



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

**“Evaluación de la actividad antimicrobiana
de los compuestos derivados de Dapsona sobre
bacterias, levaduras y parásitos”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

LICENCIADA EN FARMACIA

P R E S E N T A:

EVELIN VICTORIA VARGAS CASTILLO

Director de Tesis: Dr. OSCAR TORRES ANGELES

CUERNAVACA, MORELOS DICIEMBRE 2021.





FACULTAD DE FARMACIA
SECRETARIA DE DOCENCIA
JEFATURA DE LA LICENCIATURA

Fecha: 26 de octubre de 2021
Asunto: VOTOS APROBATORIOS
Medio de Notificación: Electrónica
Folio: FF/D/SD/JLF/0144/2021

DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES
U.A.E.M
PRESENTE

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis **“Evaluación de la actividad antimicrobiana de los compuestos derivados de Dapsona sobre bacterias, levaduras y parásitos.”** presentada por la pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Evelin Victoria Vargas Castillo, (20121010677)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado

Firma

Dra. Blanca Estela Duque Montaña

Dr. Carlos Antonio Arjona Canul

Dr. Jesús Rivera Islas

Dra. María Crystal Columba Palomares

Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira

ATENTAMENTE
“POR UNA HUMANIDAD CULTA”

M.P.D. Reyna América Serrano López
Secretaria de Docencia

Cp Archivo
Cp. OTA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2021-10-26 23:39:32 | Firmante
IcKc5qPurEh3HrbGiTGBx0KXTFDxFPSUuq5iDT+SOWKvd5MW0AgZvmjCBXW4OEJ4SA5p0GkoyZLdD3KdLa9H+uU73bXySkv355/YQosPn72pSXkrGj69+HWdJQ16Hw9Wib6
GkTIdJ6vGMGAuW3vINSaMAXuECvcwFhdTpXoyiq1PzZ5rkkwQSZo+/S6QrSnEC0v5ysmnP1jKSEb2W6s1mH7cC2Jln8gdvI0CCD2q5n91asv6/UleIMrw91BFHBIaTSQCAXC
4KalkbmzZBwod8Bb/RD3G3bYIQBRAbzPxW2kCxb/Gqn8jU7PpZjTWsj7jSHm6kVsgF+aGD3YA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



d4H539yYb

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/lyxKZRgBWXIj4wBmMZxvhbcmhOxPJDRSC>

UA
EM

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JESUS RIVERA ISLAS | Fecha:2021-11-01 07:06:11 | Firmante
GbMuGM/zUu3M+Inp+nOhet9JkdXx47gkC4q9l3wSQOuB1G24nSGce/ZPg68mCVLSNAPAPC84VbVgzMwP3N8kU0mv7hezFrzFebNPG+xa9X+zlo5OukbZPcmnzugGpggT9R1D2QKtVSLah8rdC+xpPqs3VnxQehCCfchJxmKdlUOulcS8Um25MB8YV+adKENJCSMm9zwmV9cDqpFN4XkuMnOFUOrqWxIbnPxKOIMmHHzBp6XgLbXpKHolGNE3kL3WwgmSjYbqB+sMllmD9Aj2QCPFB1lybxaVKgRuk97iyv+Ayg+sFzZ3Lb7U2gmBT1BBJD3hncOn45bKwsF0KKw==

BLANCA ESTELA DUQUE MONTAÑO | Fecha:2021-11-01 18:06:07 | Firmante
d3XPrOgSff4xa7zwmVdFZf+ao2jyE2M1bhoXHgtaw7E3rusYsFqJz625FBS8fMbuLS7Q4Mv1Vyo9eSvkay47nFLO+52OKOq8ulPK8DyG0dYkM9PbeIOGGw9ZzEsEazEvusqQAJwRHQvjbzD5SP0md1YHSSL03vG13TP91ruOlsNDR2x1osVswzXFH0AWdQdG0EshRHnEk7kLHLmajC+aLPUHlDp2tVPGupA+bbQqjT3/f2S6CokqkRsHo64tdqVAvHt2EYRQVc952AIVkMEcY9cOeyP68QqMry1/F7BoL7msCq2hYL9apr93p6dMWXIOQFRUJUY9PWC6Q==

MARIA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES | Fecha:2021-11-03 11:21:05 | Firmante
nRR0v4Ok7CJnzAvvUoMjygrxO7dVmkEs0U34+DLaHE4RC2nLZr3ucSNpyX4X8EDgJqT/UbaXRUJm8nh5sGG0y2h1dmtHHSdvs2+dFyP9PY104skWXdX:FU10igGMDnNisxLr6GIL3HvdxbjCrg4k8ALb2X6V3hlsDddW0ueT/c6Wp+4lmCpSjg+1KWQP3Axwz1QpUFxuuq44ZdlSq5QmzuUCw86ERetgDn1fEe7s2o6oNnUJtZw74062Nc9FQhQ0bD+ByG3D9gAVLDCrMpsL85GtpN3ldxWNbSMG5sHBsYCaec8P2LcJe9EQvn0NMLnbK9BPdFX1AjEg7GQ==

SUSANA ELISA MENDOZA ELVIRA | Fecha:2021-11-03 16:58:27 | Firmante
aSejKED1R1+Hmbh181n8u1ybiWhOzGnXpFmmh6theDIYX7Y4Uhtz1epDohvpszwMOPAFQ8kYplwvWUJaqlN6pdaJx5eg8SDaxNY6z4aaGzB8fInXqEeDr5Dqt1q7R8zBeqNC2rNEzKXys+r7V+cGjdALD2j+dDYtoJL04cUYeL5+8EIZkmc9A6m1611TW8BsMbaFhFuwYfYHHkTzVQMkcfOJjk6j5OFpDjADD2rdFTSxQMZIN+57b6mNJaEPC2B3DjSeysuApkqD5Quf9cncabkiVfok43Q0H45VpurR2YXds4OFgnG0CvRjA2qKmCGa3QN1tsSnsdTw==

CARLOS ANTONIO ARJONA CANUL | Fecha:2021-11-04 14:08:47 | Firmante
Ctw3IAUyk1sRkr2JtxdJL0hTShu5mJvQifEL2jPwpPDWxslm52l32zSlmw4fwH27vPp14fRQVlq35c9y3qFGVetZbQA5vd0jPzhk1zzzjvWygkmBpDKR6FpfV1HtHymzknidwQUIEesg+0NGSeftre31U3Kpl4bEZKR3N3laDlaEV5Sj41v1hJ2cmFr2aZjDvAGAKOTGbmXeFZX0EldEiwa1C7WkzXWf9wvd/sMHdhsG1kUdCg/ec81WxhS7JU7kUNE4xgJl6KqGqE.xZMxT0xfQw710Sp98asjbnlmgivMocq7zTEyf0BVsvFuasj1wctuzgrokrfg==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

helaORsgA

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hilLUCeqVeH6RixbDUQUAYxMogYrw6n>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

El presente trabajo fue realizado bajo la dirección de:

Dr. Oscar Torres Angeles, en el Laboratorio Número 9 de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

“La ciencia no nos ha enseñado aún si la locura, es o no, lo más sublime de la inteligencia.”

Edgar Allan Poe

Agradecimientos

Le doy gracias a Dios por la oportunidad de concluir una etapa más en mi vida, por dejarme conocer a las personas que me han ayudado a caminar y lograr este éxito en mi vida.

Al Dr. Oscar Torres Angeles, por la dirección de este trabajo, por sus consejos, conocimientos, paciencia, por la confianza que me brindó desde que llegué al laboratorio y sugerencias durante el desarrollo del presente trabajo.

Dra. Blanca Estela Duque Montaña por el tiempo, asesoría y por su gran apoyo en el aprendizaje de mis habilidades en este proyecto.

Dra. María Crystal Columba Palomares por el tiempo otorgado para las observaciones, aportaciones y sugerencias del presente trabajo.

Dr. Jesús Rivera Islas por la proporción de los compuestos derivados de Dapsona evaluados en el presente trabajo.

Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira por su tiempo, dedicación y asesoría otorgada durante el desarrollo del presente trabajo.

Dr. Carlos Antonio Arjona Canul por las observaciones, aportaciones y el tiempo dedicado en la revisión del presente trabajo.

Dra. Virginia Flores Morales por la proporción de los compuestos derivados de Dapsona evaluados en el presente trabajo.

Agradeciendo especialmente a mi comité tutorial: Dar un poco de su tiempo para completar mi formación académica, por la crítica, revisión, aportaciones y corrección del presente trabajo.

Y a todas las personas que contribuyeron en la realización de este proyecto, mi más profundo agradecimiento.

Dedicatorias

A mis padres, por ser un pilar para mi formación como ser humano sin ustedes no sería la persona que soy ahora. Sin ustedes nada hubiera sido posible, los amo con todo mi corazón.

A mi madre Maricela por ser el gran pilar en esta familia, por verme sus consejos, por siempre mostrarme su apoyo incondicional, por ser una guía en mi camino y sobre todo por darme el amor más grande que un ser humano puede mostrar.

A mi padre Jorge por darme la fuerza, darme la motivación de cursar una licenciatura, generar en mí las ganas de crecer de la mejor manera y su apoyo en este largo camino hacia mi formación profesional y en la carrera de la vida.

A mi hermano, por compartir conmigo momentos inolvidables.

A Adriel, por todos los grandes momentos que hemos compartido como compañeros de vida, por tu cariño y por el apoyo incondicional como pareja para lograr culminar esta etapa de mi vida.

A Víctor, por su sonrisa, besos y cariño incondicional que me proporciona día a día y le ha dado un significado diferente a mi vida.

A la Dra. Blanca que me ha ayudado desde el momento en que entre al laboratorio, por los momentos que hemos compartido y sobre todo por su valiosa amistad.

Y en especial al Dr. Oscar Torres Angeles por su apoyo incondicional durante mi estancia en la facultad, por su amistad y consejos y por impulsarme a desarrollar habilidades en mi formación fuera de la facultad, por generar en mí las ganas de crecer de la mejor manera y sobre todo por ser el impulso más grande en mi formación académica

Índice

Índice de Tablas.....	VII
Índice de Figuras.....	VIII
Lista de abreviaturas y simbología.....	XI
Resumen.....	XIII
1.0 Introducción.....	1
1.1 Bacterias.....	5
1.1.1 <i>Escherichia coli</i>	6
1.1.2 <i>Bacillus subtilis</i>	8
1.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
1.1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1.1.5 Diagnóstico.....	11
1.1.6 Antibióticos.....	18
1.1.7 Bacterias Acido Alcohol Resistente.....	19
1.1.7.1 Tuberculosis.....	20
1.1.7.2 Epidemiología.....	21
1.1.7.3 Nivel mundial.....	21
1.1.7.4 Nivel nacional y estatal.....	22
1.1.7.5 Género <i>Mycobacterium</i>	25
1.1.7.6 Agente etiológico de la TB.....	26
1.1.7.7 Signos y síntomas.....	27
1.1.7.8 Diagnóstico.....	28
1.1.7.9 Tratamiento.....	33
1.1.7.10 Resistencia a los antibióticos.....	36
1.2 Levaduras.....	37
1.2.1 Micosis.....	38
1.2.2 Candidiasis.....	38
1.2.3 Antimicóticos.....	40
1.3 Protozoarios.....	42
1.3.1 <i>Entamoeba histolytica</i>	42
1.3.2 Taxonomía de <i>Entamoeba histolytica</i>	43

1.3.3 Ciclo de Vida de <i>Entamoeba histolytica</i>	43
1.3.4 Amibiasis.....	44
1.3.5 Patología.....	45
1.3.6 Amebiasis intestinal.....	45
1.3.7 Amibiasis hepática.....	45
1.3.8 Diagnóstico.....	46
1.3.9 Epidemiología de la amibiasis.....	47
1.3.10 Epidemiología de la Amebiasis en Mexico.....	47
1.3.11 Tratamiento.....	50
1.4 Resistencia Antimicrobiana.....	52
2. Antecedentes.....	52
2.1 Sulfonas.....	53
2.2. Dapsona.....	53
2.2.1 Características fisicoquímicas.....	54
3.0 Farmacología de la Dapsona.....	55
3.1 Farmacodinamia.....	55
3.2 Mecanismo de acción.....	55
3.3 Farmacocinética de la Dapsona.....	56
3.4 Reacciones adversas.....	57
4 Justificación.....	58
5 Hipótesis.....	60
6 Objetivo General.....	60
6.1 Objetivos Particulares.....	60
7 Metodología.....	61
7.1 Materiales y Métodos.....	61
7.2 Compuestos a evaluar.....	61
7.3 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antibacteriano.....	63
7.3.1 Microorganismos.....	63
7.3.2 Descongelación de las cepas.....	63
7.3.3 Preparación de soluciones stock de los compuestos a evaluar	63

7.3.4 Preparación del inóculo de las bacterias.....	64
7.3.5 Ensayo del efecto antibacteriano.....	64
7.3.6 Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad anti <i>Mycobacterium</i>	65
7.3.6.1 Soluciones stock.....	65
7.3.6.2 Condiciones de cultivo de <i>Mycobacterium fortuitum</i>	65
7.3.6.3 Ensayos de actividad anti <i>Mycobacterium</i>	65
7.4.0 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antifúngico.....	67
7.4.1 Descongelación de las cepas.....	67
7.4.2 Preparación de Soluciones stock de los compuestos a evaluar	67
7.4.3 Preparación de medio de cultivo RPMI 1640.....	67
7.4.4 Preparación del inóculo de las levaduras.....	67
7.4.5 Ensayo del efecto antifúngico.....	68
7.5 Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad antiparasitaria.....	69
7.5.1 Preparación de las Soluciones Stock de los compuestos a evaluar.....	69
7.5.2 Ensayo del efecto antiparasitario.....	69
8 Resultados.....	72
8.1 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antibacteriano.....	72
8.1.1 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antimicobacteriana.....	73
8.2 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antifúngico.....	76
8.3 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antiparasitario.....	77
9 Discusión.....	82
10. Conclusiones.....	88
11. Perspectivas.....	88
12. Bibliografía.....	89

Índice de Tablas

Tabla 1	Principales causas de mortalidad sujetas a vigilancia epidemiológica 2017.	1
Tabla 2	Microorganismos causantes de infecciones gastrointestinales.	3
Tabla 3	Casos nuevos de enfermedad de vigilancia convencional hasta la semana 38 del 2021 reportados por el SINAVE.	4
Tabla 4	Tipos de diarreas provocadas por cepas de <i>Escherichia coli</i> .	7
Tabla 5	Tratamiento antibacteriano empírico basado en la etiología microbiana.	19
Tabla 6	Casos por identidad federativa de Tuberculosis Respiratoria hasta la semana 38 del 2021.	23
Tabla 7	Clasificación de los fármacos antituberculosos de primera línea.	34
Tabla 8	Clasificación de los fármacos antimicóticos por familias químicas.	41
Tabla 9	Casos relevantes por Entidad Federativa de enfermedades infecciosas y parasitarias del aparato digestivo hasta la semana 38 del 2021 (Acum.)	49
Tabla 10	Fármacos empleados para el tratamiento de la amibiasis de acuerdo al cuadro clínico.	51
Tabla 11	Características Físicoquímicas de Dapsona.	54
Tabla 12	Compuestos sintetizados de Dapsona. Se muestra el nombre de los compuestos sintetizados, el peso molecular expresado en gramos por mol (PM g/mol) y su estructura.	62
Tabla 13	Evaluación antibacteriana de compuestos derivados de Dapsona.	73
Tabla 14	Evaluación antimicobacteriana de compuestos derivados de Dapsona.	75
Tabla 15	Evaluación antifúngica de compuestos derivados de Dapsona.	77
Tabla 16	Evaluación antiparasitaria de compuestos derivados de Dapsona.	78

Índice de Figuras

Figura 1	Micrográfica de <i>E. coli</i> pertenece a la cepa 0:169 H41 de ETEC. Tomado de CDC Janice Haney Carr, 2008.	6
Figura 2	<i>B. subtilis</i> Gram positivos. Coloración de Gram 100X. Tomado de Corrales Ramírez, 2014.	8
Figura 3	<i>S. aureus</i> Tomado de CDC Public Health Library (PHIL).	9
Figura 4	<i>P. aeruginosa</i> Tomado de CDC Public Health Library (PHIL).	11
Figura 5	API® 20E Permite identificación de microorganismos pertenecientes al grupo de las enterobacterias y de oros bacilos Gram negativos. Tomado de Apiweb® [CD-ROM] BioMérieux. 2010.	17
Figura 6	Clasificación de los agentes antimicrobianos según su sitio de acción en las células procariontas (Tomado de Madigan, 2004)	18
Figura 7	Tuberculosis. Estimación de tasas de incidencia nivel mundial en 2020	22
Figura 8	Estados con mayor número de casos de Tuberculosis (TB) (Adaptado de Boletín Epidemiológico, 2021)	24
Figura 9	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Tomado de Todar K, 2016)	26
Figura 10	Composición de la pared celular de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Tomado de Gorocica y Cols., 2005)	27
Figura 11	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Técnica de Ziehl-Neelsen (Tomado de Martínez- Guarneros, 2014)	29
Figura 12	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> en microscopia de fluorescencia (Tomado de Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte I OPS, 2008)	29
Figura 13	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> en microscopia de fluorescencia LED (Tomado de ZEISS, 2016)	30
Figura 14	Rayos X de tórax en tuberculosis activa: consolidaciones irregulares en los lóbulos superiores (flecha verde) y adenopatías en el hilio izquierdo (flecha blanca) (Tomado de Herráez I, 2002)	31
Figura 15	Prueba de tuberculina (Tomado de Sánchez, 2006)	32
Figura 16	Prueba inmunocromatográfica TB Ag MPT64 (Tomado de Martínez- Guarneros, 2014)	32
Figura 17	PCR de <i>Mycobacterium</i> . Los carriles 1, 2, 5, 7, 8, 9 ,10 presentan resultados positivos de 123 pares de bases. Carril 3 con resultado negativo. Carril 4 control positivo a partir de cultivo. Carril 6 marcador de tamaño molecular de 100 pb. Carril 11 control negativo (Tomado de Barrón <i>et al.</i> , 2006)	33
Figura 18	Sitios de acción de INH, RIF, PZA y EMB (Tomado de Lemus, 2007)	34
Figura 19	<i>C. albicans</i> (Tomado de CDC Public Health Image Library PHIL.)	39
Figura 20	Mecanismos de acción de los fármacos antimicóticos. (Tomado de Bertram G.)	40
Figura 21	A) Trofozoíto de <i>E. histolytica</i> y B) Quiste de <i>E. histolytica</i> Tomado de: CDC Public Health Image Library (PHIL)	43

Figura 22	Ciclo de vida de <i>E. histolytica</i> Tomado de: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/amibiasis.html . Fecha de consulta (04/11/2019)	44
Figura 23	Estados con mayor número de casos de Amebiasis Intestinal y Absceso Hepático Amebiano (Adaptado de Boletín Epidemiológico, 2021)	48
Figura 24	Estructura química de la Diaminodifenil sulfona (DDS)	53
Figura 25	Estructura química de Dapsona (Drugbank, 2016)	54
Figura 26	Mecanismo de acción de Dapsona (Adaptado de Wozel G. y Blasum C. 2013).	55
Figura 27	Estrategia experimental.	61
Figura 28	Evaluación del efecto antimicrobiano de: A-B) Mesilato de Dapsona; C-D) Besilato de Dapsona; E-F) Tosilato de Dapsona y G-H) fármaco control: Trimetopim- Sulfametoxazol contra <i>Staphylococcus aureus</i> . Columna 11: blanco de cultivo (B); Columna 12; control de crecimiento (C.C).	72
Figura 29	Evaluación de Mesilato de dapsona, Besilato de dapsona, Dapsona picrico y Dapsona (fármaco control).	73
Figura 30	Evaluación de Dap-04, Dap-10, Tosilato de dapsona y Dapsona (fármaco control).	74
Figura 31	Evaluación de Dap-04, Dap-10 y fármaco control (Dapsona).	74
Figura 32	Evaluación de MD-II y fármaco control (Dapsona).	75
Figura 33	Evaluación del efecto antifúngico de: A-B) Mesilato de Dapsona; C-D) Besilato de Dapsona; E-F) Tosilato de Dapsona y G-H) fármaco control: Fluconazol contra <i>Cándida tropicalis</i> . Columna 11: blanco de cultivo (B); Columna 12; control de crecimiento (C.C).	76
Figura 34	Evaluación del efecto antiparasitario de: A-B) Mesilato de Dapsona; C-D) Besilato de Dapsona; E-F) Tosilato de Dapsona y G-H) fármaco control: Metronidazol contra <i>E. histolytica</i> . Columna 11: blanco de cultivo (B); Columna 12; control de crecimiento (C.C)	77
Figura 35	Efecto del compuesto derivado de Dapsona Mesilato de Dapsona a la concentración 64µg/mL sobre trofozoítos de <i>E. histolytica</i> cepa HM1: IMSS a las 48 horas de exposición. (Observados con microscopio invertido a 40x).	78
Figura 36	Efecto del compuesto Besilato de Dapsona a la concentración de 64µg/ml sobre trofozoítos de <i>E. histolytica</i> . Observados con microscopio invertido a 40x.	79
Figura 37	Efecto del compuesto Tosilato de Dapsona a la concentración de 64µg/mL sobre trofozoítos de <i>E. histolytica</i> . (Observados con microscopio invertido a 40x).	79
Figura 38	Efecto del fármaco control Metronidazol A) a la concentración de 64µg/mL en trofozoítos de <i>E. histolytica</i> observados con microscopio invertido a 40x y B) a la concentración de 32 µg/mL en trofozoítos de <i>E. histolytica</i> observados con microscopio invertido a 40x.	80
Figura 39	Control de crecimiento y Blanco control observado con microscopio invertido a 40x.	81

Lista de abreviaturas y simbología

B	Blanco de medio de cultivo
CC	control de crecimiento
CMI	Concentración mínima inhibitoria
Cl ₅₀	Concentración que inhibe el crecimiento del 50%
Cl ₉₀	Concentración que inhibe el crecimiento del 90%
Cols.	Colaboradores
DIM	Dosis Infecciona Mínima
DDS	Diaminodifenil sultona
DMSO	Dimetilsulfoxido
DO	Densidad óptica
DS	Dextrosa Sabouraud
EAEC E.	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>E. coli</i> entero hemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> entero invasiva
EPEC	<i>E. coli</i> entero patógena
ETEP	<i>E. coli</i> enterotoxigénica
EDAS	Enfermedades Diarreicas Agudas
FDA	Food and Drug Administration
H	Horas
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IRAS	Infecciones Respiratorias Agudas
LCR	Líquido Céfalorraquídeo
MAC	Complejo <i>Mycobacterium avium</i>
MEM	Medio mínimo esencial
MNT	Micobacterias no tuberculosas
MTZ	Metronidazol
OMS	Organización Mundial de la Salud
PPD	Derivado Proteico Purificado
SINAVESI	Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica
SSA	Secretaría de Salud

STX	Trimetoprim con sulfametoxazol
UFC	Unidad Formadora de Colonia
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
TB	Tuberculosis
TB- MDR	Tuberculosis multirresistente a los medicamentos
TB-DR	Tuberculosis resistente a los medicamentos
TSA	Agar Tripticasa Soya
WST-1	[2-(4-yodofenil)-3(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolio]
°C	Grados centígrados
%	Porcentaje
µg	Microgramos
µm	Micrómetros
mg	Miligramos
mL	Mililitros

Resumen

La dapsona es una sulfona con propiedades antibacterianas, que en algunas ocasiones se utiliza para tratar la tuberculosis, especialmente la resistente a fármacos. Por tal motivo en este trabajo, con base en los antecedentes de esta sulfona, se realizó un estudio en donde se evaluaron cinco compuestos derivados de dapsona como posibles agentes antimicrobianos sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, levaduras y protozoarios, mediante la técnica de microdilución en placa, utilizando como modelo cultivos de bacterias Gram positivos (*S. aureus* y *B. subtilis*) y negativos (*E. coli* y *P. aeruginosa*), levaduras (*C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*) y protozoario (*Entamoeba histolytica*).

Este estudio demostró que los cinco compuestos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4 no poseen actividad antibacteriana ni antifúngica, pero si poseen actividad antimicobacteriana y antiparasitaria. De los cinco compuestos evaluados el tosilato de dapsona y MD-II fueron los más activos con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 32 µg/mL sobre *Mycobacterium fortuitum*. Y solo un compuesto derivado de Dapsona Tosilato de Dapsona mostro efecto antiparasitario a la mayor concentración empleada en el presente trabajo, teniendo una CIM de 64µg/mL mayor a la del fármaco control Metronidazol con una CIM de 32 µg/mL.

1 Introducción

Las enfermedades gastrointestinales ocasionadas por bacterias y parásitos son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México. Este tipo de enfermedades son consideradas un problema de salud pública a nivel mundial, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos (Hernández y Cols., 2011).

En México las principales causas de mortalidad sujetas a vigilancia epidemiológica para el año 2017, Tuberculosis representaron el 66%, así mismo, las IRAS y EDAS en población menor de 5 años, representaron el 22.7%, ocupando uno de los primeros lugares como causas de morbilidad y mortalidad en niños menores de cinco años, se resumen en la Tabla 1. (Secretaria de Salud, 2019.)

Tabla. 1 Principales causas de mortalidad sujetas a vigilancia epidemiológica 2017.			
Orden	Causa	Defunciones	*Tasa
1	Enf. Por VIH	4,742	3.8
2	Tuberculosis	1,836	1.5
3	IRAS en < 5 años	1,541	1.2
4	EDAS en < 5 años	718	0.6
5	Intoxicación por Monóxido de Carbono	250	0.2
6	Enf. Hipertensivas en el Embarazo , Parto o Puerperio	166	0.1
7	Enf. Transmitidas por Vector	151	0.1
8	Intoxicación por Plaguicidas	145	0.1
9	Rickettsiosis	121	0.1
10	Muertes por temperaturas Extremas	117	0.1

*Tasa por 100,000 habitantes

Fuente: Dirección General de Epidemiología / Sistema Epidemiológico Y Estadístico de las Defunciones 2017.

Las enfermedades agudas del tracto gastrointestinal pueden ser causadas por bacterias tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Shigella sp.*, por parásitos protozoarios tales como: *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*, y por virus tales como: *Rotavirus* y virus *Norwalk* (Hernández y Cols., 2011).

Generalmente las bacterias y parásitos antes mencionados están estrechamente relacionados con las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAS) (<https://www.gob.mx/salud/articulos/enfermedades-diarreicas-agudas-edas>).

