:175-83.
28. Pérez Arellano JL, Losa García JE, García Martín MJ, et al Organización funcional del macrófago alveolar. *Arch Bronconeumol* 1990;26:305-316.
29. Flynn JL, Chan J. Immune evasion by *Mycobacterium tuberculosis*: living with the enemy. *Curr Opin Immunol.* 2003;15:450-5.
30. Dannenberg AM. Delayed-type hypersensitivity and cell-mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis. *Immunol Today* 1991;12:228-33.
31. Zahrt TC. Molecular mechanisms regulating persistent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Microbes Infect* 2003;5:159-67.
32. Hingley-Wilson SM, Sambandamurthy VK, Jacobs WR Jr. Survival perspectives from the world's most successful pathogen, *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Immunol.* 2003;4:949-55
33. Garcia de Viedma D, Marin M, Hernangomez S, Diaz M, Ruiz Serrano MJ, Alcalá L, Bouza E. Tuberculosis recurrences: reinfection plays a role in a population whose clinical/epidemiological characteristics do not favor reinfection. *Arch Intern Med.* 2002;162:1873-9.
34. Schluger NW. The diagnosis of tuberculosis: what's old, what's new. *Semin Respir Infect* 2003;18:241-8
35. Piersimoni C, Scarparo C. Relevance of commercial amplification methods for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2003;41:5355-65.
36. Garcia de Viedma D. Rapid detection of resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a review discussing molecular approaches. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9:349-59.
37. Kanduma E, McHugh TD, Gillespie SH. Molecular methods for *Mycobacterium tuberculosis* strain typing: a users guide. *J Appl Microbiol* 2003;94(5):781-91.
38. Raviglione MC, Snider DEJ, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995;273:220-6.
39. WHO report 2002: Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva: *World Health Organization*, 2002.
40. Chan ED, Iseman MD. *Current medical treatment for tuberculosis*. *BMJ* 2002; 325:1282-6.
41. Neralla S, Glassroth J. *Mycobacterium tuberculosis*: the treatment of active disease. *Semin Respir Infect* 2003;18:292-306.
42. Coll P. Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21:299-307.
43. http://www.who.int/tb/publications/dotsplus_surveillance/en/
44. Di Perri G, Bonora S. Which agents should we use for the treatment of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*? *J Antimicrob Chemother* 2004;54:593-602.