Los microorganismos comúnmente relacionados con las enfermedades gastrointestinales se resumen en la Tabla 2.

En general este tipo de microorganismos se transmiten por vía fecal-oral o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados. Tanto su incidencia como su prevalencia dependen del nivel socioeconómico de la población (Hernández y Cols., 2011).

Tabla 2. Microorganismos causantes de infecciones gastrointestinales

Bacterias	Virus
<i>Salmonella entérica</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter laridis</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexnei</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> <i>Yersinia intermedia</i> <i>Yersinia frederiksenii</i> <i>Yersinia kristensenii</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio alginolyticus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Rotavirus</i> <i>Adenovirus</i> <i>Agente Norwalk</i> <i>Astrovirus</i> <i>Calicivirus</i> <i>Coronavirus</i> <i>Pequeños virus redondos</i>
	Protozoos
	<i>Giardia lamblia</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Entamoeba coli</i> <i>Dientamoeba butschlii</i> <i>Endolimax nana</i> <i>Balantidium coli</i> <i>Isospora belli</i> <i>Blastocystis hominis</i> <i>Chilomastis meslinii</i> <i>Trichomonas hominis</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i>
Hongos	Helmintos
<i>Candida albicans</i> <i>Blastomyces</i> <i>Histoplasma</i> <i>Aspergillus</i> <i>Mucor</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Ascaris lubricoides</i> <i>Ancylostoma duodenale</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Schistosoma japonicum</i> <i>Hymenolepis nana</i> <i>Hymenolepis diminuta</i> <i>Trichinella spiralis</i> <i>Enterobius vermiculares</i>
Adaptado de García y Cols. 1997	

En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos en el nivel nacional, y que los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, y el Distrito Federal. Tan solo en 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por

enfermedades gastrointestinales, y los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero, y Oaxaca.

De acuerdo con estadísticas en el 2011 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país. (Hernández y Cols., 2011).

En relación con las enfermedades agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes, superado solo por las enfermedades del tracto respiratorio inferior. (López y Cols.2012).

El SINAVE en 2021, reportó 2, 422,649 casos de enfermedades infecciosas intestinales hasta la semana 38, siendo un dato relevante sobre la importancia de las enfermedades infecciosas de etiología bacteriana y/o parasitaria en nuestro país. Los casos nuevos de enfermedades de vigilancia convencional se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Casos nuevos de enfermedad de vigilancia convencional hasta la semana 38 del 2021 reportados por el SINAVE						
Enfermedad	CIE-10 ^a REV	En la semana 2021	Acumulado 2021	Mediana Semanal 2016-2020	En la semana 2020	Acumulado 2020
Enfermedades infecciosas intestinales	A01-A03, A04, A05, A06.0-A06.3, A069, A07.0-A07.2, A07.9, A08-A09	51 791	2 370 858	103 968	44 175	2187 085
Infecciones respiratorias agudas	J00- J06, J20, J21 Excepto J02.0, J303.0	192 823	6 909 527	453 220	145 572	11 314 061
Varicela	B01	287	10 708	1 670	163	35 309
Intoxicación alimentaria bacteriana	A05	483	16 701	573	398	13 692

Sífilis adquirida	A51-A53	219	7 239	87	88	3 936
Brucelosis	A23	10	594	28	12	701
Hepatitis virales	B15-B19	182	4 896	262	99	5 475
Conjuntivitis epidémica Aguda Hemorrágica	B30.3	10	89	4	---	64
Infección Asociada a la Atención de la salud	S/C	860	21 802	358	322	13 084
Infección de vías urinarias	N30, N34, N39.0	59 820	2 103 917	86 467	44 576	2 108 967
Diabetes mellitus	E10, E11-E14	8 197	296 427	7 628	5 031	231 022
Hipertensión Arterial	I10- I15	9 934	355 437	9 114	6 615	310 039
Hiperplasia de Próstata	N40	2 072	58 087	1 985	848	46 324
Desnutrición	E40- E43 E44.0 , E44.1	1 015	37 623	1 864	640	30 915
Tumor maligno de la Mama	C50	300	11 981	223	231	8 723
Depresión	F32	2 239	74 815	2 202	1534	62 024
Violencia Intrafamiliar	Y07.0 – Y07.2	1 107	42 266	1 783	816	32 643
Simbología	(-): No se presentaron casos en la semana. n.a.: no aplica n.d.: información no disponible. s.n.: sin notificación por la entidad federativa					
Fuente: SINAVE/DGE/Salud 2021. Información preliminar, incluye casos probables.						

A continuación, se describen los agentes etiológicos de relevancia clínica para las enfermedades gastrointestinales en el ser humano.

1.1 Bacterias

Son microorganismos procariotas sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual. (Patrick y Cols., 2010 pág. 2).

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente (Patrick y Cols., 2010).

1.1.1 *Escherichia coli*

El género *Escherichia* se compone de cinco especies, de las cuales, *Escherichia coli*, es la más frecuente y la más relevante desde el punto de vista clínico. Este microorganismo se asocia a una gran variedad de enfermedades, como septicemia, meningitis y gastroenteritis por mencionar algunos (Patrick y Cols., 2010). De todos los serotipos existentes de *E. coli* EPEC es la que se relaciona con gastroenteritis y llamada ésta "diarrea del verano". (Morales Cruz V. y cols., 2010)

Es un bacilo Gram negativo, móvil, anaerobio facultativo, oxidasa negativa, reductor de nitritos, no esporulados y fermenta la glucosa con producción de ácido y gas. (Fig. 1) (Fernández y Cols., 2003).

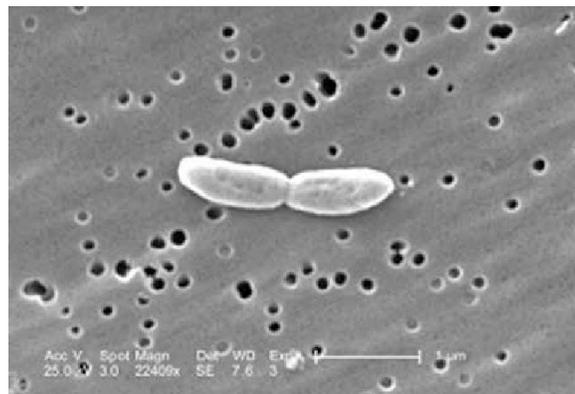


Fig. 1 Micrografía de *E. coli* pertenece a la cepa 0:169 H41 de ETEC. Tomado de CDC Janice Haney Carr, 2008.

Se halla en prácticamente todos los seres humanos desde su nacimiento hasta su muerte. Aunque este microorganismo representa una proporción inferior al 1% de la población microbiana intestinal, se considera la bacteria aerobia responsable con mayor frecuencia de las enfermedades intraabdominales (Patrick y Cols., 2010).

Algunas cepas de *Escherichia coli*, denominadas enteropatógenas, son capaces de producir cuadros diarreicos por colonización del intestino delgado. La capacidad de producción de toxinas por cepas de *Escherichia coli*, las enterotoxigénicas, dan lugar a una diarrea de tipo colérico por activación de la adenilciclase y secreción de

fluidos con pérdida de agua y electrolitos. La típica diarrea del turista o viajero está causada principalmente por estas cepas. En los últimos años se han descrito otras cepas de *Escherichia coli*, las llamadas enterohemorrágicas, que son productoras de colitis hemorrágica, o diarrea sanguinolenta con ausencia de fiebre. Estas cepas pertenecen al serotipo O 157:H7 (Paredes y Roca, 2004; Reyes, 2018).

Los tipos de diarrea que ocasionan las diferentes cepas de *Escherichia coli* en el ser humano se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Tipos de diarreas provocadas por cepas de <i>Escherichia coli</i>	
Epidemiología	Cuadro Clínico
<p>EPEC Se presenta como una enfermedad de niños menores de 2 años. En México, Brasil y África del sur entre el 30 y 40% de las diarreas son producidas por EPEC.</p>	<p>Afecta la mucosa intestinal. Produce diarrea secretora y se puede asociar con fiebre, si no se controla conduce a deshidratación y finalmente la muerte.</p>
<p>EIEC Presenta una distribución mundial. Se ha reportado como causa frecuente de diarrea en Brasil, USA, y Europa.</p>	<p>Afectan la mucosa del colon. Evacuaciones de poca cantidad acompañadas de moco y sangre, dolor abdominal tipo cólico y fiebre.</p>
<p>EHEC Se da en países de clima templado como USA, Canadá, Inglaterra, Argentina y Japón. Los serotipos involucrados más comúnmente son: O26, O111, O121, O145 y O157.</p>	<p>Diarrea de inicio brusco con dolor abdominal. Las evacuaciones líquidas se acompañan de una descarga hemorrágica. Síndrome urémico hemolítico.</p>
<p>EAEC Se ha caracterizado por cuadros de diarrea persistente (dura más de 14 días) en niños, de diversas regiones geográficas, principalmente de países en desarrollo.</p>	<p>Diarrea secretora acuosa con moco y sangre, con fiebre en bajo grado.</p>
<p>ETEC Las cepas ETEC son una causa frecuente de diarrea en lactantes de países en desarrollo, así como la causa más común de diarrea en individuos de países industrializados que viajan a zonas menos desarrolladas del mundo.</p>	<p>Presenta de 8 a 12 evacuaciones al día por un periodo de 4 a 5 días. Las cepas de ETEC son una causa importante de diarrea en niños menores de 5 años y la causa más frecuencia de diarrea del viajero.</p>
<p>Tomado de: http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=2919 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4469391/</p>	

1.1.2 *Bacillus subtilis*.

El género *Bacillus* incluye especies tales como *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* o *Bacillus subtilis* y *Bacillus spp.* Se presentan en los ecosistemas terrestres y marinos, estas especies son capaces de sobrevivir a la pasteurización y producir endosporas en alimentos crudos y procesados térmicamente (Cuervo, 2010; Fernández y Cols., 2012).

Generalmente, *Bacillus subtilis* no se considera un patógeno humano, pero en ocasiones puede contaminar los alimentos y causar intoxicación alimentaria. (Fernández y Cols., 2012).

Bacillus subtilis es una bacteria Gram positiva, produce endosporas las que son termorresistentes y también resiste factores físicos perjudiciales como la desecación la radiación los ácidos y los desinfectantes químicos, produce enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuente de carbono y electrones, producen antibióticos como la Bacitricina, Polimixina, Gramicidina y Circulina; fermenta la caseína y el almidón, vive dentro de los límites de 55 a 70°C (Cuervo, 2010).

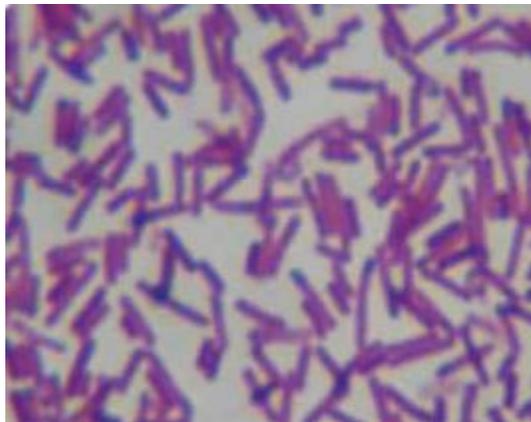


Fig. 2 *B. subtilis* Gram positivos. Coloración de Gram 100X. Tomado de Corrales Ramírez, 2014

1.1.3 *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus es un colonizador común de la piel humana, una vez que supera la barrera cutánea, puede causar una variedad de infecciones piógenas y sistémicas, infecciones agudas, crónicas y síndromes mediados por toxinas. Se ha reconocido como patógeno intracelular. Esta propiedad contribuye potencialmente a la protección de la resistencia bacteriana de los antibióticos (Fetsh, 2018).

Es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones hospitalarias y comunitarias, además es uno de los patógenos nosocomiales de mayor importancia, causante de una gran variedad de enfermedades en humanos y animales, como infecciones simples sin complicaciones tales como foliculitis, forunculitis, hasta infecciones severas como endocarditis, septicemias, meningitis, neumonías o bacteriemias (Cervantes y Cols., 2014).

Staphylococcus aureus pertenece a la familia *Staphylococcaceae*, tiene forma de coco y puede presentarse en racimos. Su tamaño oscila entre 0,8 a 1,5 micras de diámetro, es inmóvil y algunas cepas producen una cápsula externa mucoide que aumenta su capacidad para producir infección. En relación con su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa positiva, catalasa positiva y oxidasa negativa (Cervantes y Cols., 2014).

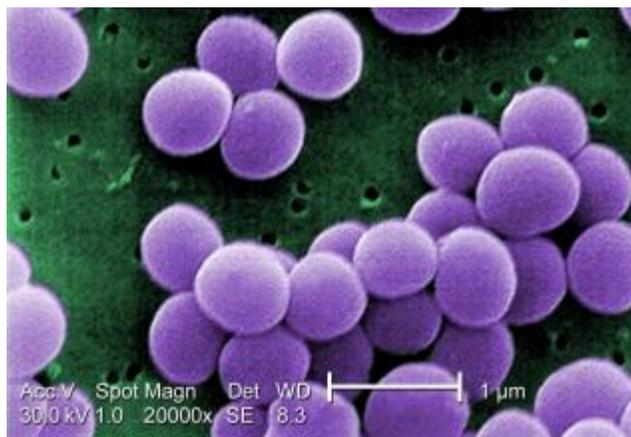


Fig. 3 *S. aureus* Tomado de CDC Public Health Library (PHIL).

Staphylococcus aureus puede acceder a los tejidos subyacentes y desarrollar una lesión local característica como es el absceso (Cervantes y Cols., 2014). La frecuencia con la que se aíslan *Staphylococcus aureus*, justifica la importancia del desarrollo de nuevas moléculas para el tratamiento de este tipo de infecciones (Gutiérrez, 2003).

1.1.4 *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa pertenece a la familia *Pseudomonaceae*. Se trata de un bacilo recto o ligeramente curvado Gram negativo, con un tamaño de 2–4 x 0,5-1 micras, y móvil gracias a la presencia de un flagelo polar. En relación con su metabolismo, es aerobio (aunque puede desarrollarse en condiciones anaerobias utilizando nitrato), catalasa y oxidasa positivas. Se caracteriza por producir una variedad de pigmentos, como la piocianina (de color azul verdoso), la pioverdina (pigmento fluorescente de color verde amarillento) y la piorrubina (de color rojo) (DATABIO, 2017).

Es un bacilo muy versátil, puede crecer a temperaturas superiores a 42 °C. *Pseudomonas aeruginosa* es un habitante común de agua, suelos y plantas. En los hospitales puede ser encontrada en respiradores, humidificadores, vertederos, duchas, piscinas de hidroterapia y ocasionalmente en las manos de los trabajadores de la salud. Es un patógeno oportunista, responsable de una amplia gama de infecciones, principalmente nosocomiales. Particularmente los pacientes con inmunosupresión, así como aquellos que han sufrido quemaduras severas, neutropenia inducida por quimioterapia o presentan enfermedades pulmonares subyacentes están propensos a desarrollar la infección, es intrínsecamente resistente a diversas clases de antibióticos que no guardan relación estructural entre sí, debido a la disminución de la permeabilidad de su membrana externa, a la expresión constitutiva de varias bombas de expulsión y a la producción de enzimas que inactivan a los antibióticos. Además, posee la capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia vía mutaciones (Luján, 2014; Romero, 2015).

Produce una amplia variedad de factores de virulencia, por lo tanto, la patogénesis de esta bacteria puede ser descrita como multifactorial. Algunos de estos factores son el flagelo, fimbrias (pili), matriz exopolisacárida, toxinas, exoenzimas y biopelículas (Luján ,2014).

Las infecciones ocasionadas por *Pseudomonas aeruginosa* son la primera causa de morbilidad y mortalidad en personas con fibrosis quística, que es una enfermedad genética, frecuente en poblaciones caucásicas. También tiene un papel relevante en la muerte de pacientes quemados y que se infectan con esta bacteria (Romero, 2015).

A continuación, se mencionan los fármacos comúnmente empleados para el tratamiento de las infecciones ocasionadas por los agentes etiológicos previamente descritos.

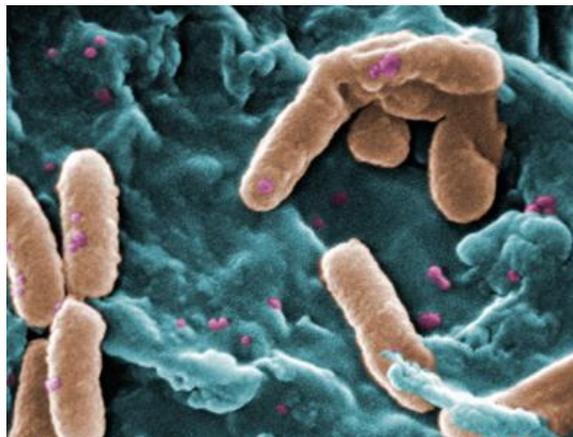


Fig. 4 *P. aeruginosa* Tomado de CDC Public Health Library (PHIL).

1.1.5. Diagnóstico

El diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas y su control epidemiológico tiene actualmente unas exigencias derivadas de mucho volumen de trabajo, necesidad de diagnósticos objetivos, rápidos, fiables, seguros y reproducibles, y todo ello ajustando el binomio coste-eficiencia. Las pruebas que se demandan cada vez son mayores, en cantidad, calidad y diferenciación, lo que hace

que los laboratorios se encarezcan en el montante económico total. (Gobernadao Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

La identificación de una bacteria sospechosa de ser la causa de una infección es uno de los instrumentos principales del diagnóstico de enfermedades infecciosas. Y así diferenciar si estamos ante un microorganismo patógeno, uno potencialmente patógeno o un contaminante y deducir los posibles mecanismos de resistencia del microorganismo, conduce a tratar la enfermedad infecciosa con la mayor eficiencia posible, con antimicrobianos u otras terapias antiinfecciosas, y todo procurando el menor coste posible. La identificación correcta también permite detectar y seguir las infecciones hospitalarias y brotes infecciosos por microorganismos nosocomiales o de la comunidad social. (Gobernadao Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

El proceso del diagnóstico microbiológico en general y el bacteriológico en particular es secuencial, comienza por un problema clínico o de control epidemiológico, que hace necesaria la demanda de una o varias pruebas, toma y transporte adecuados de las muestras que se van a investigar, con los datos demográficos y clínicos pertinentes inscritos en un volante de petición, recepción en el laboratorio, procesamiento, análisis e interpretación de los resultados, y un informe final que una vez recibido en el punto de origen ayuda a tomar decisiones clínico epidemiológicas y adecuación de tratamientos antimicrobianos. (Gobernadao Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

Examen en fresco: La observación directa al microscopio de muestras no teñidas, puede realizarse directamente, o con montaje en solución salina. Permite, entre otras cosas, evaluar la calidad de la muestra y es útil en la observación de la presencia de bacterias, disposición y su movilidad, así como la existencia de estructuras no bacterianas como levaduras, micelios de hongos filamentosos, otros parásitos y células. El examen en un microscopio con contraste de fases, o campo oscuro, es útil para la observación de espiroquetas. (Gobernadao Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

Tinciones: Son el primer paso, y a veces el único, para la identificación bacteriana. Las coloraciones más usadas e imprescindibles son la de azul de metileno y la de Gram; esta última, especialmente utilizada para ver las propiedades de tinción de todo tipo de bacterias, diferenciándolas en dos grandes grupos, grampositivas (color violeta) y gramnegativas (color rojo) a la vez que permite distinguir su morfología y forma de agruparse. El Gram es de utilidad para orientarnos con la mayoría de las bacterias, pero permite hacer una presunción, apoyados en el tipo de muestra y diagnóstico presuntivo, de algunas bacterias como *S. pneumoniae*, *Neisseria*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus* y otras. La coloración de Ziehl-Neelsen, basada en la capacidad de resistir a la decoloración de algunas especies, por su pared rica en ácidos micólicos, a una mezcla de alcohol y ácido, se mantiene en la actualidad como imprescindible para detectar la presencia de *Mycobacterium* en las muestras patológicas y en la identificación de sus colonias. También es útil, con decoloración más suave, "Ziehl dulce", para la sospecha de *Nocardia* y *Rhodococcus*. Las coloraciones por medio de colorantes panóptico como Giemsa y Wright, y con fluorocromos como naranja de acridina y auramina, dan un buen servicio para la observación de bacterias que tiene dificultad en teñirse con los colorantes de anilina, como los utilizados en la técnica de Gram o azul de metileno, o que tienen poco contraste con el material de fondo, entre las cuales tenemos los bacilos ácido-alcohol resistentes y algunos patógenos intracelulares como *Legionella pneumophila* y *Chlamydia pneumoniae*. Las tinciones fluorescentes, como el isocianato de fluoresceína, a pesar de lo complejo de la técnica, son útiles y mejoran de manera considerable si se asocian a anticuerpos monoclonales. Otro tipo de tinciones habituales de gran utilidad para bacterias muy finas como *Treponema pallidum* y *Borrelia burgdorferi* son las de plata, como la de Fontana-Tribondeau, que permite recubrir a estos microorganismos con su precipitado y aumentar el tamaño, facilitando su visión microscópica. (Gobernadora Miguel y JL. López-Hontangasa, 2003).

En muchas ocasiones, los resultados de estos exámenes son suficientes para establecer el diagnóstico, al menos presuntivo, con un excelente rendimiento en rapidez, seguridad y coste-eficiencia. Las mayores aplicaciones, además de las generales de presencia o no de bacterias, su coloración, morfología y forma de agruparse. (Gobernadao Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

Identificación tras aislamiento por cultivo: La clave para identificar las bacterias como agentes patógenos depende de su aislamiento en cultivo puro; Una colonia de cultivo puro está compuesta por un solo tipo de microorganismos y procede de una única célula. Las pruebas de identificación se deben hacer siempre en colonias únicas o cultivos puros. Es posible llevar a cabo una identificación preliminar de muchas bacterias con importancia médica, sobre la base de unas pocas características simples de las células. (Gobernadao Miguel y JL. López-Hontangasa, 2003).

En general, una vez que se han aislado las bacterias por medio de su cultivo correspondiente, común o selectivo, el paso siguiente para su identificación pasa por el conocimiento de las características ambientales de su crecimiento óptimo (aerobias, anaerobias, microaerófilas, tiempo de cultivo, grado de humedad, temperatura de crecimiento), estudio visual del aspecto de las colonias, hecho fundamental en el diagnóstico bacteriano, como morfología, elevación, bordes, tamaño, color, olor, tipo de superficie, densidad, consistencia, incrustación el medio de cultivo, crecimiento en sábana y otras características; su comportamiento frente a los distintos sustratos incorporados al medio de cultivo (hemólisis, fermentación de azúcares, utilización de sales; el comportamiento frente a los colorantes de los individuos bacterianos que forman las colonias, junto con su morfología, manera de agruparse y presencia de esporas o no; posteriormente, el siguiente paso es el estudio del comportamiento metabólico mediante pruebas bioquímicas, como la utilización de diversas fuentes orgánicas e inorgánicas con la producción de sustancias detectables por reacciones directas e indirectas; y también la detección

de sus diversos antígenos con anticuerpos específicos. (Gobernador Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

Las pruebas bioquímicas pueden ser rápidas y sencillas o más lentas y complejas; un ejemplo de las primeras son la detección de producción de catalasa por medio de H₂O₂, solubilidad en la bilis (desoxicolato de sodio), plasmocoagulasa en "porta", actividad de citocromo oxidasa, presencia de indol con el reactivo de Kovacs, etc. En el caso de las bacterias gramnegativas es común buscar la actividad de la citocromooxidasa, utilización de hidratos de carbono como fermentación de la glucosa, lactosa y otros azúcares, producción de betagalactosidasa, reducción de nitratos, actividad descarboxilasa o deshidrolasa sobre la ornitina, lisina y arginina, producción de citrato, de indol, de acetil-metil-carbinol, ureasa, etc., batería de pruebas que pueden hacerse con máquinas automáticas. (Gobernador Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

Una vez obtenidos los resultados de las pruebas bioquímicas y otras, la identificación final puede efectuarse por medio de los sistemas de esquemas clásicos como el de matriz de cuadrículas y los diagramas de flujo ramificados. En la matriz de cuadrículas se expresan las pruebas bioquímicas positivas frente a diferentes sustratos, y el porcentaje de positividad para distintas especies bacterianas. La precisión es bastante alta, pero la interpretación es tediosa hasta llegar a un patrón determinado para identificar la especie y el biotipo. Los diagramas de flujo reducen la complejidad de la lectura de toda la matriz, utilizando algoritmos, pero un fallo en uno de los puntos puede originar interpretaciones erróneas finales. (Gobernador Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

Otro paso para facilitar la identificación bacteriana es la utilización de códigos numéricos aplicados a los resultados de las pruebas, tanto por medios manuales como asistidos por ordenadores, que trasladan las características de identificación a una secuencia de números binarios correspondientes a los resultados de pruebas positivas o negativas de los diferentes géneros y especies, transformados

posteriormente en sus equivalentes octales hasta llegar a sistemas matemáticos más simples y comprensibles de códigos numéricos. Posteriormente, para la identificación definitiva habrá que apoyarse en el cálculo de probabilidades, previa comprobación y resolución de las posibles discrepancias. Por ejemplo, sistemas manuales basados en este sistema son el API (bioMérieux), tubo Oxi/Ferm (Becton-Dickinson), el BD-Crystal (Becton-Dickinson), Micro-ID (Remel), RapID (Innovative Diagnostics), Enterotube (Becton-Dickinson), Minitek (Becton-Dickinson), Biolog (Biolog Inc.), Sensititre (AccuMed Internacional), Sceptor (Becton-Dickinson), entre otros, alguno de ellos en desuso ante la irrupción de los sistemas automáticos o semiautomáticos. (Gobernador Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

El sistema de galería API es el más utilizado en la actualidad. En él se va obteniendo una puntuación según que cada prueba sea positiva o negativa, la identificación numérica de un perfil observado se apoya en el cálculo de su proximidad relativa a los distintos taxones de la base de datos y su proximidad al perfil más típico en cada taxón; a continuación, la clasificación de los taxones permite proponer un resultado de identificación. Básicamente, la base de datos establecida está constituida por porcentajes de reacción positiva para cada taxón/prueba, las frecuencias de aparición de las reacciones observadas derivan de los porcentajes de reacciones positivas y negativas y contemplan los posibles errores de lectura de cada prueba, al mismo tiempo se calculan las frecuencias de aparición de las reacciones del perfil más típico con probabilidad positiva cuando la probabilidad es igual o mayor a 50 y con probabilidad negativa cuando es menor a 50. La frecuencia de aparición del perfil observado en cada taxón es igual al producto del conjunto de frecuencias de aparición en el taxón de las reacciones observadas. Al mismo tiempo, se calcula para cada taxón la frecuencia de aparición del perfil más típico, igual al producto de las frecuencias de aparición de las reacciones del perfil más típico. Durante mucho tiempo, el API ha representado la identificación de referencia en el laboratorio, pero debido a que su realización es laboriosa, al igual que su interpretación, prefieren utilizarse otros métodos, como los automáticos. (Gobernador Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).



Fig. 5 API® 20E Permite identificación de microorganismos pertenecientes al grupo de las enterobacterias y de oros bacilos Gram negativos. Tomado de Apiweb® [CD-ROM] BioMérieux. 2010.

Pruebas para identificar algunas bacterias: Para cocos grampositivos, si son catalasa-positivos puede realizarse una prueba de manitol con 6,5% de cloruro sódico y una ADNasa, con lo que se diferenciará *S. aureus* del resto de estafilococos, que llamamos genéricamente estafilococos coagulasa-negativos. Si queremos llegar más lejos en la identificación deberán realizarse más pruebas. En cocos grampositivos catalasa-negativos tenemos un gran número de géneros, por lo que la identificación preliminar va a desempeñar un papel esencial. Se puede realizar un esquema en cascada con unas pocas pruebas convencionales que permitan identificar el género y, en algún caso, llegar hasta especie: patrón hemolítico (si hay betahemólisis puede realizarse una prueba con antisueros que identifica los grupos antigénicos de Lancefield), crecimiento en satélite con una cepa de *S. aureus* hemolítica, piracinamidasa, hidrólisis del hipurato, prueba de CAMP, solubilidad en bilis y optoquina. Si interesa llegar a una identificación de especie deberán realizarse una gran cantidad de pruebas convencionales o ir a un sistema de identificación con más pruebas como el API rapid ID 32 STREP, o un sistema automático como el Vitek2 (bioMérieux Vitek), MicroScan WalkAway (Dade), BD Phoenix (Becton-Dickinson) o Wider (Soria Melguizo). (Gobernadao Miguel y JL. López- Hontangasa, 2003).

1.1.6 Antibióticos

Los antibióticos son fármacos utilizados para tratar padecimientos ocasionados por diversas clases de bacterias, los cuales pueden presentar efecto bactericida, es decir, que ocasiona muerte a la bacteria o efecto bacteriostático que consiste en detener la reproducción de la bacteria (OMS, 2018).

La notoria actividad de los fármacos antimicrobianos se debe a su selectividad para sitios que son exclusivos de las procariontas y eucariotas tales como los parásitos y los hongos. Entre los sitios de acción se encuentran las enzimas necesarias para la síntesis de la pared celular de las bacterias, el ribosoma bacteriano, las enzimas necesarias para la síntesis de nucleótidos y la replicación del DNA por mencionar solo algunos (Bertram y Cols.,2013). Los mecanismos de acción de los antibióticos de muestran en la Figura 6 y los ejemplos de fármacos de primera elección para el tratamiento de enfermedades de etiología bacteriana se resumen en la Tabla 5.

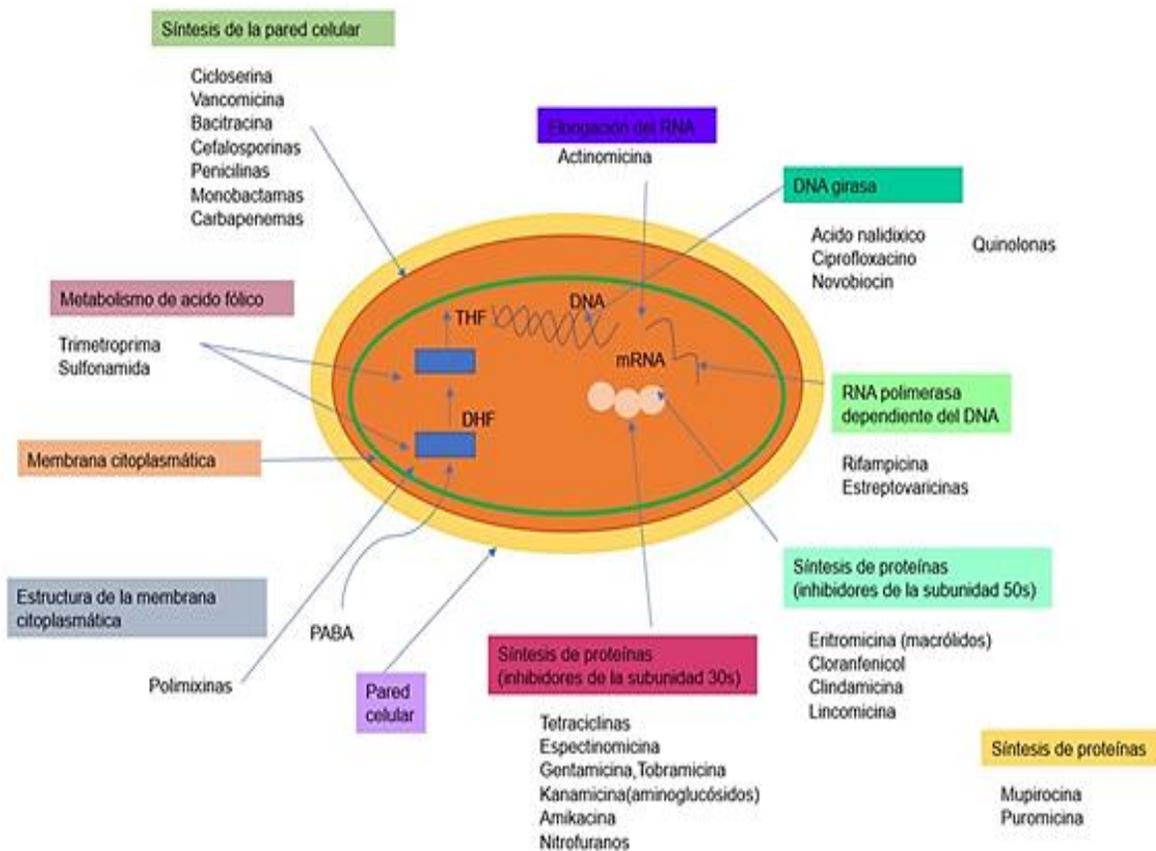


Fig. 6 Clasificación de los agentes antimicrobianos según su sitio de acción en las células procariontas (Tomado de Madigan, 2004)

Tabla 5. Tratamiento antibacteriano empírico basado en la etiología microbiana.		
Enfermedad o microorganismo patógeno sospechado o demostrado	Fármacos de primera elección	Fármacos alternativos
Cocos Gramnegativos (aerobios)		
<i>Moraxella(Branhamella) catarrhalis</i>	Cefalosporina (segunda o tercera generación)	Quinolonas y macrólidos
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Ceftriaxona y Cefixima	Espectinomicina, azitromicina
<i>Neisseria meningitidis</i>	Penicilina G	Cloranfenicol, Ceftriaxona, Cefotaxima
Bacilos gramnegativos (aerobios)		
<i>E. coli, Klebsiella, Proteus</i>	Cefalosporina (de primera o segunda generación)	Quinolona o aminoglucósido
<i>Enterobacter, Citrobacter, Serratia</i>	Quinolona, Carbapenem	Penicilina antipseudomónica, aminoglucosido, cefepima
<i>Shigella</i>	Quinolona	Ampicilina, Azitromicina, Ceftriaxona
<i>Salmonella</i>	Quinolona, Ceftriaxona	Cloranfenicol, Ampicilina
<i>Helicobacter pylori</i>	Inhibidores de la bomba de protones + Amoxicilina + Claritromicina	Bismuto+metronidazol+tetraciclina+inhibidor de la bomba de protones
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Penicilina antipseudomónica aminoglucosidos	Penicilina antipseudomónica, quinolona, Cefepima, Ceftazidima, carbapenémicos antipseudomonico, Aztreonam.
Tomado de: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html . Fecha de consulta:16 de octubre del 2019.		

1.1.7. Bacterias Acido Alcohol Resistente

La tuberculosis (TB) es una enfermedad que afecta principalmente al sistema respiratorio inferior; en humanos el principal agente causal es *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) (Muller y Cols., 2013). También, puede afectar otros órganos y tejidos. Actualmente, se considera un severo problema de salud pública

por la presencia de cepas fármacoresistentes (Uribarren, 2015). La edad de mayor incidencia de la TB se encuentra en la adolescencia tardía y principios de la adultez.

La forma más común de transmisión es de persona a persona por medio de las gotitas de saliva, a través de la tos o estornudos. Los síntomas más frecuentes son: tos productiva crónica, fiebre en picos, sudoración nocturna, decaimiento, pérdida de apetito y pérdida de peso (OMS, 2015).

1.1.7.1 Tuberculosis

La tuberculosis (TB) es una enfermedad sistémica, crónica, que afecta principalmente al sistema respiratorio; en humanos el principal agente causal es el complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), y se adquiere por vía aérea (Muller, 2013), sin embargo, la tuberculosis también puede ser causada en menor grado por *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium africanum* (Bermejo 2007). Aunque se trata principalmente de una enfermedad pulmonar (85%), afecta también a otros órganos y tejidos. Puede ser mortal si el paciente no recibe el tratamiento adecuado. Actualmente, se considera un severo problema de salud pública debido a la aparición de casos de resistencia a los antibióticos de primera línea, por lo que sigue siendo una causa significativa de mortalidad en el mundo, además de que suele ser una enfermedad que afecta a pacientes inmunosuprimidos.

De acuerdo con la OMS, la TB es más frecuente en países en vías de desarrollo en donde diversos factores como la pobreza, el hacinamiento y enfermedades que comprometen el sistema inmune como diabetes mellitus y el virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH), impiden el control de la misma. La edad de mayor incidencia de la TB se encuentra en la adolescencia tardía y principios de la adultez, siendo la edad entre 25-34 años la de mayor incidencia en la mujer, es decir, justo en la edad reproductiva (Braunwald y cols, 2005).

Como se ha mencionado anteriormente, la tuberculosis se puede presentar no solo en los pulmones, sino también en otros órganos del cuerpo. Entre ellos se encuentra

la TB- genitourinaria, TB- ósea, TB- laríngea, mencionando solo algunos (Ruíz-Manzano y Cols., 2008).

1.1.7.2 Epidemiología

1.1.7.3 Nivel mundial

El principal agente causal de la tuberculosis en el humano es *M. tuberculosis*. En el ganado bovino, el agente causal es *M. bovis*, y en menor proporción, *M caprae*. La transmisión zoonótica de estos patógenos ocurre principalmente por el contacto estrecho con el ganado y el consumo de productos de estos animales, tales como leche no pasteurizada. A nivel mundial, la mayor parte de los casos de tuberculosis zoonótica se deben a *M. bovis*, y el ganado es el principal reservorio (Muller y Cols., 2013).

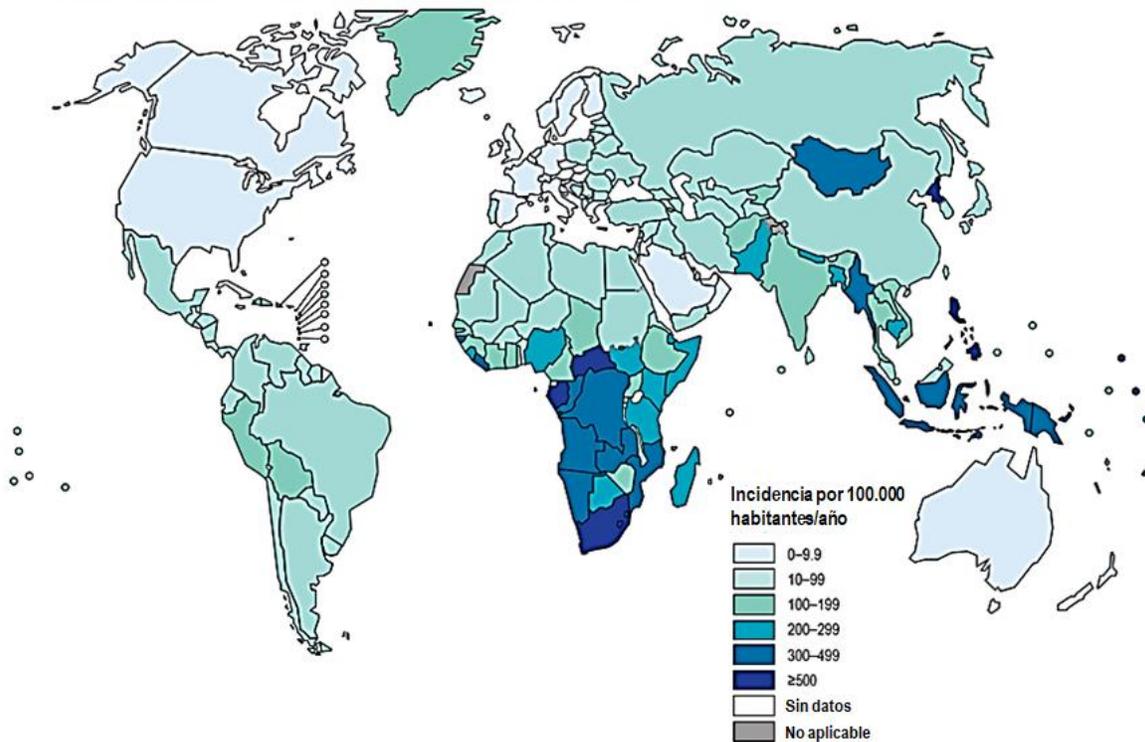
La tuberculosis está presente en el mundo entero. En 2019, el mayor número de nuevos casos de tuberculosis se produjo en la Región de Asia Sudoriental de la OMS, en la que se registraron el 44% de los nuevos casos, seguida de la Región de África de la OMS, con el 25% de los nuevos casos, y la Región del Pacífico Occidental de la OMS, con el 18% de los nuevos casos. (OMS, 2020)

En 2019, el 87% de los nuevos casos de tuberculosis se produjeron en los 30 países con mayor carga de tuberculosis. Ocho países registraron dos tercios de los nuevos casos de tuberculosis: la India, Indonesia, China, Filipinas, el Pakistán, Nigeria, Bangladesh y Sudáfrica (Fig.7). (OMS, 2020)

En 2019 fallecieron unas 208 000 personas por tuberculosis asociada al VIH. El porcentaje de casos notificados de tuberculosis para los que se disponía de un resultado documentado de una prueba de VIH en 2019 fue del 69%, en comparación con el 64% en 2018. En la Región de África de la OMS, donde la carga de tuberculosis asociada al VIH es la más elevada, el 86% de los pacientes con tuberculosis tenían un resultado documentado de una prueba del VIH. Globalmente,

el 88% de los pacientes de tuberculosis con infección conocida por el VIH estaban en tratamiento antirretrovírico en 2019. (OMS, 2020)

Estimación de las tasas de incidencia de TB, 2019



Fuente: Global Tuberculosis Report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Fig. 7 Tuberculosis. Estimación de tasas de incidencia nivel mundial en 2020 https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/PlanTuberculosis/img/ESTIMACION_INCIDENCIA_TB_2020.jpg Fecha de consulta 12 octubre 2021

1.1.7.4 Nivel nacional y estatal

De acuerdo con información del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SiNaVE), México registra cada año unos quince mil casos nuevos de tuberculosis pulmonar y alrededor de dos mil defunciones, principalmente en el occidente y Golfo de México y con menor incidencia en los estados del centro de la República (InDRE. 2014) En la siguiente Tabla 6 se muestran los casos por identidad en la semana 38 del 2021.

Tabla 6. Casos por identidad federativa de Tuberculosis Respiratoria hasta la semana 38 del 2021

Entidad federativa	Semana	2021 Acum.		2020 Acum.
		M	F	
Aguascalientes	2	30	15	-
Baja california	36	842	382	-
Baja california Sur	9	71	38	-
Campeche	2	74	34	-
Coahuila	15	188	123	-
Colima	5	47	32	-
Chiapas	17	495	357	-
Chihuahua	9	233	149	-
Ciudad de México	10	147	113	-
Durango	4	38	34	-
Guanajuato	5	104	81	-
Guerrero	10	367	249	-
Hidalgo	4	62	50	-
Jalisco	17	297	154	-
México	9	202	113	-
Michoacán	3	89	56	-
Morelos	3	55	38	-
Nayarit	3	119	78	-
Nuevo León	22	628	354	-
Oaxaca	6	134	97	-
Puebla	4	114	76	-
Querétaro	3	41	33	-
Quintana Roo	6	175	87	-
San Luis Potosí	3	115	78	-
Sinaloa	25	534	221	-
Sonora	20	468	209	-
Tabasco	16	327	148	-
Tamaulipas	25	520	280	-
Tlaxcala	-	9	8	-
Veracruz	34	747	443	-
Yucatán	5	111	48	-
Zacatecas	1	29	12	-
Total	333	7412	4190	-
Fuente: SINAVE/DGE/Salud 201. Sistema Especial de Vigilancia Epidemiológica. Información preliminar de casos confirmados				
Fuente: SINAVE/DGE/Salud 2021. Información preliminar incluye casos probables				
Boletín Epidemiológico 04 de octubre de 2021, Semana Epidemiológica 38				

De acuerdo con el Boletín Epidemiológico de la secretaria de Salud (Fig. 8): en lo que va del año en la semana 38 del 2021, los cinco estados con mayor número de casos fueron: **Baja California** (1224 casos; 842 varones y 382 mujeres); **Veracruz** (1190 casos; 747 varones y 443 mujeres); **Nuevo León** (982 casos; 628 varones y 354 mujeres); **Sinaloa** (755 casos; 534 varones y 221 mujeres) y **Tamaulipas** (800 casos; 520 varones y 280 mujeres). Siendo el estado de Baja California con el mayor número de casos reportados

En relación al estado de Morelos es uno de los que tienen un menor número de casos de TB. De acuerdo a lo reportado en el Boletín Epidemiológico de la secretaria de Salud, en el estado de Morelos se han reportado 93 casos de TB en que lo que va del año 2021 en la semana 38.



Fig. 8 Estados con mayor número de casos de Tuberculosis (TB) (Adaptado de Boletín Epidemiológico, 2021)

1.1.7.5 Género *Mycobacterium*

La familia *Mycobacteriaceae* contiene un solo género, el género *Mycobacterium*, del que en sus orígenes sólo se conocían dos especies: El bacilo de la lepra o *Mycobacterium leprae* y el bacilo tuberculoso o *Mycobacterium tuberculosis*. Hoy en día, dentro del género *Mycobacterium* se han descrito más de 120 especies de micobacterias diferentes, las cuales están divididas en dos complejos: Complejo de Micobacterias Tuberculosas (MT) y el Complejo de Micobacterias No Tuberculosas (MNT) (Dorronsoro y Torroba, 2007).

El complejo MT está compuesto, además de *Mycobacterium tuberculosis*, por *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG (una cepa variante de laboratorio utilizada en vacunación y en instilaciones vesicales en pacientes con neoplasia de vejiga), *Mycobacterium africanum* (principal causante de la TB en África tropical), *Mycobacterium microti* (causante de la TB en roedores, llamas y otros mamíferos) y *Mycobacterium canettii*.

Por otro lado, el complejo MNT es un grupo muy numeroso que pueden aislarse de la tierra, agua, polvo, leche y diversos animales, algunas especies son: *Mycobacterium celatum*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium gastri*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium genavense*, *Mycobacterium mucogenicum*, *Mycobacterium haemophilum*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium malmoense*, *Mycobacterium shigmoidei* entre otras.

Las micobacterias son capaces de sobrevivir durante semanas o meses sobre objetos (alfombras, abonos, papel, ropa, polvo), siempre que estén protegidas del calor, la luz solar y la luz ultravioleta. Son más resistentes a los ácidos, álcalis y desinfectantes que el resto de las bacterias no formadoras de esporas. Resisten la desecación y la congelación, pero el calor (>65° C durante 30 minutos) las inactiva (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015; Pfyffer y cols., 2003).

1.1.7.6 Agente etiológico de la TB

El principal agente etiológico de la TB en el ser humano es *M. tuberculosis* (Fig. 9). Son bacilos con tamaño entre 0.2-0.7 x 1-10 micras (μm), ligeramente curvados, inmóviles, no formadores de esporas ni cápsulas, aerobia facultativa, ácido alcohol resistente por su resistencia a la decoloración de la fucsina básica, de lento crecimiento, envoltura celular compleja y temperatura óptima de crecimiento de 37°C. Crece en medios de cultivo a base de huevo coagulado (Loewenstein Jensen) o el agar de Middlebrook y Cohn; también, es resistente al frío y a la desecación (Smith, 2003).

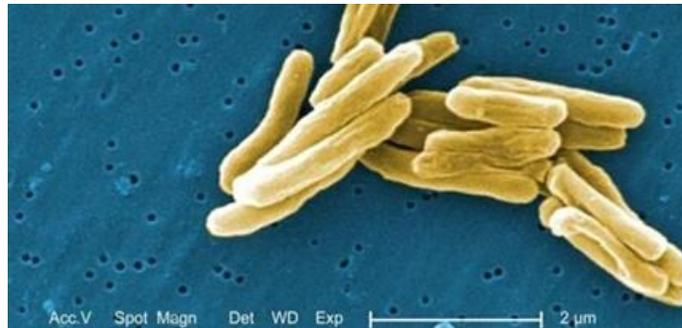


Fig. 9 *Mycobacterium tuberculosis* (Tomado de Todar K, 2016)

Presenta una pared celular, con cuatro capas. La capa más interna es el glicopéptido o péptidoglicano con moléculas de N-acetilglucosamina y ácido-N-glicolilmurámico. Esta capa es el esqueleto de la bacteria que le proporciona forma y rigidez. Externamente, hay otras tres capas, una compuesta por polímeros de arabinosa y galactosa (arabinogalactana), otra formada por ácidos micólicos (ácidos grasos complejos de 60 a 90 átomos de carbono, con un hidroxilo en el carbono β y una cadena alifática ligada al carbono α y otra superficie formada por lípidos o glicolípidos, esto le proporciona resistencia a agentes microbicidas, hidrólisis enzimática y le confieren la característica ácido-alcohol resistente (Fig. 10) (Valenzuela, 2006 y Gorocica y Cols., 2005). La dosis infectiva mínima (DIM) es de menos de 10 bacilos por inhalación (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015; Fontalvo y Gómez, 2015).

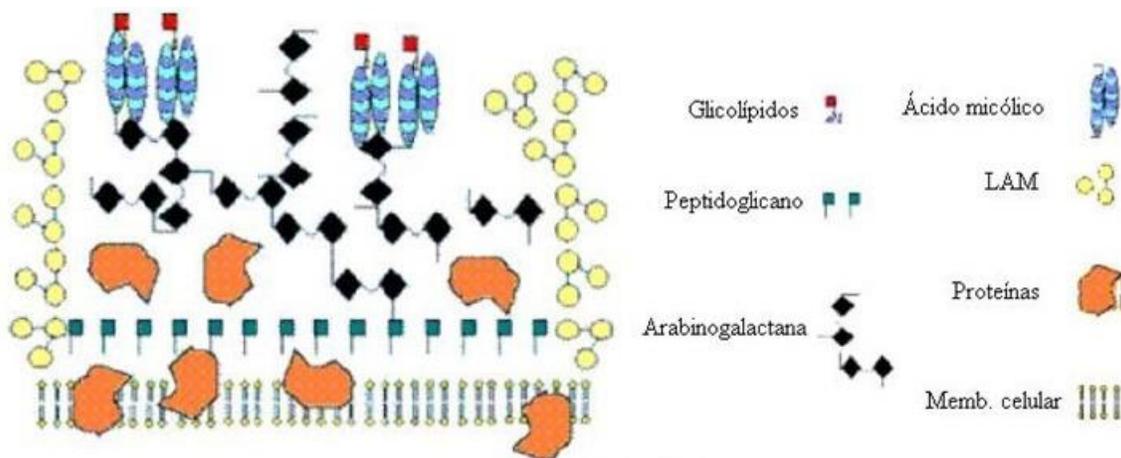


Fig. 10 Composición de la pared celular de *Mycobacterium tuberculosis* (Tomado de Gorocica y Cols., 2005)

M. tuberculosis, presenta forma de bacilos ligeramente curvados, Gram positivo débiles, con tamaño entre 0.2-0.7 x 1-10 micras (μm), inmóviles, no formadores de esporas ni cápsulas, aerobia facultativa, ácido alcohol resistente entre otras características. Es capaz de sobrevivir durante semanas en materiales como alfombras, cadáveres, abonos, papel o ropa, o bien formando parte del polvo (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015).

1.1.7.7 Signos y síntomas

La TB es una enfermedad cuyas manifestaciones clínicas no permiten diferenciarla de otras entidades nosológicas. La mayoría de los casos son de inicio insidioso, poco alarmante y bastante variable, dependiendo de la virulencia del agente causal, la edad, el órgano afectado y el estado inmunitario del huésped. Los síntomas pueden dividirse en 2 grupos: sistémicos y específicos de órgano (Ruíz-Manzano y Cols. 2008):

- **Sistémicos:** Los más frecuentes son: tos productiva crónica, fiebre en picos, sudoración nocturna, decaimiento, pérdida de apetito y pérdida de peso (Uribarren, 2015).
- **Específicos de órgano:** Varían según la localización de la enfermedad.

Actualmente, el diagnóstico de la TB puede llevarse a cabo a través diversas técnicas (Secretaría de Salud, 2014) entre las más importantes podemos encontrar: baciloscopía, microscopia de fluorescencia, radiografía de tórax, test de tuberculina, métodos colorimétricos, entre otros. El tratamiento consta de diversos fármacos por un tiempo prolongado, que va desde algunos meses hasta por 2 años. Este es un grave problema para los pacientes con dicha enfermedad, debido a los altos costos que presentan, trayendo como consecuencia que un tratamiento completo cueste varios miles de dólares. Otro problema que se presenta en el tratamiento de la TB, son los efectos secundarios de los fármacos, ya que traen muchos daños a nuestro cuerpo y más grave aún, malformaciones a fetos de mujeres embarazadas que presentan dicha enfermedad (Ormerod, 2001; Miller y Cols., 1996; Ruiz-Manzano y Cols, 2008).

1.1.7.8 Diagnóstico

Actualmente el diagnóstico de la TB se puede llevar a cabo por diversas técnicas las cuales se describen a continuación- (Secretaría de Salud, 2014):
Secretaría de Salud. (2014). Avances Tecnológicos en Métodos Convencionales. Departamento de Bacteriología. Laboratorio de Micobacterias, México.

Baciloscopía: La baciloscopía o tinción de Ziehl–Neelsen es la técnica fundamental en toda investigación bacteriológica en tuberculosis, tanto para el diagnóstico como para el control del tratamiento. La ácido-alcohol resistencia es la propiedad que tienen las micobacterias de captar en su pared fucsina (de color fucsia) y retenerla aun con la acción de decolorantes, como la mezcla de ácido y alcohol. Esta característica se debe al alto contenido en lípidos, particularmente a los ácidos micólicos, que poseen en la pared celular. Utilizando esta técnica es posible identificar al bacilo de la tuberculosis como un bastoncito rojo fucsia sobre una coloración de fondo que facilita su visualización (Fig. 11). Los elementos que se requieren para efectuar la técnica son comunes, de bajo costo y habitualmente están disponibles aún en laboratorios de nivel básico. (Manual para el Diagnostico Bacteriológico de la Tuberculosis, 2008; Manual de Técnicas de Laboratorio para el Examen Baciloscópico, 2003).

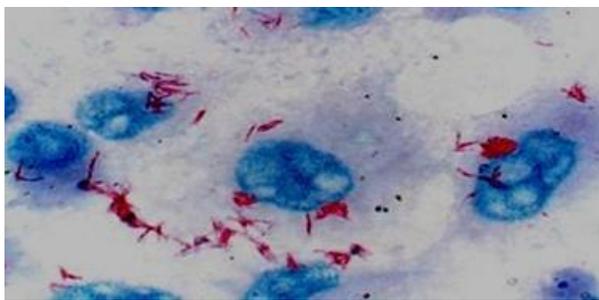


Fig. 11 *Mycobacterium tuberculosis*. Técnica de Ziehl-Neelsen (Tomado de Martínez-Guarneros, 2014)

Microscopía de fluorescencia: La microscopía de fluorescencia se basa en los mismos principios de óptica de la microscopía común, con diferencias en el manejo y el diseño relacionadas con la generación y transmisión de longitudes de onda adecuadas a los fluorocromos que se quieren visualizar, ya sean propios de la muestra o de la coloración utilizada. El fundamento de esta técnica radica en la capacidad que muestran algunos compuestos fluorescentes, denominados fluorocromos, en fijarse a los anticuerpos mediante un enlace químico estable que no puede romperse durante el curso de la reacción inmunológica. Se encuentran diversos ejemplos de fluorocromos como la rodamina, auramina, fluoresceína, colorantes de acridina, que se utilizan en distintas técnicas de tinción. En la tinción de microorganismos ácido-resistentes se utiliza la auramina, y en muestras de tejido y esputo la rodamina. Los procesos de excitación generalmente requieren longitudes de onda cortas cercanas al UV, por lo tanto, usa lámparas de cuarzo-halógeno o mercurio como fuentes de luz (duración 200-300 h). Se considera 10% más sensible que la baciloscopia, pero es más costosa y requiere personal experimentado (Franco, 2005 y Martínez-Guarneros, 2014) (Fig. 12).



Fig. 12 *Mycobacterium tuberculosis* en microscopia de fluorescencia (Tomado de Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte I OPS, 2008).

Microscopía de fluorescencia LED (Light Emitting Diode): El desarrollo reciente de la tecnología dio lugar al microscopio de fluorescencia LED, el cual usa un sistema de iluminación por un diodo emisor de luz (LED por sus siglas en inglés). El fundamento es igual al de la microscopia de fluorescencia, la diferencia radica en que la vida útil del LED es de hasta 10,000 horas y tiene un costo menor, comparándolo con la fuente de luz de la microscopia de fluorescencia. La luz del LED se produce cuando una corriente eléctrica pasa a través del material semiconductor (arseniuro de galio-aluminio). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha evaluado la eficacia de la microscopía LED, y los resultados mostraron que el diagnóstico con este microscopio fue más sensible (alrededor del 10%) que con el microscopio óptico. Basándose en estas consideraciones, la OMS recomienda que la microscopía convencional y la fluorescente sean reemplazadas por la microscopia LED (Fig. 13) (OMS, 2010; Teran y de Waard, 2015).

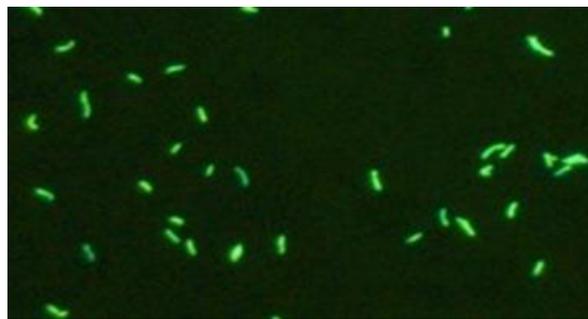


Fig. 13 *Mycobacterium tuberculosis* en microscopia de fluorescencia LED (Tomado de ZEISS, 2016)

Rayos X de tórax: En la mayoría de los casos en los que se sospecha la presencia de tuberculosis, los rayos X de tórax es suficiente para valorar la afectación pulmonar y la evolución tras el tratamiento. Los hallazgos radiológicos más frecuentes en la tuberculosis primaria son las adenopatías y las condensaciones, y en la tuberculosis post-primaria las consolidaciones, los nódulos y las cavidades, predominan en los segmentos apicales y posteriores de los lóbulos superiores (LLSS) (Fig. 14). En pacientes gestantes se debe postergar su realización hasta las 12 semanas de gestación, pero si presenta el test de tuberculina positivo, se debe realizar independiente de la edad gestacional (Herráez, 2002; Laibl y Sheffield, 2005; Miller y Cols., 1996).

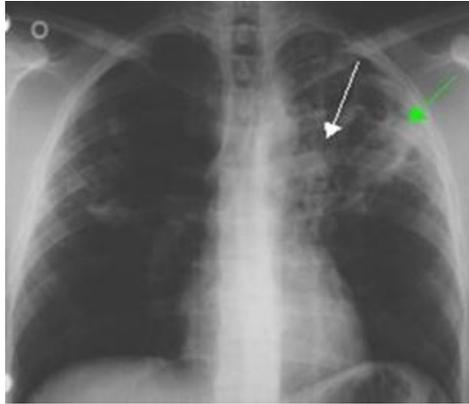


Fig. 14 Rayos X de tórax en tuberculosis activa: consolidaciones irregulares en los lóbulos superiores (flecha verde) y adenopatías en el hilio izquierdo (flecha blanca) (Tomado de Herráez I, 2002)

Prueba de tuberculina: La prueba de tuberculina (PT) consiste en inyectar a un sujeto un producto derivado del bacilo tuberculoso: la tuberculina o el derivado proteico purificado (PPD por sus siglas en ingles) y medir la respuesta cutánea obtenida. La PT se basa en el hecho de que la infección por *M. tuberculosis* produce hipersensibilidad, ya que la tuberculosis es una enfermedad en la que una misma reacción inmunológica básica puede resultar en una respuesta protectora o en daño tisular. El conocimiento de este aspecto permite definir la tuberculosis, al margen de otras definiciones, como enfermedad inmunológica en la que (Sánchez, 2006):

1. Están comprometidos todos los componentes del sistema inmune y se producen alteraciones (inmunológicas) de diversa índole.
2. El daño tisular es causado por la respuesta inmune antimicrobiana, más que por un efecto directo de la micobacteria, o alguno de sus productos, en un tejido o célula en particular.

Si la persona está infectada por *M. tuberculosis*, los antígenos inoculados estimulan los linfocitos T sensibilizados y desencadenan, en el lugar del contacto, una reacción de hipersensibilidad celular retardada, que se manifiesta pasadas 48 h, como una zona de infiltración y eritema, a veces con necrosis, que se define como reacción positiva a la tuberculina (Fig. 15). Lo único que indica una PT positiva es la capacidad de responder del organismo frente a uno o varios antígenos de *M. tuberculosis*, como consecuencia del contacto con el bacilo. Por lo general, las

respuestas al PPD en personas vacunadas con BCG suelen ser menos intensas (Sánchez, 2006).



Fig. 15 Prueba de tuberculina (Tomado de Sánchez, 2006)

Prueba inmunocromatográfica TB (MPT 64): La prueba TB Ag MPT64 puede detectar el antígeno MPT64 (24 kDa), que es uno de los antígenos principales secretado por las bacterias de tuberculosis. La prueba para la detección rápida de MPT64 tiene una sensibilidad y especificidad muy alta comparada con la detección bioquímica estándar. Como *M. tuberculosis* crece despacio, el cultivo convencional con detección visual por lo general requiere de 6–8 semanas. La prueba rápida de TB Ag MPT64 tiene un límite de detección de 1.05×10^2 UFC/ml, de modo que la confirmación de TB puede estar disponible con sólo 3 colonias de la etapa temprana del cultivo (aproximadamente 3~4 semanas). (Martínez-Guarneros, 2014 y Standard Diagnostics, 2016) (Fig. 16).

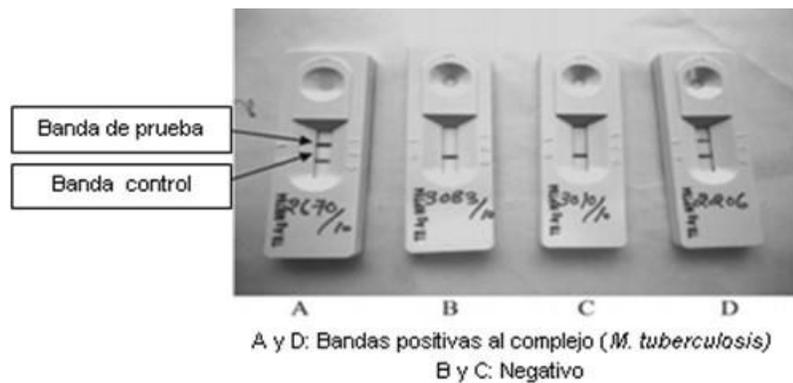


Fig. 16 Prueba inmunocromatográfica TB Ag MPT64 (Tomado de Martínez-Guarneros, 2014)

Pruebas moleculares: Desde inicios de los años noventa, varias metodologías han sido publicadas para la detección de *M. tuberculosis*, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), usando cebadores oligonucleótidos para amplificar un fragmento de ADN específico para este microorganismo. Puede ser detectado tras una electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. La técnica puede realizarse en tan solo 24 a 48 horas y es capaz de detectar la presencia de cantidades muy pequeñas de fragmentos de ADN micobacteriano en muestras biológicas de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis y resultados negativos en la tinción de Ziehl-Neelsen o el cultivo (Barrón y Cols., 2006; Morán y Cols., 2000; Noris y Santana, 2009) (Fig. 17).

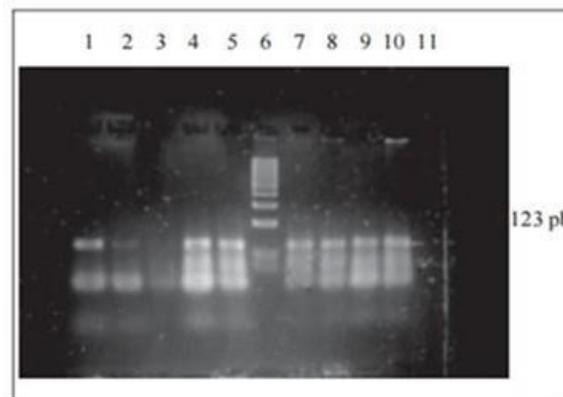


Fig. 17 PCR de *Mycobacterium*. Los carriles 1, 2, 5, 7, 8, 9, 10 presentan resultados positivos de 123 pares de bases. Carril 3 con resultado negativo. Carril 4 control positivo a partir de cultivo. Carril 6 marcador de tamaño molecular de 100 pb. Carril 11 control negativo (Tomado de Barrón *et al.*, 2006).

1.1.7.9 Tratamiento

Generalmente el tratamiento de la TB se realiza con un régimen de múltiples fármacos por un período que va de 6 a 9 meses aproximadamente. Los fármacos antituberculosos de primera línea son Isoniacida, Rifampicina Piracinamida y Etambutol (Tabla 7). Ocasionalmente se utiliza Dapsona. (Miller y Cols., 1996; Bothamley, 2001; Ruiz-Manzano y Cols., 2008).

La siguiente figura muestra el sitio de acción de la INH, RIF, PZA y EMB (Parsons, y Cols., 1997; Somoskovi y Cols., 2001) (Fig. 18).

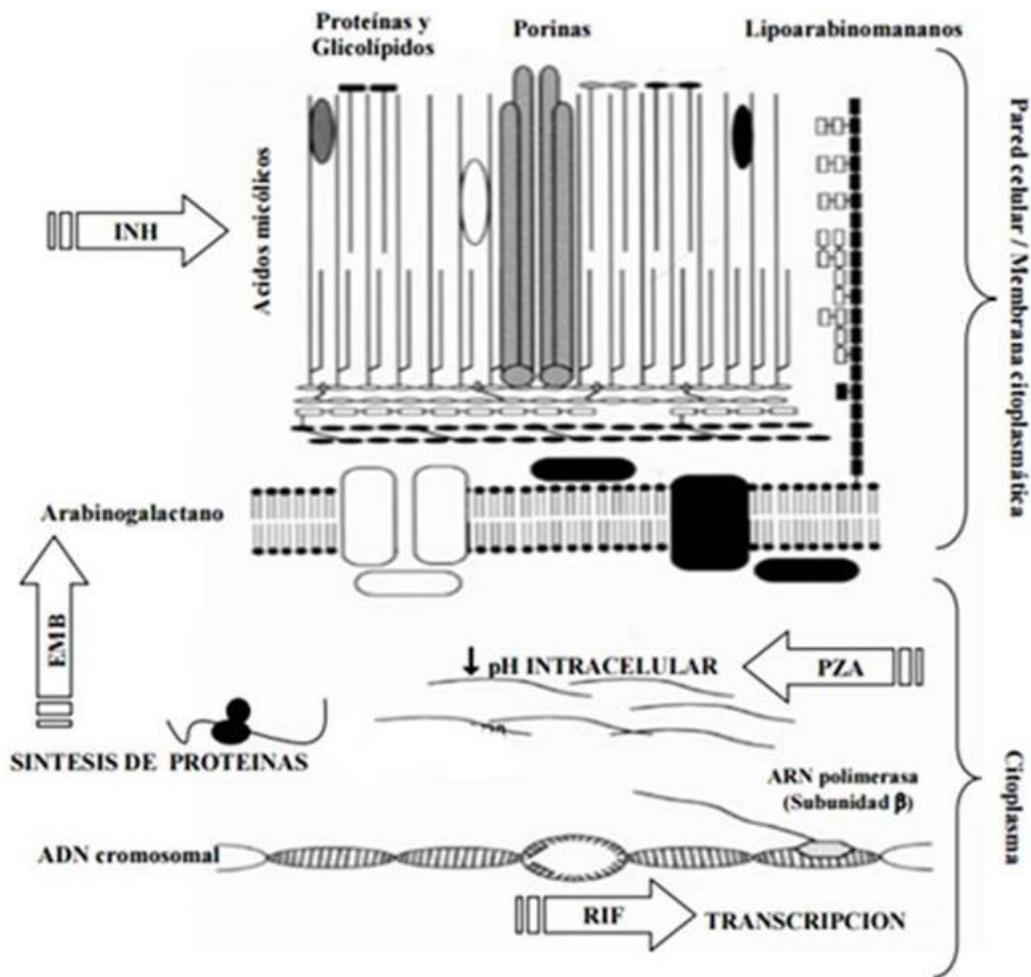
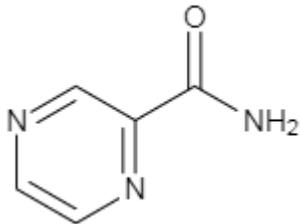
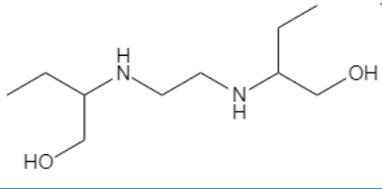


Fig. 18 Sitios de acción de INH, RIF, PZA y EMB (Tomado de Lemus, 2007)

Tabla 7. Clasificación de los fármacos antituberculosos de primera línea		
Antibiótico	Estructura Química	Mecanismo de Acción
Isoniacida		Es un profármaco que requiere catalasa-peroxidasa para su activación. Su mecanismo de acción es el bloqueo de la síntesis de ácidos micólicos. (Zhang, 2005)
Rifampicina		Es un potente inhibidor de la síntesis de ARN mensajero, y por tanto, de la transcripción genética; su mecanismo de acción es el bloqueo del paso de elongación dependiente de ácido desoxirribonucleico (ADN) que es llevado a cabo por la enzima ARN polimerasa de los procariontes. Este fármaco ejerce

		su acción al fijarse a la subunidad β de dicha enzima, codificada por el gen <i>rpoB</i> ; mutaciones en este gen generan altos niveles de resistencia a la RIF (Somoskovi et al., 2001; Coll, 2003).
Pirazinamida		Es un profármaco que es convertida en su forma activa (ácido pirazinoico) por acción de la enzima micobacteriana pirazinamidasa cuando el pH extracelular es ácido. Debido a los ineficientes mecanismos de eflujo, se produce en el citoplasma de <i>M. tuberculosis</i> una acumulación de ácido y por tanto una disminución del pH que trae como consecuencia afectaciones del potencial de membrana y se produce la muerte bacteriana. (Zhang, 2005)
Etambutol		El EMB bloquea la incorporación de los ácidos micólicos al arabinogalactano lo que provoca una inhibición de la biosíntesis de la pared micobacteriana. Es de gran importancia el sinergismo entre el EMB y la estreptomina, ya que, cuando ambos se combinan durante el tratamiento, el EMB en su acción desestabilizadora de la pared micobacteriana produce pequeños poros que favorecen que la estreptomina penetre al interior celular (Chopra y Brennan, 1998).

Otros fármacos utilizados en forma menos frecuente incluyen el Ácido para-aminosalicílico, Etionamida y Cicloserina. Estas drogas son efectivas en el tratamiento de la tuberculosis, pero no deben ser usadas en la paciente embarazada por sus efectos colaterales en el feto. Estreptomina, Kanamicina, Amikacina y Capreomicina no se recomiendan en el embarazo por su potencial efecto ototóxico en el feto (Bothamley, 2001). La Etionamida es otro fármaco utilizado en el tratamiento antituberculoso, el cual ha mostrado efectos teratogénicos en el sistema nervioso central, sistema esquelético y retardo en el crecimiento en ratas

estudiadas. A pesar de los potenciales efectos en el feto de algunas drogas antituberculosas, se ha visto que el tratamiento durante el embarazo es capaz de reducir el impacto perinatal de la enfermedad, tanto en la madre como en el neonato.

Los fármacos antituberculosas de primera línea llegan al lactante a través de la leche materna en proporción variable, pero pueden ser administradas a la madre en forma segura, sin efectos deletéreos para el recién nacido (Figuroa-Damián y Arredondo-García, 1998).

1.1.7.10 Resistencia a los antibióticos

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos.

La tuberculosis (TB) resistente a fármacos es un grave problema de salud pública en muchos países y una amenaza para el control de la TB en el mundo. Para el año 2013, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó la existencia de 480,000 casos nuevos de TB multirresistente a los medicamentos (MDR-TB por sus siglas en inglés) y aproximadamente 210,000 muertes por esta causa. Según los datos del último reporte global de TBC, en el mundo, 3.5% de los casos nuevos y 20.5% de los casos previamente tratados tienen MDR-TB (WHO, 2014).

En 2015 la OMS lanzó el Proyecto Mundial de Vigilancia de la Fármacorresistencia a los Antituberculosos, actualmente recolecta y analiza la información de 144 países que realizan una vigilancia sistemática de la susceptibilidad a fármacos. La forma más común de realizar esta vigilancia en aquellos países que no cuentan con estudios de susceptibilidad rutinarios para todos los pacientes con TB es a través de estudios especiales llevados a cabo cada 3 a 5 años. Sin embargo, varios de los países con alta carga de TB o de MDR-TB sólo recolectan datos a nivel sub-nacional (Brasil, India y la Federación Rusa, entre otros), por lo que aún falta por avanzar en este ámbito.

Son las bacterias, y no los seres humanos ni los animales, las que se vuelven resistentes a los antibióticos. Estas bacterias farmacorresistentes pueden causar infecciones en el ser humano y en los animales y esas infecciones son más difíciles de tratar que las no resistentes.

La resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad. (OMS, 2020. Fecha de consulta: 08/10/21).

Es necesario que se cambie urgentemente la forma de prescribir y utilizar los antibióticos. Aunque se desarrollen nuevos medicamentos, si no se modifican los comportamientos actuales, la resistencia a los antibióticos seguirá representando una grave amenaza. Los cambios de comportamiento también deben incluir medidas destinadas a reducir la propagación de las infecciones, a través de la vacunación, el lavado de las manos, la seguridad de las relaciones sexuales y una buena higiene alimentaria. (OMS, 2020).

La resistencia a los antibióticos está aumentando en todo el mundo a niveles peligrosos. Día tras día están apareciendo y propagándose en todo el planeta nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro nuestra capacidad para tratar las enfermedades infecciosas comunes. Un creciente número de infecciones, como la neumonía, la tuberculosis, la septicemia, la gonorrea o las enfermedades de transmisión alimentaria, son cada vez más difíciles —y a veces imposibles— de tratar, a medida que los antibióticos van perdiendo eficacia. (OMS 2020)

1.2 Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares no filamentosos con una forma esférica u oval típica. Al igual que los hongos filamentosos, las levaduras están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Las levaduras pueden crecer como anaerobios facultativos. Pueden utilizar el oxígeno o un compuesto orgánico como aceptor final de electrones (Tortora y Cols., 2007).

Varían considerablemente en cuanto a tamaño, oscilando entre 1 y 5 μm de anchura y 5 a 30 μm de longitud. Las levaduras no poseen flagelos ni ningún tipo de órgano de locomoción, se reproducen normalmente por bipartición o fisión binaria o por gemación y este tipo de microorganismo puede ser agente causal de infecciones de interés clínico en el ser humano (Montoya, 2008).

1.2.1 Micosis

Toda infección por hongos se denomina micosis. Se les clasifica en cinco grupos según el grado de compromiso tisular y el modo de ingreso en el huésped: sistémicas, subcutáneas, cutáneas, superficiales u oportunistas (Tortora y Cols., 2007).

A continuación, se describirán las levaduras del Género *Cándida* debido a que a pesar de ser un hongo que forma parte de biota de las mucosas del ser humano, bajo ciertas condiciones del huésped puede ocasionar infecciones que van desde leves y auto limitadas hasta complicadas e invasivas bajo condiciones de inmunosupresión por varios factores tales como: enfermedades crónico-degenerativas o infecciones con otros agentes etiológicos, por mencionar solo algunos.

1.2.2 Candidiasis

La candidiasis es una infección micótica ocasionada por *Cándida spp*, en la mayoría de los casos, *C. albicans* (Fig. 19), que se manifiesta por lesiones mucocutáneas, fungemia y, en ocasiones, infección focal de múltiples sitios. Los síntomas dependen del sitio de la infección e incluyen disfagia, lesiones en la piel y la mucosa, ceguera, síntomas vaginales (picazón, ardor, secreción), fiebre, shock, oliguria, cierre renal y coagulación intravascular diseminada (Sanjay y Revankar, 2018).

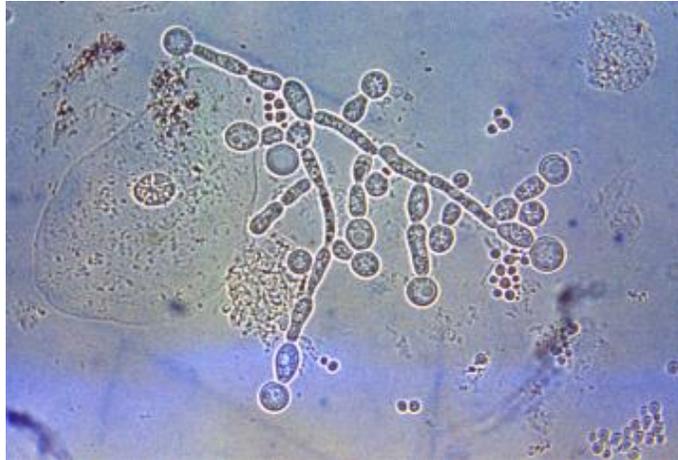


Fig. 19 *C. albicans* (Tomado de CDC Public Health Image Library PHIL.)

Cándida spp., suele estar presente en la piel, en el tracto intestinal y, en las mujeres, en el área genital, que por lo general, en estas áreas no causa problemas. Sin embargo, los hongos a veces causan infecciones de la piel, infecciones de la boca, que afectan las membranas mucosas, o infecciones de la vagina. Estas infecciones son más comunes o persistentes en personas con diabetes, cáncer o SIDA y en mujeres embarazadas (Sanjay y Revankar, 2018).

Se reconocen 200 especies de *Cándida*, pero son diez las que fundamentalmente producen enfermedad infecciosa en el hombre. El tipo de especie predominante varía según la edad del paciente y la zona geográfica. *Cándida albicans* es la especie más frecuente en todas las regiones, en EUA y Europa le siguen en orden de frecuencia *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* (Tortora y Cols., 2007).

Las especies de *Cándida* son responsables aproximadamente del 15 % de todas las infecciones nosocomiales, de más del 72 % de todas las infecciones adquiridas en los hospitales por hongos y del 8-15 % de todas las infecciones del torrente circulatorio; del 25-50 % de las candidemias nosocomiales ocurren en unidades de cuidados intensivos. Las especies de *Cándida* ocupan la cuarta causa más común (7,7 %) de infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo en los EUA y son responsables de la mortalidad cruda más alta (40-60 %) (Roig, 2008).

Con respecto al tratamiento farmacológico para combatir las infecciones ocasionadas por levaduras del Género *Cándida sp*, en los seres humanos se describe a continuación.

1.2.3 Antimicóticos

Las infecciones causadas por las especies de *Cándida* se pueden tratar con fármacos antifúngicos tales como: Clotrimazol, Miconazol, Econazol, Ketoconazol, Oxiconazol, Ciclopirox, Olamina, Nistatina y Anfotericina B. El tratamiento dependerá del sitio afectado (Madigan y Cols., 2009).

Al igual que los antibióticos, los antifúngicos también se clasifican de acuerdo con su mecanismo de acción y por el tipo de familias químicas (Bertram, 2013 y Madigan y Cols., 2019). Los mecanismos de acción de los fármacos antimicóticos se resumen en la Figura 20 y la clasificación por familias se resumen en la Tabla 8.

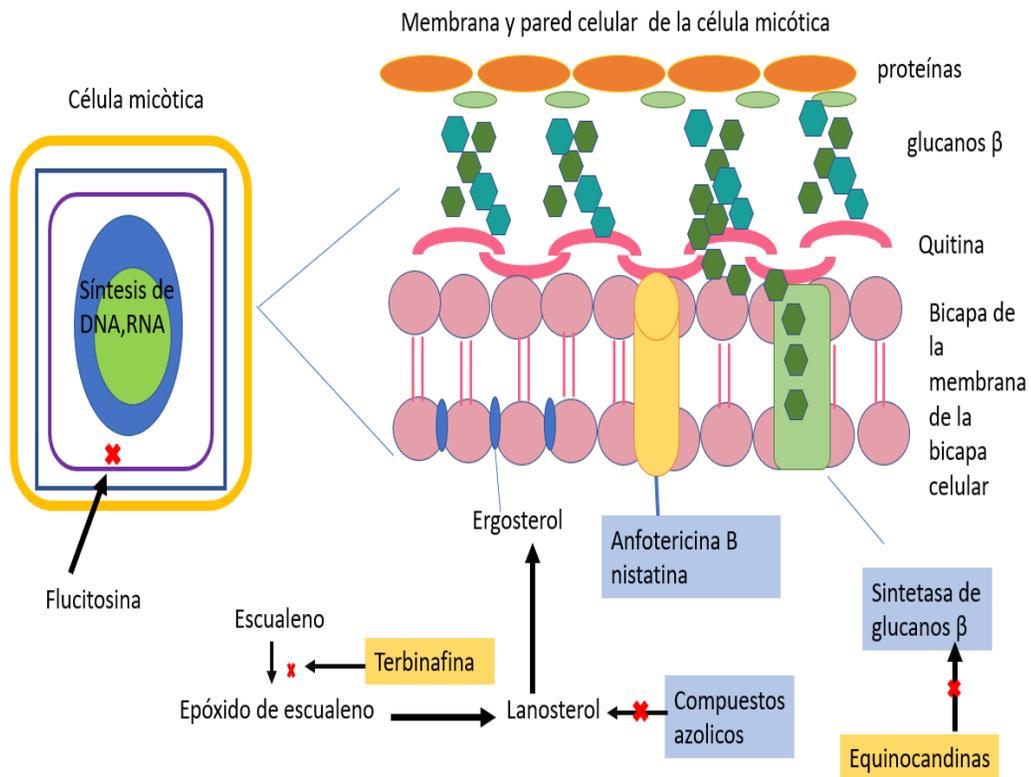
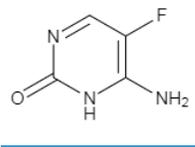
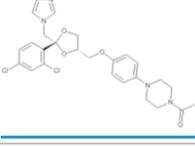
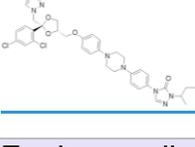
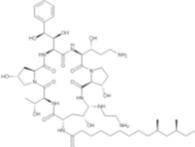


Fig. 20 Mecanismos de acción de los fármacos antimicóticos. (Tomado de Bertram G.)

Tabla 8. Clasificación de los fármacos antimicóticos por familias químicas.

Subclase	Mecanismo de acción	Efectos	Aplicaciones clínicas
Macrólido polienico			
Anfotericina B	Forma poros en las membranas de hongos que contienen ergosterol pero no en las membranas de mamíferos que contienen colesterol	La pérdida del contenido intracelular a través de poros es fungicida. Amplio espectro de acción	Candidemia localizada y sistémica Criptococosis Histoplasmosis Blastomicosis Coccidiosis Aspergiliosis
Análogos de pirimidina			
Flucitosina 	Interfiere con la síntesis de DNA y RNA de manera selectiva en hongos	Sinérgica con anfotericina B Toxicidad sistémica en el hospedador por efectos en el DNA Y RNA	Criptococosis y cromoblastomicosis
Compuestos azolicos			
Ketoconazol 	Bloquea las enzimas p450 de los hongos e interfiere con la síntesis de ergosterol	Poco selectiva interfiere con la función p450 de los mamíferos	Amplio espectro, la toxicidad restringe su uso al tratamiento tópico
Itraconazol 	Bloquea las enzimas p450 de los hongos e interfiere con la síntesis de ergosterol	Mucho más selectivo que el Cetoconazol	Amplio espectro: candidiosis, criptococosis, blastomicosis, histoplasmosis
Equinocandinas			
Caspofungina 	Bloquea la glucosa beta sintetasa	Impide la síntesis de la pared celular de los hongos	Fungicida para <i>Candida</i> sp
(Tomado de Jean L. Bolognia y Cols., 2018)			

1.3 Protozoarios

Los protozoarios, son organismos unicelulares microscópicos que pueden ser de vida libre o de naturaleza parasitaria. Son capaces de multiplicarse en los seres humanos, lo cual contribuye a su supervivencia y también permite que se desarrollen infecciones graves a partir de tan solo un organismo. La transmisión de protozoarios que viven en el intestino humano a otro ser humano generalmente ocurre por la vía fecal-oral (CDC, 2016).

Uno de los protozoarios que puede adquirirse por vía fecal-oral es *Entamoeba histolytica* la cual es una amiba que puede llegar a ocasionar infecciones extraintestinales graves. A continuación, se describen algunas características relevantes de este microorganismo.

1.3.1 *Entamoeba histolytica*

Es un protozoario que contiene pseudópodos a base de material protoplásmico locomotor, tiene dos formas o fases en su ciclo de vida bien establecidas, trofozoíto y el quiste (Figura 21). (Romero y Herrera., 2002).

El trofozoíto es anaerobio facultativo, con forma irregular ameboide alargada y puede medir de 10 a 60 μm de diámetro, aunque el tamaño más habitual es de 12 a 15 μm . En el citoplasma tiene un único núcleo con un cariosoma central, cromatina periférica fina distribuida regularmente y vacuolas que pueden contener los eritrocitos fagocitados del huésped. A partir del citoplasma se forman prolongaciones o pseudópodos con los que se desplaza (Conde y De La Mora, 2016).

El quiste es una estructura esférica tetra nucleada que mide entre 5 y 20 μm , está formada por una cubierta de quitina que les confiere resistencia a condiciones adversas, en este estadio ya no se observan cuerpos cromatoidales ni vacuolas de glucógeno, y puede permanecer viable fuera del hospedero durante semanas o meses y representa la fase infectiva del parásito (Barrón y Cols., 2012).

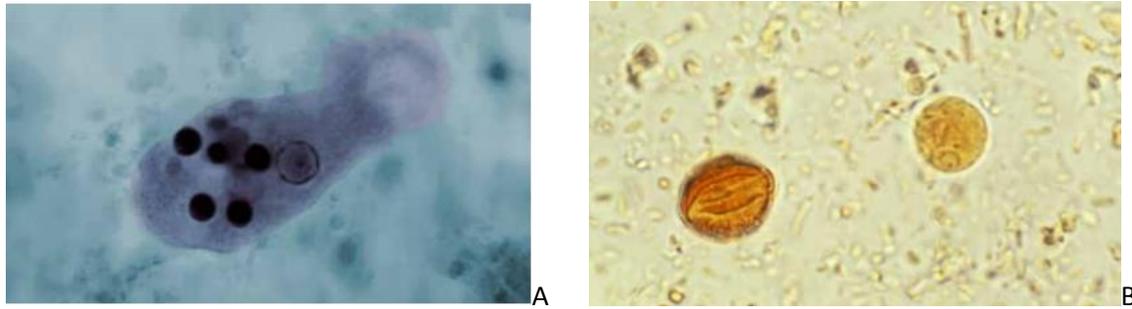


Fig. 21 A) Trofozoíto de *E. histolytica* y B) Quiste de *E. histolytica* Tomado de: CDC Public Health Image Library (PHIL).

1.3.2 Taxonomía de *Entamoeba histolytica*.

La clasificación taxonómica para los protozoarios *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* corresponde a la familia Entamoebidae, del orden Amoebida, subfilum Sarcodina, subclase Gymnamoebia superclase Rhizopoda y clase Lobosea. En el humano sólo tres especies del género *Entamoeba* producen infección: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii*. Su clasificación filogénica la implica entre los organismos eucariotes más primitivos (Ximénez y Cols., 2017).

1.3.3 Ciclo de Vida de *Entamoeba histolytica*.

El ciclo de vida de este protozooario inicia cuando los quistes maduros son ingeridos por un hospedador, estos se desenquistan en el intestino delgado dando lugar a los trofozoítos. Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria y se desplazan hacia el intestino grueso; a medida que avanzan hacia el exterior dejan de alimentarse y se rodean de una pared resistente transformándose así en quistes. Tanto los quistes como los trofozoítos son eliminados en las heces del hospedador. Una vez en el exterior, los trofozoítos apenas sobreviven, y, aunque sean rápidamente ingeridos por un hospedador no son capaces de sobrevivir a la acción de los jugos gástricos. Sin embargo, los quistes sobreviven en el exterior desde horas hasta meses en función de las condiciones ambientales, pero solo los quistes maduros son infecciosos (Instituto Nacional De Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015). El ciclo de vida de *Entamoeba histolytica* se ilustra en la Figura 22.

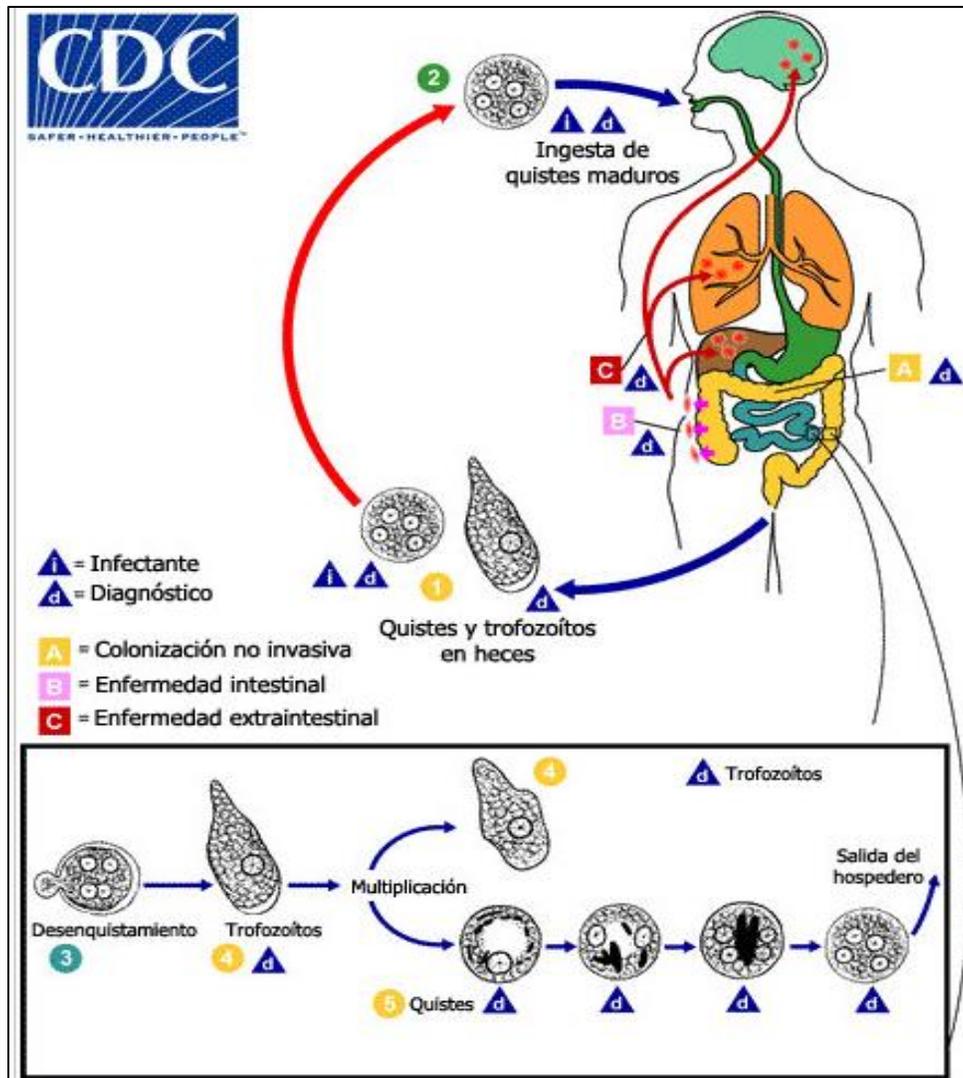


Fig. 22 Ciclo de vida de *E. histolytica* Tomado de: <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html> Fecha de consulta (04/11/2019)

1.3.4 Amibiasis

La amibiasis es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la condición de portar al microorganismo *Entamoeba histolytica*, con o sin manifestaciones clínicas (OMS, 2018).

Este protozoo intestinal tiene una distribución global y especialmente una prevalencia alta en países donde predominan condiciones socioeconómicas y sanitarias pobres. En naciones de primer mundo, esta infección se ha observado en turistas y en inmigrantes provenientes de zonas endémicas. A pesar de que el 90%

de las infecciones amebianas son asintomáticas y auto limitantes, existe un estimado de 50 millones de casos de infección anuales (González y Cols., 2012). La amibiasis está catalogada dentro de "Las enfermedades olvidadas" de América Latina y el Caribe (Barrón y Cols.2012).

1.3.5 Patología

Las dos formas más frecuentes de amebiasis son: a) amebiasis intestinal b) amebiasis extraintestinal como la amibiasis hepática. (Saavedra Emma, 2017)

1.3.6 Amebiasis intestinal

Es la forma sintomática más frecuente de amibiasis y se asocia con una amplia gama de alteraciones anatómicas, que corresponden a alteraciones clínicas como colitis amebiana ulcerativa, megacolon toxico o disentería amebiana fulminante. Asimismo el ameboma es otra forma de amibiasis intestinal que se caracteriza por una masa pseudotumoral que puede producir obstrucción parcial del colon. (Saavedra Emma, 2017).

El daño tisular se inicia después que el parásito se establece en el lumen del intestino, preferentemente en el íleon terminal. Los trofozoítos migran al órgano blanco, que es el intestino grueso, donde colonizan la mucosa intestinal a través del mecanismo de adherencia a la célula epitelial mediada por lectinas, moléculas que se unen a los carbohidratos existentes en la superficie de la célula epitelial intestinal (González y Cols., 2012).

1.3.7 Amibiasis hepática

La forma clínica más frecuente de amibiasis extraintestinal es el absceso hepático amebiano, que involucra al hígado, se presenta debido a la presencia de grandes cantidades de trofozoítos en el hígado, los cuales llegan a este órgano por el sistema porta a partir de ulceraciones intestinales (Perez-Tamayo,1986).

1.3.8 Diagnóstico

El centro para el Control y la Prevención de enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) recomienda el uso de técnicas de microscopia, análisis enzimáticos, inmunodiagnóstico y técnicas de biología molecular para el diagnóstico de esta enfermedad. (www.cdc.gov, 2016).

Las técnicas de diagnóstico parasitológico para protozoarios intestinales pueden dividirse en directas e indirectas. Las directas permiten observar al parásito ya sea como trofozoíto o quiste, en cambio las pruebas indirectas detectan antígenos del parásito o anticuerpos generados en el hospedero producto de la infección. (Chávez, 2008)

Se lleva a cabo mediante técnicas coproparasitológicas, inmunológicas, moleculares e imagenológicas. El diagnóstico definitivo se realiza con base en las manifestaciones clínicas, observación de quistes o trofozoítos obtenidos de muestras fecales, o biopsias de epitelio intestinal (Uribarren, 2017).

Técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) La determinación de anticuerpos séricos anti-amebianos es otra de las estrategias diagnósticas que puede ser de utilidad como apoyo al diagnóstico clínico de amibiasis intestinal o extraintestinal (Ximénez y Cols., 2017).

Técnicas inmunológicas para la detección de *E. histolytica*: En la actualidad se cuenta con estrategias diagnósticas disponibles comercialmente, como la prueba de ELISA que detecta la lectina susceptible de inhibición por galactosa y N-acetilgalactosamina en muestras de heces; esta prueba es muy confiable y tiene una especificidad y sensibilidad de 95 y 100%, respectivamente, para la detección de *E. histolytica*. (Ximénez y Cols., 2007)

1.3.9 Epidemiología de la amibiasis

Alrededor del 10 a 20 por ciento de la población mundial se considera infectada y el 10 por ciento de esta población sufre de enfermedad. La amibiasis intestinal afecta y es más letal en los extremos de la vida, mientras que el absceso hepático es más frecuente en varones entre 30 y 45 años, y se asocia con una alta mortalidad (Conde y De La Mora, 2016).

1.3.10 Epidemiología de la Amebiasis en Mexico

Bajo este contexto, la amebiasis es una enfermedad parasitaria y un problema de salud pública.

En México, la amibiasis es una de las veinte principales causas de enfermedad; sin embargo, el porcentaje de mortalidad debido a complicaciones severas de la amibiasis ha disminuido en los últimos cuarenta años, constituye un problema muy importante de salud pública por su frecuencia y mortalidad (Barrón y Cols., 2012). Los casos relevantes causados *E. histolytica* por entidad federativa muestran en la Tabla 9.

De acuerdo con el Boletín Epidemiológico de la secretaria de Salud (Fig. 23): en lo que va del año en la semana 38 del 2021, los cinco estados con mayor número de casos de amebiasis intestinal fueron: **Chiapas** (12645 casos; 5664 varones y 6981 mujeres); **Oaxaca** (8383 casos; 3612 varones y 4771 mujeres); **Puebla** (7506 casos; 3488 varones y 4018 mujeres); **Veracruz** (7398 casos; 3236 varones y 4162 mujeres) y **Guerrero** (6507 casos; 2800 varones y 3707 mujeres). Siendo el estado de Chiapas con el mayor número de casos reportados

De acuerdo a lo reportado en el Boletín Epidemiológico de la secretaría de Salud, en el estado de Morelos se han reportado 1469 casos de amebiasis intestinal siendo las mujeres las más afectadas en lo que va del año 2021 en la semana 38 ocupando el lugar número 14 de los 32 estados de la república mexicana.

Mientras que los estados con mayor número de casos Absceso Hepático Amebiano fueron **Sinaloa** (42 casos; 35 varones y 7 mujeres); **México** (29 casos; 19 varones y 10 mujeres); **Chihuahua** (25 casos; 17 varones y 8 mujeres); **Sonora** (23 casos; 20 varones y 3 mujeres) y **Colima** (22 casos; 9 varones y 13 mujeres). Siendo el estado de Sinaloa con el mayor número de casos reportados, mientras que en el estado de Morelos solo se ha reportado un caso de un varón en lo que va del año 2021 en la semana 38.

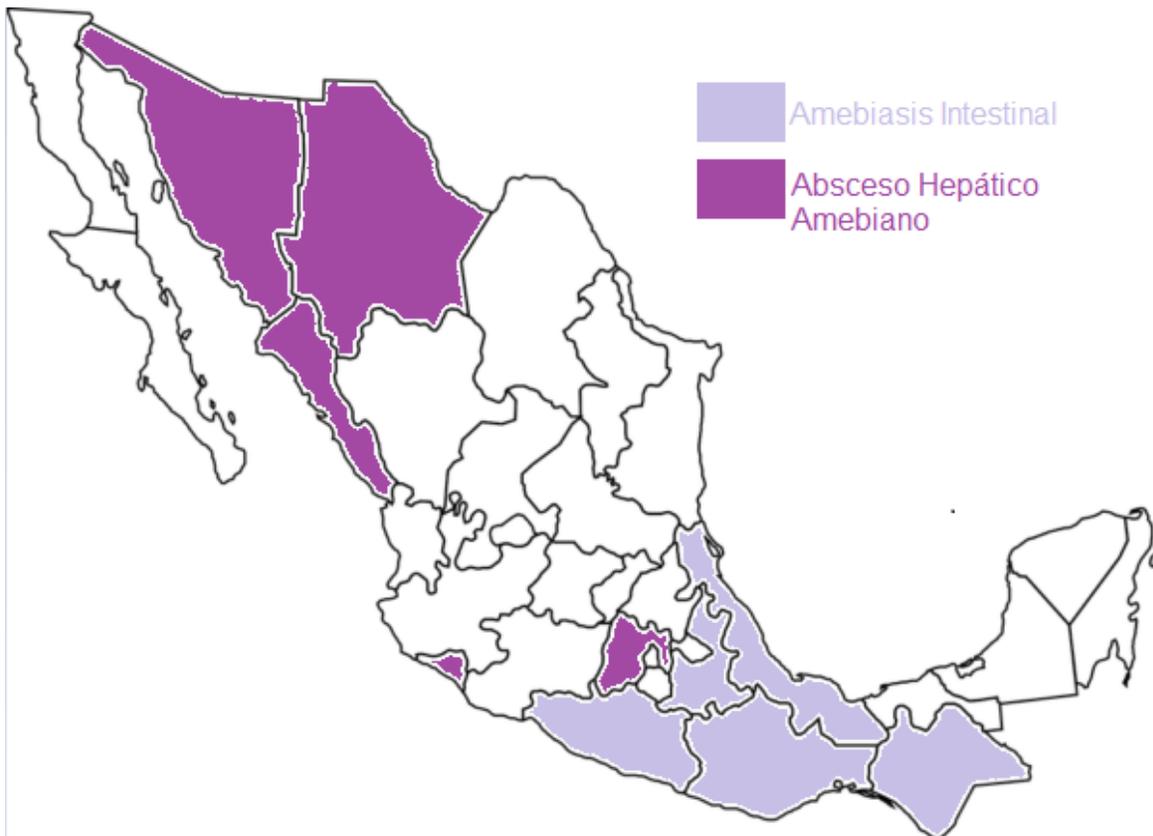


Fig. 23 Estados con mayor número de casos de Amebiasis Intestinal y Absceso Hepático Amebiano (Adaptado de Boletín Epidemiológico, 2021)

Tabla 9. Casos relevantes por Entidad Federativa de enfermedades infecciosas y parasitarias del aparato digestivo hasta la semana 38 del 2021 (Acum.)

Entidad federativa	Intoxicación alimentaria bacteriana CIE-10ªREV. A05			Amebiasis Intestinal CIE-10ªREV. A06-A06.3, A06.9			Absceso Hepático Amebiano CIE-10ªREV. A06.4		
	Sem.	M	F	Sem.	M	F	Sem	M	F
Aguascalientes	-	23	21	12	225	256	-	4	2
Baja California	49	614	690	7	186	227	-	7	4
Baja California Sur	10	99	159	14	226	252	1	2	1
Campeche	-	6	16	40	506	583	-	1	1
Coahuila	94	542	631	26	713	731	-	1	1
Colima	-	1	1	15	242	262	-	1	-
Chiapas	1	74	89	189	5664	6981	1	9	13
Chihuahua	38	1218	1571	24	385	529	-	17	8
Ciudad de México	9	270	333	35	636	705	1	8	2
Durango	-	12	24	18	410	459	-	1	-
Guanajuato	9	234	290	28	532	589	-	6	-
Guerrero	3	203	267	28	2800	3707	-	9	9
Hidalgo	7	26	28	52	940	1275	-	1	3
Jalisco	100	1766	2038	62	1306	1356	-	10	11
México	52	421	542	178	2479	3098	-	19	10
Michoacán	3	57	100	29	613	703	-	9	-
Morelos	1	25	32	26	641	828	-	1	-
Nayarit	-	6	4	32	976	1288	-	-	2
Nuevo León	22	258	380	25	332	365	1	5	5
Oaxaca	13	112	143	186	3612	4771	-	3	3
Puebla	2	72	104	133	3488	4018	-	2	7
Querétaro	1	49	79	10	193	290	-	-	1
Quintana Roo	-	37	5	46	847	892	-	2	3
San Luis Potosí	11	376	350	63	877	959	-	8	1
Sinaloa	4	85	107	59	1110	1183	1	35	7
Sonora	12	278	389	27	507	624	-	20	3
Tabasco	4	32	53	176	2562	3160	-	2	6
Tamaulipas	7	217	217	33	548	761	-	2	2
Tlaxcala	-	3	6	14	285	412	-	-	1
Veracruz	15	142	182	202	3236	4162	-	7	8
Yucatán	5	17	23	43	871	971	-	2	2
Zacatecas	11	220	332	32	473	613	-	1	-
Total	438	7495	9206	1864	38421	47010	-	195	116

Fuente: SINAVE/DGE/Salud 2021. Información preliminar, incluye casos probables.

1.3.11 Tratamiento

La selección de los fármacos para la amibiasis depende del cuadro clínico. El tratamiento de la amibiasis intestinal invasora y del absceso hepático es el Metronidazol, antibiótico del que se han acumulado más de 25 años de experiencia de alta eficacia terapéutica (Ximénez y Cols. 2017).

El Metronidazol o el Tinidazol son los fármacos de elección en el tratamiento de todas las infecciones por *E. histolytica*. Ninguno de los dos fármacos tiene eficacia fiable contra los quistes de este protozoo de tal manera que deben utilizarse con un amebicida luminal como el Furoato de diloxanida y la dicloroacetamida para garantizar la erradicación de la infección. (Tripathi, 2008 y Richard, 2018).

Si bien el Metronidazol y el Tinidazol tienen cierto nivel de actividad contra los quistes de *E. histolytica*, no son suficientes para erradicar los quistes. En consecuencia, se utiliza un segundo fármaco para erradicar los quistes residuales en el intestino (Richard, 2018).

Las opciones para la erradicación del quiste son:

- 650 mg de Yodoquinol por vía oral 3 veces al día después de las comidas en adultos (10 a 13 mg/kg [máximo 2 g/día] por vía oral 3 veces al día en los niños) durante 20 días.
- 8 a 11 mg/kg de Paromomicina por vía oral, 3 veces al día con las comidas, durante 7 días.
- 500 mg de Furoato de diloxanida por vía oral 3 veces al día en adultos (7 mg/kg por vía oral 3 veces al día en los niños) durante 10 días. Los fármacos comúnmente empleados para el tratamiento de la amibiasis se resumen en la Tabla 10 (Bertram y Cols., 2013).

Tabla 10. Fármacos empleados para el tratamiento de la amibiasis de acuerdo al cuadro clínico.

Cuadro clínico	Fármacos de elección y dosis en los adultos	Fármacos alternativos y dosis en los adultos
Infección intestinal Asintomática	Fármaco luminal: Furoato de diloxanida, 2 500 mg tres veces al día durante 10 días o bien Yodoquinol, 650 mg tres veces al día durante 21 días o bien Paromomicina, 10 mg/kg tres veces al día durante siete días	
Infección intestinal leve a moderada	Metronidazol, 750 mg tres veces al día (o 500 mg IV cada 6 h) durante 10 días o bien Tinidazol, 2 g diariamente durante tres días más Fármaco luminal	Fármaco luminal más Tetraciclina, 250 mg tres veces al día durante 10 días o bien Eritromicina, 500 mg cuatro veces al día durante 10 días
Infección intestinal Grave	Metronidazol, 750 mg tres veces al día (o 500 mg IV cada 6 h) durante 10 días o bien Tinidazol, 2 g diariamente durante tres días más Fármaco luminal	Fármaco luminal más Tetraciclina, 250 mg tres veces al día durante 10 días o bien Dehidroemetina ² o emetina, 2 1 mg/kg SC o IM durante tres a cinco días
Absceso hepático, ameboma y otras infecciones extraintestinales	Metronidazol, 750 mg tres veces al día (o 500 mg IV cada 6 h) durante 10 días O bien Tinidazol, 2 g al día durante cinco días más Fármaco luminal	Dehidroemetina ² o emetina, 2 1 mg/kg SC o IM durante ocho a 10 días, seguidos de (sólo absceso hepático) Cloroquina, 500 mg dos veces al día durante dos días y luego 500 mg diariamente durante 21 días más fármaco luminal
(Tomado de Rodríguez Pérez E. 2013)		

1.4 Resistencia Antimicrobiana

La resistencia a los antimicrobianos (o farmacoresistencia) se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones dejen de ser eficaces. Los microorganismos resistentes a la mayoría de los antimicrobianos se conocen como ultrarresistentes. El fenómeno es muy preocupante porque las infecciones por microorganismos resistentes pueden causar la muerte del paciente, transmitirse a otras personas y generar grandes costos tanto para los pacientes como para la sociedad (OMS, 2017).

2. Antecedentes

El descubrimiento de la penicilina en 1929 y su posterior introducción en la clínica supuso una verdadera revolución en el tratamiento de la patología infecciosa. Desde entonces, se han incorporado a la práctica clínica decenas de familias de antimicrobianos, con actividad frente a bacterias, hongos, parásitos y virus. (Calvo y Martínez, 2008).

Esta amplia gama de medicamentos ha repercutido en la inadecuada prescripción y administración de antimicrobianos, ocasionando resistencia antimicrobiana, reduciendo así la cantidad de opciones farmacológicas para el tratamiento de dichas infecciones. Por ello la investigación de nuevos fármacos con actividad antimicrobiana para el tratamiento de infecciones es de vital importancia para combatir esta problemática (Serra, 2017).

A continuación se describe un grupo de fármacos comúnmente empleados para el tratamiento de infecciones ocasionados por bacterias, protozoarios y hongos los cuales han servido como modelo para el desarrollo, síntesis y evaluación de nuevas moléculas con actividad biológica.

2.1 Sulfonas

Constituyen un amplio grupo de fármacos que contienen en su estructura molecular un grupo sulfonamida y que pueden tener diversas indicaciones farmacológicas, siendo especialmente conocidas como antibióticos, siendo uno de los grupos más antiguos y estudiados de antibacterianos (Pérez A.,2000).

Derivan de la Diaminodifenil sulfona (DDS), sintetizada por Fromn y Wittman en 1908. En 1937, Buttle, Stephenson y Foster estudiaron la farmacología y efecto terapéutico en las infecciones estreptocócicas del ratón blanco. En el mismo año Tillinston, buscando derivados menos tóxicos sintetizo el Promín, derivado bisustituído de la Diaminodifenil sulfona, y Faget y col., en 1941 lo aplicaron con éxito en el tratamiento de la lepra lepromatosa en Carvilla. Desde ese entonces, se han buscado y sintetizado derivados mono y bisustituídos de la DDS, con el fin de conseguir mayor eficacia con menor toxicidad (Valdivia, 1996).

La Diaminodifenil sulfona (DDS) es la base de todos los compuestos sulfónicos, siendo su constitución química la siguiente (Figura 24):

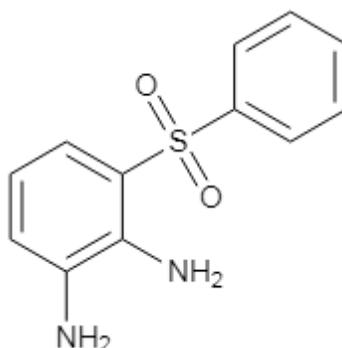


Fig. 24 Estructura química de la Diaminodifenil sulfona (DDS)

2.2. Dapsona

La Dapsona (4,4-diaminodifenilsulfona) es un derivado de anilina que pertenece al grupo de las sulfonas sintéticas, en el contexto farmacéutico es conocido como Dapsona (Sánchez, 2008).

La Dapsona (Fig. 25) es una sulfona con propiedades antibacterianas. Es el principal fármaco recomendado por la Organización Mundial de la Salud para el tratamiento de la lepra. En ocasiones se utiliza para tratar la tuberculosis, especialmente por la resistente a fármacos. Como agente anti-infeccioso, también se utiliza para el tratamiento de la malaria (Drugbank, 2016; Goodman y Gilman, 10ª edición; PLM 50ª edición).

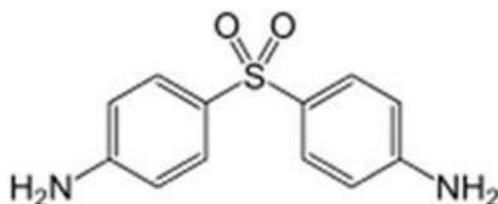


Fig. 25 Estructura química de Dapsona (Drugbank, 2016)

La Dapsona tiene claramente funciones duales de efectos antimicrobianos, antiprotozoarios y características antiinflamatorias de manera similar a los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (Gottfried y Blasum, 2013).

Actualmente el gel tópico de Dapsona al 5% es un antibiótico de sulfona aprobado para el tratamiento del acné vulgar, Su eficacia se atribuye a sus propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas que mejoran tanto el acné inflamatorio como el no inflamatorio (Guerra. y cols, 2015).

2.2.1. Características fisicoquímicas

Las características fisicoquímicas de Dapsona se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11. Características Fisicoquímicas de Dapsona	
Nombre químico	4,4'-diaminodifenilsulfona)
Fórmula molecular	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ S
Peso molecular	248 g/mol
Vida media	28 h
Características físicas	Polvo cristalino, blanco o amarillo pálido, sin olor
Solubilidad	Insoluble en agua
Características especiales	Fotosensible
Drugbank, 2016; Farmacopea, 9ª edición; The Merck Index, 30ª edición	

3.0 Farmacología de la Dapsona

3.1 Farmacodinamia

Es la sulfona más eficaz y menos tóxica. Aunque actúa sobre diversas especies de bacterias, su acción fundamental es sobre *M. leprae*. (CECMED, 2018)

3.2 Mecanismo de acción

Como agente antimicrobiano, la Dapsona tiene acción bacteriostática. Inhibe la síntesis de ácido dihidrofólico al competir con el ácido para-aminobenzoico por el sitio activo de la dihidropteroato sintetasa, asemejándose así a la acción de las sulfonamidas. Se encontró que las sulfonas suprimen el crecimiento de varias bacterias patógenas como estreptococos, estafilococos, neumococos, micobacterias y otras cepas. (Wozel G. y Blasum C., 2013). El mecanismo de acción de la Dapsona se resume en la figura 26.

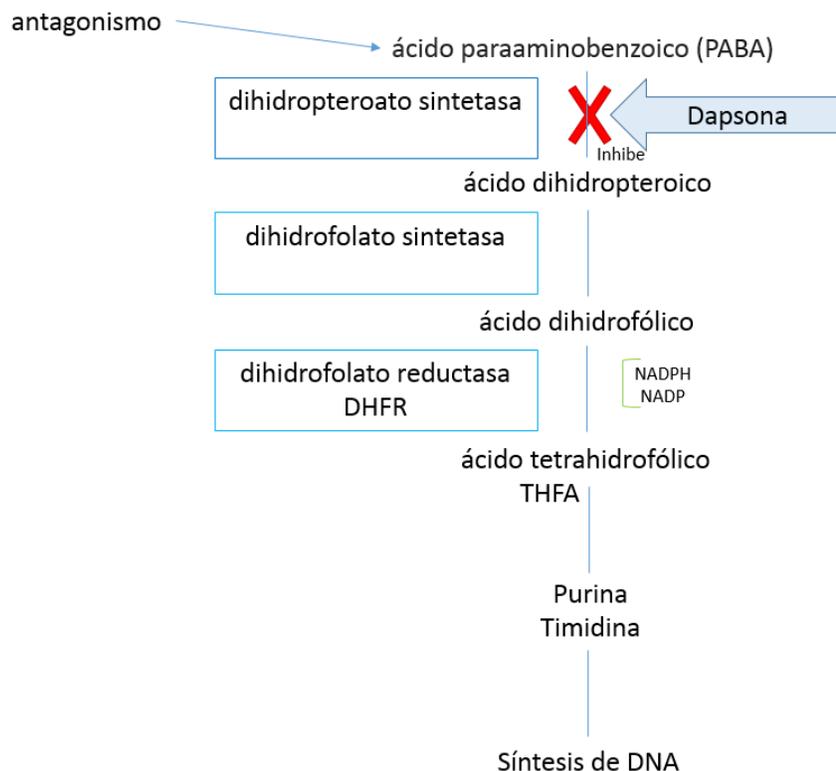


Fig. 26 Mecanismo de acción de Dapsona (Adaptado de Wozel G. y Blasum C. 2013).

La Dapsona produce la depleción del ácido paraaminobenzoico (PABA) en las bacterias y plasmodios, evitando su reproducción. Forma análogos no funcionales del ácido fólico, evitando el desarrollo posterior de la célula bacteriana. (IQB, 2009) El efecto antibacteriano se demostró por su actividad bacteriostática sobre el estreptococo y diversas micobacterias, en especial al *M. Leprae* (Valdivia, 1996).

3.3 Farmacocinética de la Dapsona

Las sulfamidias se administran por vía oral y ocasionalmente por vía intravenosa y tópica. En general se distribuyen bien por todo el organismo y alcanzan concentraciones cercanas al 80% de los niveles séricos en el líquido sinovial, pleural o peritoneal. La concentración en el LCR de sulfadiazina es del 40–60% de las correspondientes concentraciones plasmáticas. Se unen de modo variable y reversible a las proteínas en un 38–48% y los niveles alcanzados en los líquidos orgánicos están inversamente relacionados con el grado de unión a ellas. Atraviesan la barrera placentaria y alcanzan la sangre fetal y el líquido amniótico y pueden producir efectos tóxicos. Se metabolizan en el hígado principalmente por acetilación, aunque también por glucurono conjugación y oxidación. La semivida de eliminación media (Sulfametoxazol, Sulfadiazina) es de 11–24h (Vicentea y Pérez, 2009).

Absorción: Se absorbe lentamente por vía oral y logra una biodisponibilidad del 70 al 80 %. Se necesita un ambiente ácido para su absorción óptima.

Distribución: Se distribuye uniformemente en el agua corporal, concentrándose principalmente en hígado, músculo, hueso y piel. Su unión a proteínas plasmáticas es del 70- 90 %.

Metabolismo: En hígado. La unión a proteínas de la Dapsona 100 mg es de moderada a alta (70 al 90%). La unión a proteínas de la monoacetil Dapsona (MADSS) es muy alta (99%).

Excreción: El 70 a 85 % del fármaco se elimina por vía renal. La vida media de eliminación es de 10 a 50 horas (promedio, 30 horas) tanto para la Dapsona como

para MADDS. El tiempo de concentración pico en la sangre es de 2 a 6 horas, pero variable. (Tomado de: PLM, Vademécum Fecha de consulta 12 octubre 2021).

3.4 Reacciones adversas

El efecto más común de las sulfonas es la hemólisis, que aparece en las personas tratadas con 200 a 300 mg de Dapsona por día o con 50 mg en individuos con déficit de glucosa 6-fosfato dehidrogenasa. La metahemoglobinemia es también frecuente y más intensa en los pacientes con deficiencia genética de la reductasa de la metahemoglobina (Ellenhorn y cols., 1997).

La actividad oxidante de la Dapsona depende de la dosis, por lo cual, en los casos de una ingesta masiva, la metahemoglobina suele ser tan elevada que se observan signos de hipoxia: taquicardia, convulsiones, dolor precordial, depresión del sistema nervioso central (Ellenhorn y *Cols*, 1997).

También, se han observado efectos menos frecuentes: cefalea, insomnio, visión borrosa, parestesias, neuropatía periférica reversible, hematuria, psicosis, síndrome nefrótico, hepatitis e ictericia colestática y síndrome de hipersensibilidad (Cabrera y *Cols*. 1997).

4 Justificación

En México al igual que en otros países en vías de desarrollo las infecciones causadas por bacterias, hongos y parásitos son una de las causas con más frecuencia en la consulta médica, afectando principalmente a poblaciones marginadas, destacando niños, ancianos y personas inmunocomprometidas.

En relación con las infecciones intestinales de etiología bacteriana se sabe que actualmente algunos agentes etiológicos están presentando resistencia a los antibióticos comúnmente empleados para su eliminación lo que las convierte en un problema de salud pública relevante.

Con respecto a las infecciones micóticas causadas por hongos oportunistas como las levaduras del Género *Cándida* sp., también pueden desarrollar resistencia a los tratamientos antifúngicos comúnmente empleados en la prescripción médica.

Por otra parte, cabe destacar que dentro de las infecciones como las parasitarias son consideradas enfermedades desentendidas tales como las parasitosis intestinales y algunas otras son consideradas enfermedades olvidadas.

Diversos factores pueden contribuir a la ineficiencia del tratamiento, el uso indiscriminado de los antimicrobianos poco a poco se ha convertido en la principal causa de este problema de salud pública en la población mexicana y mundial.

En vista de la problemática actual de resistencia antimicrobiana que presentan los microorganismos de interés clínico que afecta gravemente tanto a nivel mundial como nacional, en nuestro grupo de trabajo encabezado por el Dr. Oscar Torres Angeles ha surgido el interés por la búsqueda y evaluación biológica de nuevos compuestos sintéticos con potencial actividad antimicrobiana que puedan servir de modelos para el desarrollo e investigación de nuevas moléculas con aplicaciones terapéuticas.

La Dapsona es una sulfona con propiedades antibacterianas. En ocasiones se utiliza para tratar la tuberculosis, especialmente por la resistente a fármacos. Como agente anti-infeccioso, también se utiliza para el tratamiento de la malaria. Con base a su mecanismo de acción se considera la Dapsona como una molécula modelo para diseñar nuevas series de compuestos con potencial actividad antimicrobiana.

El grupo de trabajo encabezado por el Dr. Jesús Rivera Islas y la Dra. Virginia Flores Morales sintetizaron nuevos compuestos empleando como molécula base la del fármaco Dapsona

Se llevó a cabo la evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de una serie de compuestos sintéticos de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico empleando como modelo de evaluación cultivos de microorganismos aislados de casos clínicos: *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, *M. fortuitum*, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*, y *E. histolytica* como posibles agentes antimicrobianos.

Nuestro trabajo sobre el efecto antibacteriano de compuestos derivados de Dapsona tiene relevancia por su contribución en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos para el tratamiento farmacológico de las infecciones de etiología bacteriana, micótica y parasitaria.

Tomando como referencia los antecedentes del efecto antimicrobiano que presenta la Dapsona podemos proponer una estrategia que ponga a prueba el efecto biológico de derivados de Dapsona.

5 Hipótesis

Los compuestos derivados de Dapsona: Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico presentan efecto antimicrobiano sobre bacterias levaduras y protozoarios.

6 Objetivo General

Evaluar la actividad antimicrobiana de 5 compuestos derivados de Dapsona sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, Levaduras y protozoarios.

6.1 Objetivos Particulares

1. Evaluar la actividad antibacteriana, de 5 compuestos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4, sobre bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. subtilis*) y sobre bacterias Gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*) mediante la técnica de micro dilución en placa.
2. Evaluar la actividad antibacteriana, de 5 compuestos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4, sobre bacterias bacilos alcohol resistentes (*M. fortuitum*) mediante la técnica de micro dilución en placa.
3. Evaluar la actividad antifúngica de 5 compuestos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4, sobre especies de *Cándida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*) mediante la técnica de micro dilución en placa.
4. Evaluar la actividad antiparasitaria de 5 compuestos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4, sobre trofozoítos de *E. histolytica* mediante la técnica de micro dilución en placa.

7. Metodología

7.1 Materiales y Métodos

La estrategia experimental se ilustra en la Figura 27.

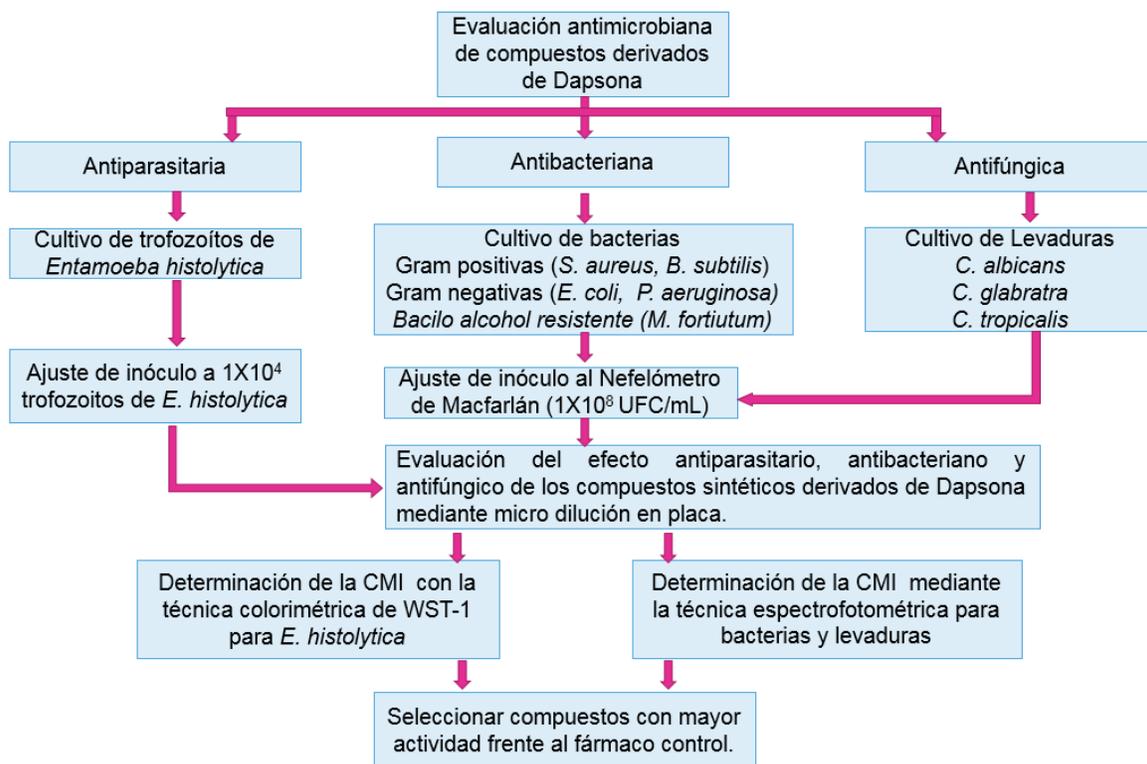


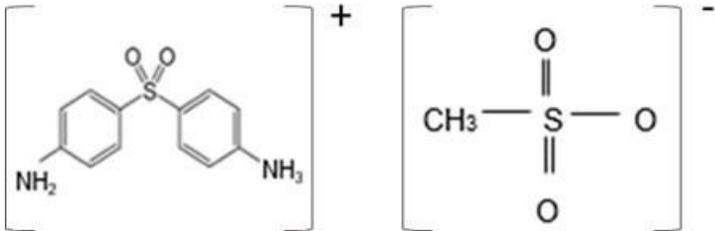
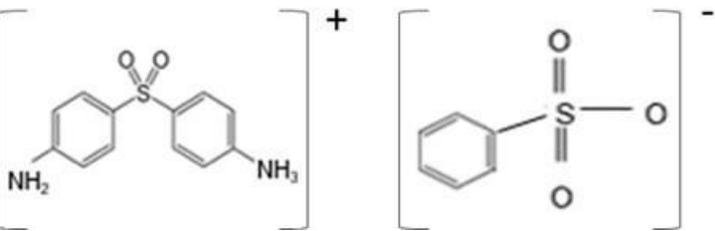
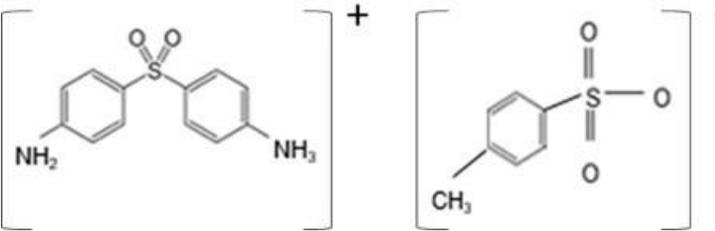
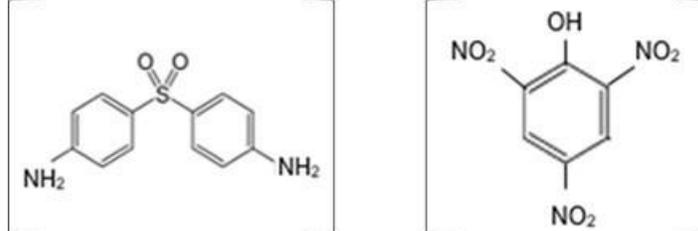
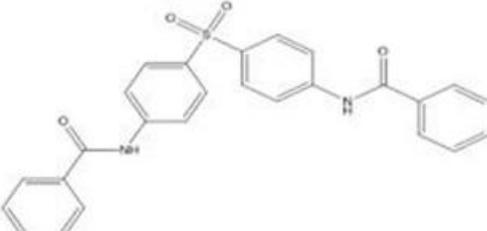
Fig. 27 Estrategia experimental

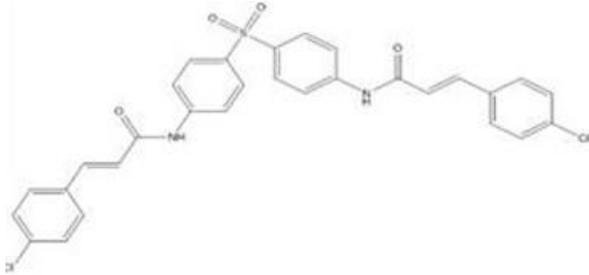
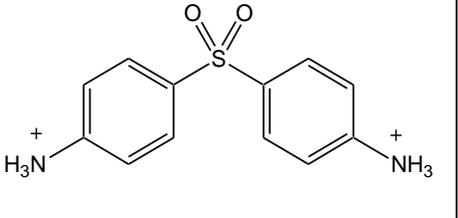
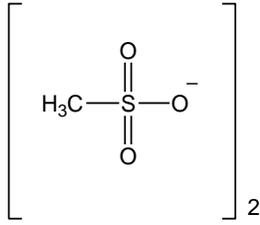
7.2 Compuestos a evaluar

Los compuestos derivados de Dapsona evaluados en el presente trabajo fueron sintetizados y proporcionados por el grupo de trabajo del Dr. Jesús Rivera Islas del laboratorio 4 de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y el grupo de trabajo de la Dra. Virginia Flores Morales de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Los compuestos empleados en las evaluaciones del presente trabajo fueron sintetizados a partir del fármaco Dapsona y se muestran en la (Tabla 12).

En este estudio los compuestos se proporcionaron en forma sólida (polvo) etiquetados con su respectivo código, estructura y peso molecular.

Tabla 12. Compuestos sintetizados de Dapsona. Se muestra el nombre de los compuestos sintetizados, el peso molecular expresado en gramos por mol (PM g/mol) y su estructura

NOMBRE	PM g/mol	ESTRUCTURA
Mesilato de dapsona	344	
Besilato de dapsona	401	
Tosilato de Dapsona	416	
Dapsona pícrico	475	
Dap-04	446	

Dap-10	564		
MD-II	345		

7.3 Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano

7.3.1 Microorganismos

Los microorganismos fueron recuperados del cepario de Laboratorio 9 de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la UAEM. Para recuperar los microorganismos se descongelaron a temperatura ambiente y posteriormente se sembraron en el medio específico para cada uno de ellos.

7.3.2 Descongelación de las cepas

Los criotubos que contenían las cepas bacterianas se dejaron descongelar a temperatura ambiente y se colocaron en caldo TSA estéril. Se tomaron 5mL de caldo TSA a temperatura ambiente y se colocaron en tubos estériles (Corning) posterior a ello se adicionaron 5µL de inóculo bacteriano, se dejaron en incubación por 24h a 37°C. Por último, se hizo el aislamiento por dilución en los medio de cultivo incubándose por 24 h a 37°C y se verifico la pureza de las cepas empleando pruebas bioquímicas para su identificación.

7.3.3 Preparación de soluciones stock de los compuestos a evaluar

Se prepararon soluciones stock a una concentración de 1mg/mL de los compuestos Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4. Así como de Trimetoprim-sulfametoxazol empleado como control positivo de inhibición de

crecimiento, disueltos en Dimetilsulfoxido (DMSO) al 0.1% y medio de cultivo líquido Mueller Hinton (Becton Dickinson) , dichas soluciones fueron almacenadas a -20° C para su posterior uso.

7.3.4 Preparación del inóculo de las bacterias

Se emplearon cultivos de 24 horas de incubación a 37°C de las bacterias *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* en medio de cultivo Mueller Hinton (Becton Dickinson).

Por cada cepa se preparó una suspensión bacteriana ajustadas a 0.5 en la escala de Mc Farland (1×10^8 UFC/mL).

7.3.5 Ensayo del efecto antibacteriano

Para evaluar la actividad antibacteriana de los 5 compuestos derivados de Dapsona se empleó la técnica de micro dilución en placa de 96 pozos (Corning Costar cat.3596) de acuerdo con los lineamientos establecidos por la CLSI m100-s20.

Inicialmente se adiciono a cada uno de los 96 pozos 100µL de caldo Mueller Hinton (Becton Dickinson). Posteriormente se adicionaron 100µL del compuesto a evaluar en el primer pozo, en seguida se hicieron diluciones seriadas para obtener el rango de concentraciones de los compuestos desde 64 µL/mL hasta 0.125 µL/mL. Por último, se agregaron 100 µL de la respectiva suspensión bacteriana previamente ajustada en la escala de Mac Farland a 0.5 con un rango de absorbancia de 0.08 - 0.120nm.

En cada uno de los ensayos se incluyó un grupo control de crecimiento (suspensión bacteriana más caldo Mueller Hinton sin tratamiento, así como un grupo control con tratamiento empleando como fármaco estándar para las cepas, Trimetoprim con sulfametoxazol (160mg/800mg) a una concentración desde 64µL/mL a 0.125 µL/mL y un blanco de medio de cultivo Mueller Hinton (sin bacteria ni tratamiento), posteriormente las placas se incubaron durante 48 horas a 37°C.

Pasado el tiempo de incubación, se midieron las absorbancias en cada pozo empleando el lector de placas ELx808 (BioTec) a una longitud de onda de 630nm, para determinar la concentración más baja a la cual se inhibió el crecimiento bacteriano tomándose esta última como la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) los resultados obtenidos se reportaron en el orden de µg/mL. El ensayo se realizó por triplicado (Tres ensayos independientes), se determinó la media y la desviación estándar.

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \left[\frac{DO \text{ problema} - DO \text{ blanco}}{DO \text{ control} - DO \text{ blanco}} \times 100 \right]$$

7.3.6 Evaluación *in vitro* de la actividad anti *Mycobacterium*

7.3.6.1. Soluciones stock

Se prepararon soluciones stock de 1 mg/ml de los compuestos sintéticos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4 disueltos en dimetilsulfóxido (DMS, Sigma Aldrich) al 0.1% y medio de cultivo (caldo Mueller Hinton). Las soluciones se filtraron con membranas de 0.45 µm estériles (titAn2, Leacsa S.A. de C.V.) y se almacenaron a -20°C hasta su posterior uso.

7.3.6.2. Condiciones de cultivo de *Mycobacterium fortuitum*

Se emplearon cultivos de *M. fortuitum* en medio de cultivo sólido (Agar TSA + sangre de cordero) las cajas se incubaron a 37° por 48 hrs

7.3.6.3. Ensayos de actividad anti *Mycobacterium*

La evaluación de la actividad anti *Mycobacterium* de los compuestos sintetizados de Dapsona, se realizó mediante la técnica de microdilución en placa de 96 pozos. Inóculos de 1x10⁸ UFC/mL (0.5 de estándar de Mac Farland) de *M. fortuitum* se adicionaron en cada pozo de la placa y se retaron a diferentes concentraciones (0.125 – 64 µg/mL) de los compuestos a evaluar por 48 horas a 37°C.

En cada ensayo se incluyó un grupo control de crecimiento (*M. fortuitum* sin tratamiento), un blanco (medio de cultivo sin *M. fortuitum* y sin compuesto) y Dapsona como fármaco de referencia. La actividad anti *Mycobacterium* de los compuestos a evaluar se determinó empleando la técnica colorimétrica de WST-1 (Millipore, S.A. de C.V.).

Las densidades ópticas (DO) en cada uno de los pozos se obtuvieron mediante un lector de placas (Biorad, Ultramark) a 490 nm. El porcentaje de inhibición de cada una de las concentraciones de los compuestos a evaluar se determinó a partir de las densidades ópticas del grupo control de crecimiento (*M. fortuitum* sin tratamiento) y de los grupos tratados mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \left[\frac{DO \text{ problema} - DO \text{ blanco}}{DO \text{ control} - DO \text{ blanco}} \times 100 \right]$$

A partir de los porcentajes de inhibición se determinó la CMI, CI₉₀ y CI₅₀ que se define CMI como la concentración de compuesto que inhibe el crecimiento del 100%, la CI₉₀ como la concentración de compuesto que inhibe el crecimiento del 90% y la CI₅₀ como la concentración de compuesto que inhibe el crecimiento del 50% de *M. fortuitum*. Este parámetro se calculó mediante regresión lineal entre las concentraciones empleadas y los porcentajes de inhibición. El ensayo se realizó por triplicado (Tres ensayos independientes), se determinó la media y la desviación estándar.

7.4 Evaluación *in vitro* del efecto antifúngico

Para la obtención de cultivos puros de *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis* y *Cándida glabrata* se empleó la técnica de aislamiento por dilución en los medios de cultivo Dextrosa Sabouraud (DS) y TSA.

7.4.1 Descongelación de las cepas.

Se descongelaron los criotubos que contenían las cepas de *Cándida* a temperatura ambiente y se preparó caldo Dextrosa Sabouraud (DS) estéril. Se tomaron 5mL de caldo DS a temperatura ambiente y se colocaron en tubos estériles (Corning) posterior a ello se adicionaron 5µL de inóculo de *Cándida*, se dejaron en incubación por 24h a 37°C. Por último, se hizo el aislamiento por dilución en medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud (DSA) incubándose por 24 h a 37°C.

7.4.2 Preparación de Soluciones stock de los compuestos a evaluar.

Se prepararon soluciones stock a una concentración de 1mg/mL de cada uno de los 5 compuestos derivados de Dapsona, Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4, así como de Fluconazol empleado como control positivo de inhibición, disueltos en DMSO al 1.0 % y medio de cultivo RPMI 1640 (*In Vitro S.A*) fresco. Las soluciones se almacenaron a -20°C para su uso posterior.

7.4.3 Preparación de medio de cultivo RPMI 1640

Se preparó medio de cultivo RPMI 1640(*In Vitro s.a.*) utilizando una proporción 1:10 de medio RPMI 1640 con agua destilada estéril, el pH se ajustó a 7.4 y se esterilizó empleando filtros con membrana de 0.22µm, todo lo anterior se realizó bajo condiciones de esterilidad.

7.4.4 Preparación del inóculo de las levaduras

Se emplearon cultivos de *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis* y *Cándida glabrata*, en medio de cultivo RPMI 1640. Por cada cepa se preparó una suspensión de levaduras ajustada a 0.5 en la escala de Mc Farland (1×10^8 UFC/mL) (Backeys y Cols., 2014).

7.4.5 Ensayo del efecto antifúngico

Para la evaluación de los 5 compuestos derivados de Dapsona: Mesilato, Besilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona pícrico y Dapsona 4, contra las levaduras *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis* y *Cándida glabrata* se empleó la técnica de micro dilución en placas de 96 pozos (Corning costar cat.3596) bajo los lineamientos establecidos por el CLSI M27-A3 .

Se adicionó a cada uno de los 96 pozos 100µL de medio de cultivo RPMI 1640. Posteriormente se adicionaron 100µL del compuesto a evaluar, en seguida se hicieron diluciones seriadas dobles para obtener el rango de concentraciones de los compuestos desde 64 µL/mL a 0.125 µL/mL. Por último, se agregaron 100 µL de la respectiva suspensión de levaduras ajustada a 0.5 en la escala de Mac Farland.

En cada uno de los ensayos se incluyó un grupo control de crecimiento (suspensión de levaduras más medio de cultivo RPMI 1640, sin tratamiento) así como un grupo control con tratamiento empleando como fármaco estándar para las cepas, Fluconazol a una concentración desde 64µL/mL a 0.0125 µL/mL y un blanco (medio de cultivo sin levadura ni tratamiento) utilizando medio de cultivo RPMI 1640, las placas se incubaron durante 48 horas a 37°C.

Posterior al tiempo de incubación, se midieron las absorbancias de cada pozo empleando el lector de placas (ELx808 BioTec) a una longitud de onda de 490nm, para determinar la concentración más baja a la cual se inhibió el crecimiento de las levaduras tomándose esta última como la concentración mínima inhibitoria (CMI).

La cual se reportó en µg/mL. El ensayo se realizó por triplicado (Tres ensayos independientes), se determinó la media y la desviación estándar.

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \left[\frac{DO \text{ problema} - DO \text{ blanco}}{DO \text{ control} - DO \text{ blanco}} \times 100 \right]$$

7.5 Evaluación *in vitro* de la actividad antiparasitaria

Para la evaluación de 3 compuestos derivados de Dapsona contra trofozoítos de *E. histolytica* se empleó la técnica de micro dilución en placas de 96 pozos.

Para realizar los ensayos se emplearon cultivos de trofozoítos de *E. histolytica* cepa HM1: IMSS en fase logarítmica. Se obtuvieron cultivos axénicos en medio BIS-33 ajustado a pH de 6.8 complementado al 15% con suero de ternera adicionados con una mezcla de antibióticos penicilina, estreptomicina y anfotericina B, incubados a 37°C por 48 h.

7.5.1 Preparación de las Soluciones Stock de los compuestos a evaluar

Se prepararon soluciones Stock a una concentración de 1mg/mL de 3 compuestos derivados de Dapsona, Mesilato, Besilato y Tosilato de Dapsona, así como de Metronidazol empleado como control positivo de inhibición de crecimiento, disueltos en Dimetilsulfoxido (DMSO) al 1.0 % y medio de cultivo BI-S 33 fresco, dichas soluciones fueron almacenadas a -20° C para su posterior uso.

7.5.2 Ensayo del efecto antiparasitario

Para realizar el ensayo de la evaluación del efecto antiparasitario de los 3 compuestos derivados de Dapsona se empleó la técnica de micro dilución en placa de 96 pozos (Corning Costar cat.3596) (Beneré y col., 2007).

Como primer paso se llevó a cabo la recuperación de los trofozoítos presentes en las paredes de los tubos de cultivo, los tubos se colocaron durante 10 minutos en un baño de agua-hielo, (evitando que el agua los cubriera, entrando en ellos y estos se pudieran contaminar), pasado el tiempo, se procedió a homogenizar el cultivo dando pequeños golpes con la palma de la mano rotando él tubo para que se efectuara el total desprendimiento.

La viabilidad de las células y la cuantificación de trofozoítos/mL se determinó empleando la cámara de Neubauer utilizando el colorante azul de tripano (In Vitro, S.A de C.V). Posteriormente se preparó una suspensión de amibas con una

densidad de 1×10^5 trofozoítos/ ml y se adicionó 100 μ l de esta suspensión en cada uno de los pozos de la placa.

Para realizar evaluación de la actividad antiparasitaria se adicionaron a cada pozo 100 μ L de medio de cultivo BIS-33 complementado con suero de ternera al 15 %. Posteriormente se adicionaron 100 μ L del compuesto a evaluar y se realizaron diluciones seriadas dobles para obtener las concentraciones a las que se evaluaron los compuestos (64 μ g/mL- 0.125 μ g/mL), por último, se adiciono un volumen de 100 μ L que contenía aproximadamente un inóculo de 1×10^4 trofozoítos de *E. histolytica*. Cada placa de cultivo se dejó incubando a 37°C durante 48h en atmosferas de CO₂ al 5%.

Por cada ensayo se incluyó un grupo control sin tratamiento, es decir medio de cultivo e inóculos de trofozoítos, un grupo con tratamiento utilizando Metronidazol a una concentración desde 64 μ L/mL a 0.125 μ L/mL como fármaco de control positivo de inhibición y un blanco de medio de cultivo BIS-33.

Tras el periodo de incubación la placa fue revisada con el microscopio invertido con la finalidad de observar el crecimiento de los trofozoítos en cada uno de los pozos ,posterior a ello se procedió a determinar la actividad antiparasitaria empleando la técnica colorimétrica WST-1, la cual tiene como fundamento la degradación de las sales de tetrazolio WST-1[2-(4-yodofenil)-3(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolio]a sales de formazán, mediante la acción de las deshidrogenasas mitocondriales, que se producen de manera natural cuando una célula es viable (Cell proliferation assay Kit.Millipore,S.A de C.V).La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido de color purpura el cual se mide a 490nm.

Transcurridas las 48 h después de la exposición de los trofozoítos con los compuestos a evaluar, a cada pozo se les adiciono 10 μ L del reactivo WST-1 y las placas se incubaron durante 4 horas protegidas de la luz.

Para determinar la densidad óptica de cada uno de los pozos se empleó un lector de placas (Elx808 Bio Tek) a 490 nm y se determinó la concentración más baja a la cual se inhibió el crecimiento de los trofozoítos tomándose como la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la cual se reportó en $\mu\text{g/mL}$. El ensayo se realizó por triplicado (Tres ensayos independientes), se determinó la media y la desviación estándar.

8 Resultados

8.1 Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano

La evaluación de los compuestos en estudio se realizó en las cepas; *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

De los cinco compuestos derivados de Dapsona que se evaluaron para el efecto antibacteriano ninguno mostró actividad antibacteriana a las concentraciones evaluadas en el presente trabajo. En comparación con el fármaco estándar Trimetoprim-sulfametoxazol que presentó una actividad en el rango de 0.5 a 64 $\mu\text{g/mL}$ para las cepas *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*. En la figura 28 se ilustra una de las placas empleadas en los ensayos y en la Tabla 13 se resumen los resultados obtenidos para cada bacteria.

Rangos de Concentración evaluados en $\mu\text{g/mL}$

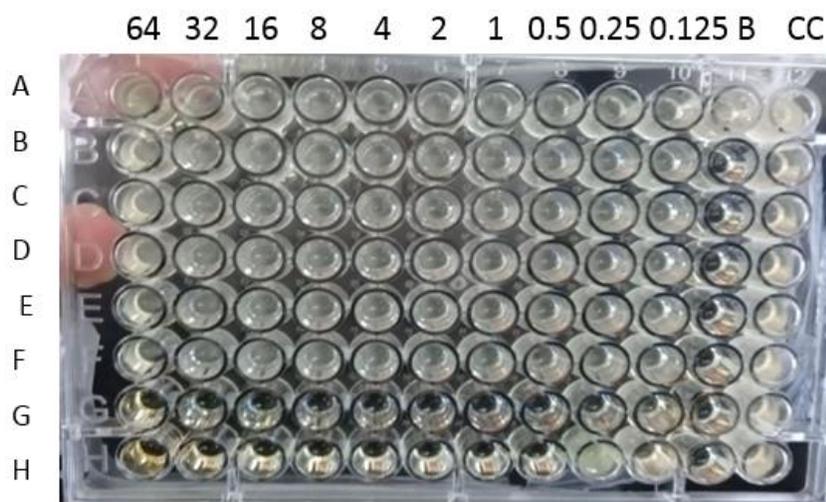


Fig. 28 Evaluación del efecto antimicrobiano de: A-B) Mesilato de Dapsona; C-D) Besilato de Dapsona; E-F) Tosilato de Dapsona y G-H) fármaco control: Trimetoprim- Sulfametoxazol contra *Staphylococcus aureus*. Columna 11: blanco de cultivo (B); Columna 12; control de crecimiento (C.C)

Tabla 13: Evaluación antibacteriana de compuestos derivados de Dapsona.

Compuesto	Concentracion Minima Inhibitoria (µg/mL)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Besilato de Dapsona	>64	>64	>64	>64
Mesilato de Dapsona	>64	>64	>64	>64
Tosilato de Dapsona	>64	>64	>64	>64
Dapsona 4	>64	>64	>64	>64
Dapsona pícrico	>64	>64	>64	>64
Dap-10	NE	NE	NE	NE
MD-II	NE	NE	NE	NE
Trimetoprim-sulfametoxazol	0.5	1	32	64

NE: no evaluado; >: mayor a; µg/mL: microgramos por mililitro

8.1.1 Evaluación in vitro del efecto antimicobacteriana

Se estandarizó las condiciones de cultivo de la cepa de *M. fortuitum* y las condiciones de ensayo para la evaluación de los compuestos derivados de dapsona. Posteriormente se realizaron los ensayos de inhibición del fármaco control (Dapsona) y de los cinco compuestos en cultivo de *M. fortuitum*.

Como se puede observar, los compuestos Mesilato, Besilato de dapsona y dapsona pícrico mostraron una CMI de 64 µg/mL; por otro lado la Dapsona (fármaco control) presentó una CMI de 32 µg/mL (Fig. 29).

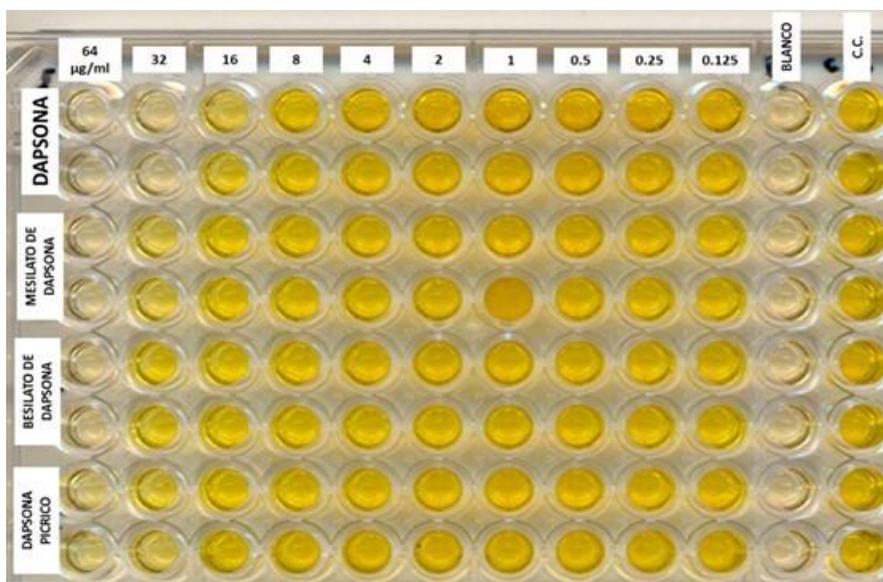


Fig. 29 Evaluación de Mesilato de dapsona, Besilato de dapsona, Dapsona picrico y Dapsona (fármaco control)

Los compuestos Dap-04 y Dap-10 no mostraron inhibición a los 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por lo que se tomó la decisión de repetir el ensayo utilizando concentraciones más altas. Por el contrario, Tosilato de dapsona presentó una CMI de 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Fig. 30).



Fig. 30 Evaluación de Dap-04, Dap-10, Tosilato de dapsona y Dapsona (fármaco control)

Como se mencionó anteriormente, el ensayo de los compuestos Dap-04 y Dap-10 se repitió utilizando nuevas concentraciones, y con esto se pudo determinar que la CMI de ambos compuestos es de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Fig. 31).

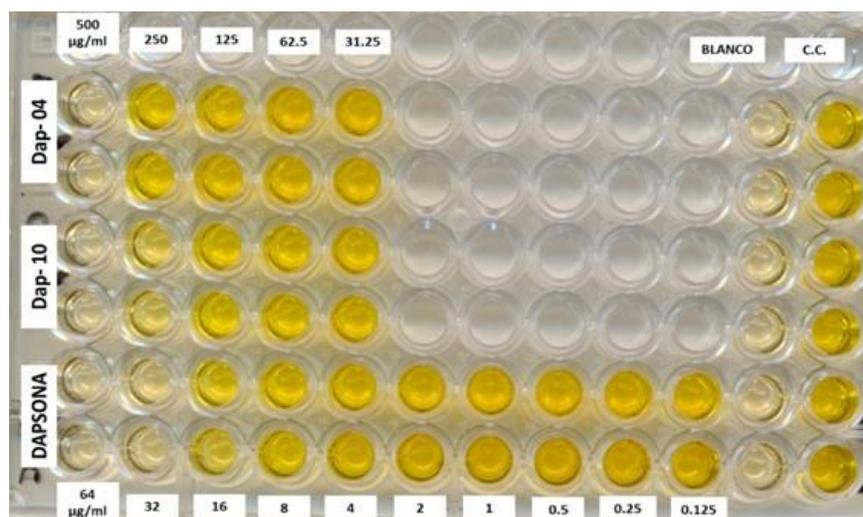


Fig. 31 Evaluación de Dap-04, Dap-10 y fármaco control (Dapsona)

Por último, se realizó la evaluación del compuesto MD-II y se determinó que la CMI es de 32 µg/mL (Fig. 32).

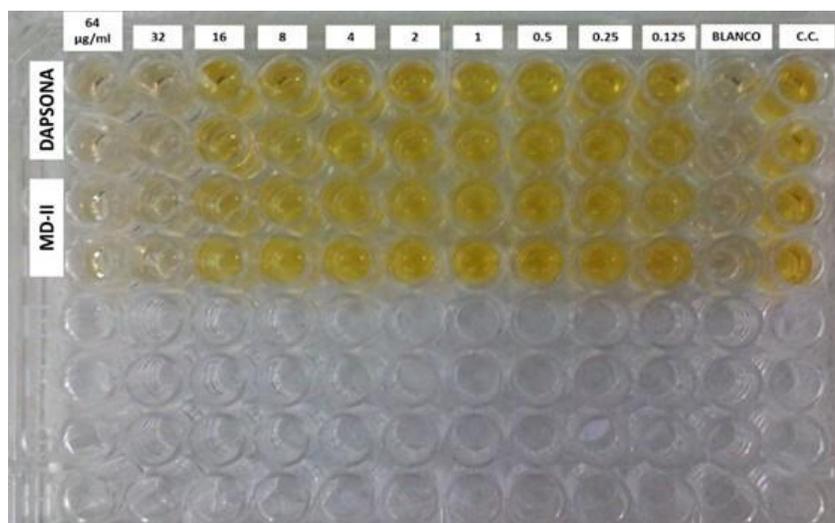


Fig. 32 Evaluación de MD-II y fármaco control (Dapsona)

Los resultados obtenidos de los ensayos de inhibición se resumen en la Tabla. 14.

Tabla 14. Evaluación antimicrobacteriana de compuestos derivados de Dapsona.			
Compuesto	Concentración Mínima Inhibitoria (µg/ml)	Cl ₉₀ µg/mL (± D.E.)	Cl ₅₀ µg/mL (± D.E.)
Besilato de Dapsona	64 (± 0.005)	55.08 (± 83.02)	7.43 (± 1.65)
Mesilato de Dapsona	64 (± 0.0003)	55.41 (± 104.43)	7.17 (± 4.46)
Tosilato de Dapsona	32 (± 0.002)	16.82 (± 2.6)	1.39 (± 0.16)
Dapsona 4	500 (± 0.002)	382.75 (± 157.46)	130.39 (± 31.41)
Dapsona pícrico	64 (± 0.001)	52.42 (± 38.73)	6.61 (± 0.79)
Dap-10	500 (± 0.002)	362.89 (± 10.57)	107.36 (± 5.87)
MD-II	32 (± 0)	27.02 (± 46.19)	9.48 (± 1.41)
Dapsona	32 (± 0.007)	29.78 (± 6.56)	5.71 (± 0.183)

NE: no evaluado; >: mayor a; µg/ml: microgramos por mililitro

Como se puede observar, los compuestos que presentaron mejor actividad antimicobacteriana fueron Tosilato de dapsona y MD-II, ya que obtuvieron una CMI de 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Por el contrario, Dap-10 y Dap-04 fueron los compuestos con menos actividad, ya que su CMI es de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

8.2 Evaluación *in vitro* del efecto antifúngico

La evaluación antifúngica de los cinco compuestos derivados de Dapsona se realizaron en las cepas *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. En la figura 33 se ilustra una de las placas empleadas en los ensayos.

Rangos de Concentración evaluados en $\mu\text{g}/\text{mL}$

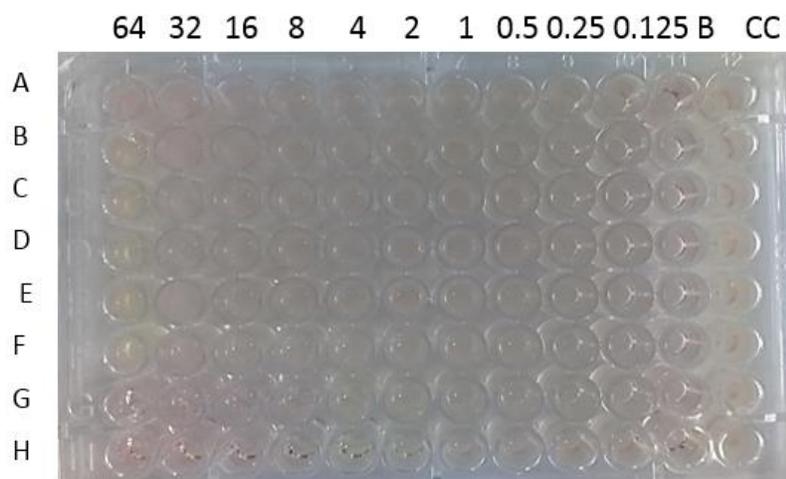


Fig. 33 Evaluación del efecto antifúngico de: A-B) Mesilato de Dapsona; C-D) Besilato de Dapsona; E-F) Tosilato de Dapsona y G-H) fármaco control: Fluconazol contra *Cándida tropicalis*. Columna 11: blanco de cultivo (B); Columna 12; control de crecimiento (C.C)

Con los valores obtenidos en la evaluación se determinó la CMI. Dichos valores fueron comparados con el fármaco control Fluconazol, los resultados de la evaluación *in vitro* se expresan en $\mu\text{g}/\text{mL}$.

De los 5 compuestos derivados de Dapsona que fueron evaluados ninguno mostro actividad antifúngica a la mayor concentración a la que fueron evaluados (64 $\mu\text{g}/\text{mL}$) en comparación con el fármaco control Fluconazol el cual mostro efecto antifúngico

en un rango de 32-64 µg/mL. Los resultados obtenidos de la evaluación antifúngica se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Evaluación antifúngica de compuestos derivados de Dapsona.			
Compuesto	Concentracion Minima Inhibitoria (µg/ml)		
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i> .
Besilato de Dapsona	>64	>64	>64
Mesilato de Dapsona	>64	>64	>64
Tosilato de Dapsona	>64	>64	>64
Dapsona 4	>64	>64	>64
Dapsona picrico	>64	>64	>64
Dap-10	NE	NE	NE
MD-II	NE	NE	NE
Fluconazol	64	32	64

NE: no evaluado; >: mayor a; µg/ml: microgramos por mililitro

8.3 Evaluación *in vitro* del efecto antiparasitario

La evaluación antiparasitaria de 3 compuestos derivados de Dapsona se realizó en trofozoítos de *E. histolytica* cepa HM1: IMSS. En la figura 34 se ilustra una de las placas empleadas en los ensayos.

Rangos de Concentración evaluados en µg/mL

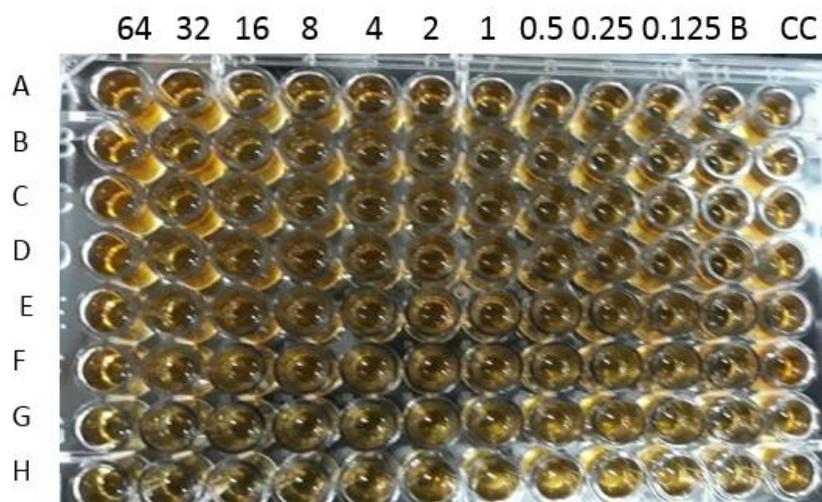


Fig. 34 Evaluación del efecto antiparasitario de: A-B) Mesilato de Dapsona; C-D) Besilato de Dapsona; E-F) Tosilato de Dapsona y G-H) fármaco control: Metronidazol contra *E. histolytica*. Columna 11: blanco de cultivo (B); Columna 12; control de crecimiento (C.C)

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). De Los valores obtenidos fueron comparados con el fármaco control Metronidazol, obteniendo que de los 3 compuestos derivados de Dapsona evaluados solo 1 mostro efecto antiparasitario a la mayor concentración empleada en el presente trabajo, teniendo una CMI de 64µg/mL que es mayor a la del fármaco control Metronidazol con una CMI de 32 µg/mL. Los resultados del efecto antiparasitario se presentan en la Tabla 16.

Tabla 16. Evaluación antiparasitaria de compuestos derivados de Dapsona.	
Compuesto	Concentración Minima Inhibitoria (µg/ml)
	<i>Entamoeba histolytica</i> cepa HM1: IMSS
Besilato de Dapsona	>64
Mesilato de Dapsona	>64
Tosilato de Dapsona	>64
Dapsona 4	NE
Dapsona pícrico	NE
Dap-10	NE
MD-II	NE
Metronidazol	32

NE: no evaluado; >: mayor a; µg/mL: microgramos por mililitro

Para observar el efecto sobre la morfología de los trofozoítos de *E. histolytica* expuestos con los compuestos derivados de Dapsona evaluados en este trabajo se procedió a revisar los cultivos de este protozooario. Los resultados obtenidos se presentan en las Figuras 35 - 39.

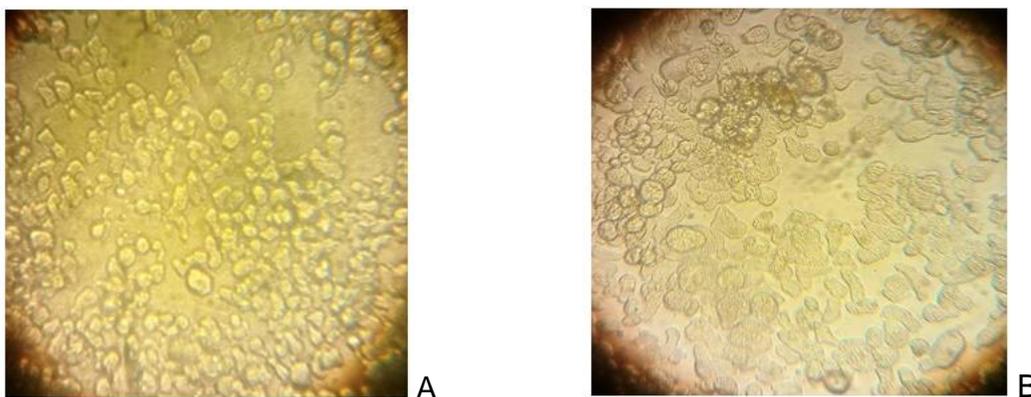


Fig. 35 Efecto del compuesto derivado de Dapsona Mesilato de Dapsona a la concentración 64µg/mL sobre trofozoítos de *E. histolytica* cepa HM1: IMSS a las 48 horas de exposición. (Observados con microscopio invertido a 40x). A) y B) No se observaron cambios relevantes en la morfología típica de *E. histolytica*

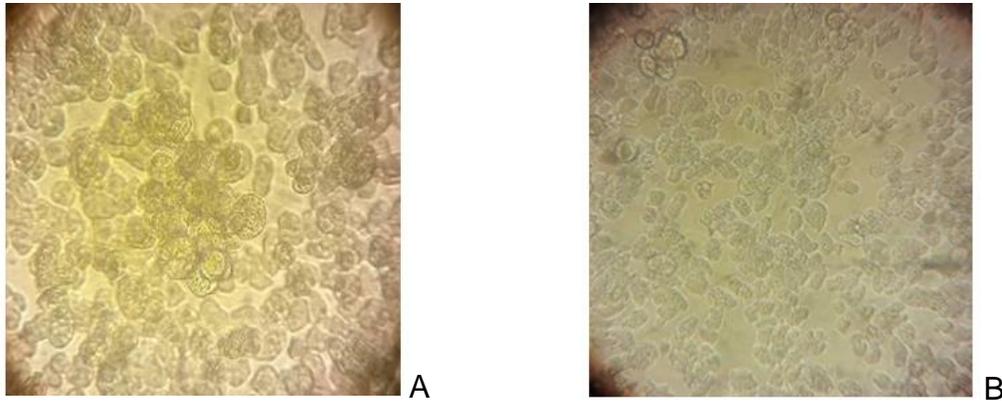


Fig. 36 Efecto del compuesto Besilato de Dapsona a la concentración de $64\mu\text{g/ml}$ sobre trofozoítos de *E. histolytica*. Observados con microscopio invertido a 40x. A) y B) no se observaron cambios relevantes en la morfología típica de *E. histolytica*

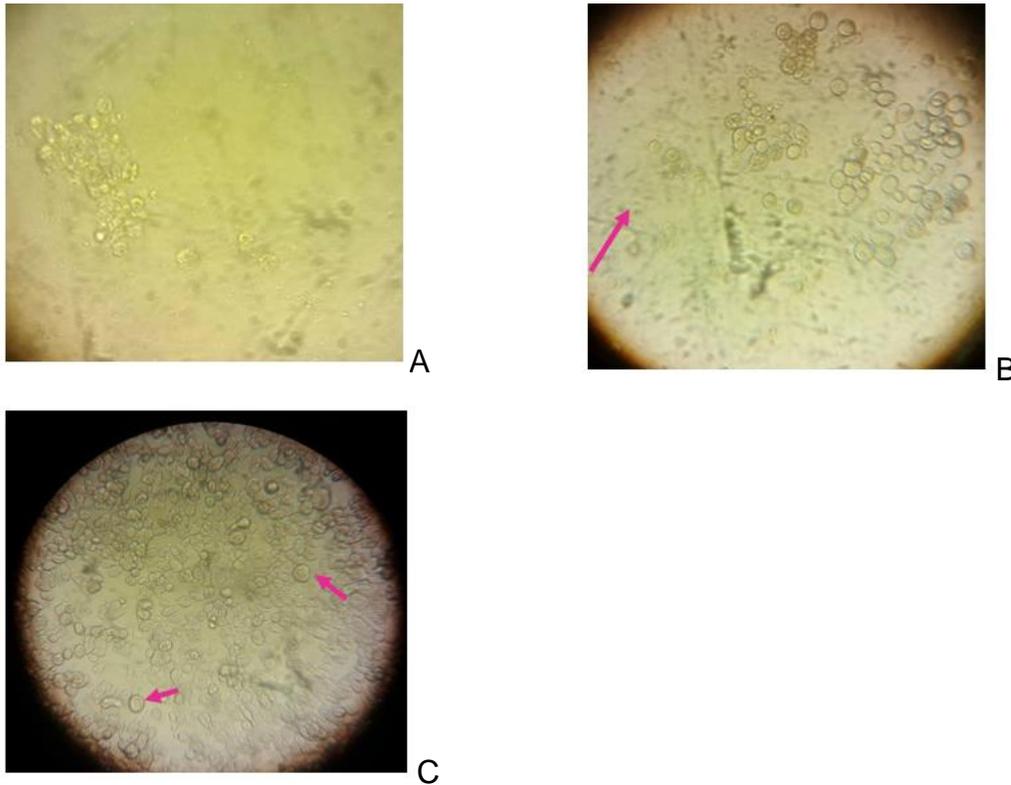


Fig. 37 Efecto del compuesto Tosilato de Dapsona a la concentración de $64\mu\text{g/mL}$ sobre trofozoítos de *E. histolytica*. (Observados con microscopio invertido a 40x). En A) por campo se observó escasa desfragmentación en la morfología de *E. histolytica*, mientras que en la figura B) se observa un cambio en la morfología típica de *E. histolytica* de amebode a circular. En C) a la concentración de $32\mu\text{g/mL}$ en trofozoítos de *E. histolytica* observados con microscopio invertido a 40x, por campo se observa un escaso cambio en la morfología típica de *E. histolytica* de amebode a circular

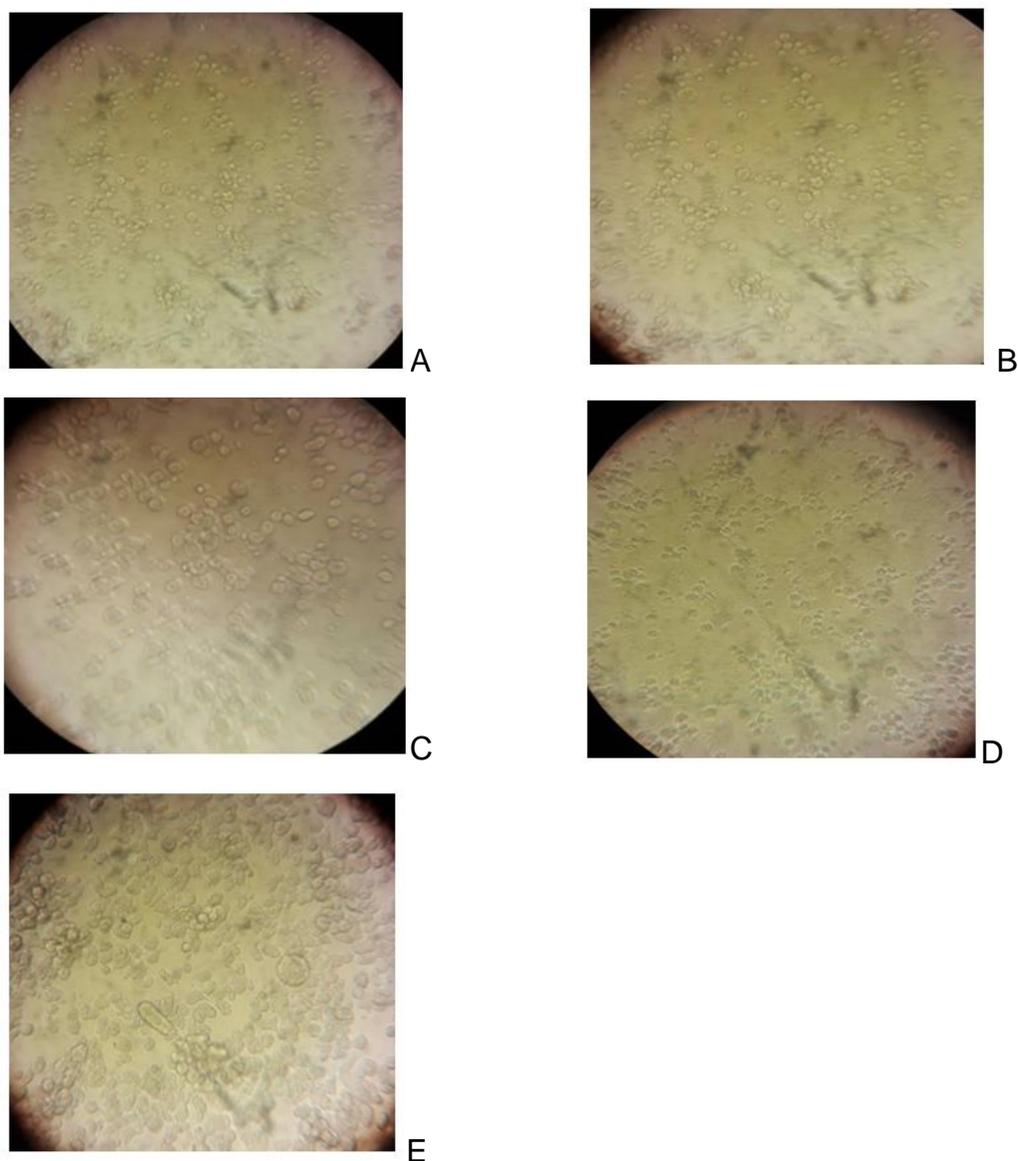
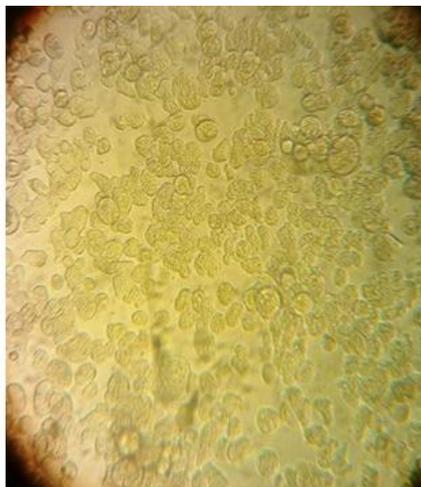


Fig. 38 Efecto del fármaco control Metronidazol A) a la concentración de 64µg/mL en trofozoítos de *E. histolytica* observados con microscopio invertido a 40x y B) a la concentración de 32 µg/mL en trofozoítos de *E. histolytica* observados con microscopio invertido a 40x. Donde se observa efecto del Metronidazol sobre la forma, tamaño y cantidad de trofozoítos. C) a la concentración de 16µg/ml en trofozoítos de *E. histolytica*. Observados con microscopio invertido a 40x se observa un ligero efecto del Metronidazol sobre la forma, tamaño y cantidad de trofozoítos mientras que en la figura D) a la concentración de 8µg/mL en trofozoítos de *E. histolytica*. Observados con microscopio invertido a 40x no se observa efecto del Metronidazol sobre la forma, tamaño y cantidad de trofozoítos. E) a la concentración de 4µg/ml en trofozoítos de *E. histolytica*. Observados con microscopio invertido a 40x no se observa efecto del Metronidazol sobre la forma, tamaño y cantidad de trofozoítos.



A



B

Fig. 39 Control de crecimiento y Blanco control observado con microscopio invertido a 40x. En la figura A se observó un crecimiento adecuado en tamaño, forma y cantidad de *E. histolytica*, mientras que en B) el blanco control se observó medio de cultivo sin contaminación.

9 Discusión

Al rededor del mundo diversos equipos de investigadores se han dado a la tarea de buscar nuevos compuestos sintéticos como alternativas terapéuticas mediante la evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana, empleando como modelo cultivos de bacterias, parásitos y hongos con la finalidad de identificar nuevos candidatos para el tratamiento de las enfermedades infecciosas. (Barón, 2015)

En la literatura se ha reportado que las sulfonas como la Dapsona constituyen un grupo de fármacos que pueden tener diversas indicaciones farmacológicas tanto antibacterianas como antiinflamatorias. (Gottfried y Blasum ,2013).

Así mismo se ha descrito que la Dapsona al ser una sulfona compite con la enzima PABA, una vez formado el complejo con la sulfona, se inhibe la síntesis del ácido fólico, importante en el crecimiento bacteriano (Aparicio y Cols., 2003).

Teniendo como base lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se realizó la evaluación *in vitro* de la actividad biológica de una serie de compuestos sintéticos derivados de Dapsona y se evaluó en nueve microorganismos como modelos experimentales determinándose la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los compuestos frente a los diferentes microorganismos y los resultados se compararon con los 4 fármacos que son más empleados en la práctica médica: Trimetoprim-sulfametoxazol, Dapsona, Fluconazol y Metronidazol.

Este trabajo se puede dividir en cuatro partes, la primera parte corresponde a la evaluación *in vitro* de la actividad antibacteriana de cinco compuestos derivados de Dapsona: Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico sobre bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. subtilis*) y Gram negativas (*E.coli* y *P. aeruginosa*) la evaluación biológica muestra que los cinco compuestos derivados de Dapsona presentan actividad antibacteriana mayores a las concentraciones evaluadas en comparación con el fármaco control cuya actividad fue de 0.5µg/ml

frente a *S. aureus*, 1 µg/ml frente a *E. coli*, 32µg/ml frente a *B. subtilis* y 64 µg/ml frente a *P. aeruginosa*.

En la literatura se tiene registro que, en el año 2014, quince centros médicos de atención terciaria recolectaron muestras de sangre, vías respiratorias, orina y heridas donde aislaron bacterias de interés clínico para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana contra Dapsona utilizando el método de micro dilución en caldo propuesto por la CLSI. La Dapsona demostró una actividad relativamente pobre con los bacilos Gram negativos con la mayoría de CMI₅₀, CMI₉₀ en el rango de 512 µg/mL y > 512 µg/mL, respectivamente. Por el contrario, la Dapsona demostró actividad frente a cocos Gram positivos, como *Staphylococcus* (incluyendo *S. aureus* MRSA), *Streptococcus* y *Enterococcus*: varias cepas de *S. epidermidis* tenían MICs de 32 y 64 µg/mL; hubo cepas de *E. faecalis* con CMI de 8, 16, 32 y 64 µg/mL; y varias cepas de *S. agalactiae* y *S. pyogenes* demostraron CIM de dapsona de 4, 8, 16, 32 y 64 µg/mL (Chanel y Del Rosso ,2016).

Los resultados obtenidos en este trabajo (CMI) son >64 µg/mL mayores a lo que se tiene registro en la literatura donde las especies bacterianas son evaluadas frente a Dapsona.

Por otra parte, cabe señalar que estudios previos sobre la actividad biológica de una serie de compuestos derivados de Dapsona tales como Tosilato de Dapsona, Mesilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico sintetizados por la Flores-Pacheco mostraron actividad contra bacterias ácido alcohol resistentes como *Mycobacterium sp.* Los resultados obtenidos de esta evaluación mostraron que la actividad antimicobacteriana del Tiosilato de Dapsona (CMI de 79.6 µM) fue más efectivo en comparación con la Dapsona (CMI de 129 µM) que es un fármaco empleado para el tratamiento de infecciones de vías respiratorias y de piel por este grupo de bacterias (Flores-Pacheco y cols., 2018).

La segunda parte del presente trabajo corresponde a la evaluación *in vitro* de la actividad antimicobacteriana de cinco compuestos derivados de Dapsona: Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico sobre *M. fortuitum*, donde los compuestos que presentaron mejor actividad antimicobacteriana fueron tosilato de dapsona y MD-II, ya que obtuvieron una CMI de 32 µg/mL. Por el contrario, Dap-10 y Dap-04 fueron los compuestos con menos actividad, ya que su CMI es de 500 µg/mL. Estos resultados nos hacen pensar que los compuestos que evaluamos en el presente trabajo podrían reflejar actividad biológica a mayores concentraciones a las empleadas.

La actividad antimicobacteriana de estos compuestos, puede deberse a la presencia de azufre en la estructura química de estos. Ya que se ha reportado que el azufre presenta propiedades antibacterianas (Rodríguez, 2011.). Este elemento se encuentra presente en el grupo funcional sulfonilo R-S (=O)₂-R', (principal grupo de las sulfonas) (Albores *et al.*, 2006). Los compuestos tosilato de dapsona y MD-II contienen una molécula más de azufre en su estructura, pudiendo ser esta una de las razones por las que presentan mejor actividad antimicobacteriana.

Thomas y cols. en el año 2011, evaluaron una serie de compuestos con posible actividad antimicobacteriana utilizando cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium smegmatis* y *Mycobacterium fortuitum*. Uno de los compuestos que presentó muy buena actividad contra estas tres bacterias, contenía el grupo sulfonilo en su estructura química además de varios anillos aromáticos. Debido a que estas características coinciden con las de nuestros compuestos, podemos decir que ese es otro de los motivos por lo que presentan una muy buena actividad antimicobacteriana.

Por otro lado, otros autores han reportado nuevos compuestos con actividad antimicobacteriana que contienen en su estructura química oxígeno, nitrógeno y el grupo funcional metilo. Estas características están presentes en los dos compuestos con la mejor actividad antimicobacteriana que evaluamos en este proyecto (tosilato

de dapsona y MD-II) (Eswaran y cols., 2010; Gordien y cols., 2009; McGaw y cols., 2008; Wube *et al.*, 2011).

La tercera parte del presente trabajo corresponde a la evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cinco compuestos derivados de Dapsona: Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico sobre *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*, la evaluación biológica muestra que de los cinco compuestos derivados de Dapsona presentan actividad antifúngica >64 µg/ml en comparación con el fármaco control Fluconazol cuya actividad fue de 32 µg/ml frente a *C. tropicalis* y de 64 µg/ml frente a *C. albicans* y *C. glabrata*, respectivamente.

Slawinski y cols., realizaron la evaluación antifúngica de derivados de Bencensulfonamida sobre *C. albicans* en el cual revelaron que estos nuevos derivados demostraron significativa actividad inhibitoria del crecimiento, superior o comparable, con el Fluconazol, fármaco de referencia, presentando una CMI en el rango de 25 µg/mL-100 µg/mL, mientras que los compuestos derivados de Bencensulfonamida presentaron una CMI en el rango de ≤6.2 -25 µg/mL. (Slawinski y Cols., 2014).

Los resultados obtenidos en este trabajo (CMI) son de 64 µg/mL, mayor a lo que se tiene registro en la literatura donde *C. albicans* son evaluadas frente a un compuesto derivado de Bencensulfonamida

La cuarta y última parte del presente trabajo corresponde a la evaluación *in vitro* de la actividad antiparasitaria de tres compuestos derivados de Dapsona Besilato, Mesilato y Tosilato de Dapsona sobre trofozoítos de *E. histolytica*. La evaluación biológica muestra que de los tres compuestos derivados de Dapsona solo el Tosilato de Dapsona presentó actividad antiparasitaria con una CMI de 64 µg/ml en comparación con Besilato y Mesilato de Dapsona cuya CMI fue mayor a 64µg/ml lo que hace que Tosilato de Dapsona sea considerado candidato para el tratamiento de infecciones provocadas por este protozooario intestinal.

Las sulfonamidas, utilizadas frente a los esporozoos (Sulfadiazina, Sulfadoxina, etc.) y las sulfonas (Dapsona) bloquean la biosíntesis del tetrahidrofolato, importante cofactor en muchas reacciones de transferencia de carbono requeridas en la síntesis del ADN. Así, los plasmodios necesitan sintetizar los cofactores de folato, pues no pueden incorporar el ácido fólico presente en la dieta como hace el ser humano. En concreto, la Sulfadoxina compite con el ácido paraaminobenzoico (PABA) para fijar la enzima dihidropteroato sintetasa en la síntesis del dihidropteroato, elemento esencial en la síntesis del ácido fólico. Debido a que su acción es muy lenta, debe administrarse asociada a otro antipalúdico (generalmente la Pirimetamina). Las diaminopirimidinas (Pirimetamina, Trimetoprima) y el proguanil, también utilizados frente a los esporozoos, bloquean la misma reacción en un paso posterior, inhibiendo la enzima dihidrofolato reductasa, necesaria en la síntesis del ácido fólico en estos parásitos.

Los resultados obtenidos en la evaluación antibacteriana, antifúngica y antiparasitaria pueden ser atribuibles a la baja solubilidad que presentan los compuestos evaluados en el medio de cultivo utilizado, debido a que las moléculas que derivan de las sulfonas presentan baja solubilidad en agua, por lo que resulta importante que se busquen alternativas que puedan proporcionar a las moléculas mayor solubilidad, como la adición de grupos alcohol, fenol, ácido carboxílicos, aminas o aniones que contengan átomos de oxígeno para mejorar la solubilidad de los compuestos.

Por otro lado, las CMI de los compuestos evaluados contra bacterias, levaduras y protozoarios no se pueden descartar como posibles candidatos para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos diferentes a los que se evaluaron en este trabajo debido a que las características morfológicas difieren entre los microorganismos.

A pesar de que hay poca información reportada en la literatura sobre ensayos de actividad antimicrobiana de compuestos derivados de Dapsona es lógico querer saber todas las aplicaciones de uso farmacéutico, los resultados obtenidos en este trabajo indican que los derivados de Dapsona: Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico pudieran ser candidatos prometedores para el tratamiento de enfermedades como: enfermedades diarreicas agudas, tuberculosis, antimicóticas y antiparasitarias; solo hace falta conocer el espectro de aplicación para poder emplearlo de manera eficaz.

Por lo anterior podemos concluir que los compuestos evaluados presentan una menor actividad que los reportados en la literatura, sin embargo, no se pueden descartar como posibles candidatas a su uso terapéutico ya que es necesario realizar más pruebas para confirmar su actividad cumpliendo el objetivo de la evaluación de la actividad antimicrobiana de los compuestos derivados de Dapsona sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, Levaduras y protozoarios mediante la técnica de micro dilución en placa.

Así mismo, se podría evaluar la citotoxicidad de los compuestos derivados de Dapsona para la búsqueda de nuevas terapias. Además de realizar estudios para la modificación de las moléculas y aumentar su solubilidad

Poner de manifiesto que la investigación de nuevos fármacos antimicrobianos es una necesidad actual, así como dar a conocer a la sociedad la realidad que implica la resistencia microbiana para concientizar a la población sobre la adecuada prescripción y administración del tratamiento antimicrobiano.

10 Conclusiones

- Los compuestos derivados de Dapsona no presentaron actividad antibacteriana en bacterias Gram positivas: *S. aureus* y *B. subtilis*; y en Gram negativas: *E. coli* y *P. aeruginosa* a las concentraciones evaluadas.
- Los 6 compuestos evaluados presentan actividad anti *Mycobacterium*.
- Los compuestos Tosilato de dapsona y MD-II son los que presentan mejor actividad anti *Mycobacterium*, con una CMI de 32 µg/mL.
- Los compuestos derivados de Dapsona no presentaron actividad antifúngica en levaduras de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* a las concentraciones evaluadas.
- El compuesto derivado de Dapsona Tosilato de Dapsona presentó actividad antiprotozoaria contra *E. histolytica* con una CMI de 64 µg/mL.

11 Perspectivas

- Mejorar las propiedades fisicoquímicas de los compuestos evaluados que no presentaron efecto antimicrobiano.
- Evaluar la actividad antibacteriana de los compuestos derivados de Dapsona Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico contra *A. vulgaris* para la búsqueda de nuevos tratamientos contra el acné vulgar que sean menos tóxicos para la piel, además de buscar nuevas alternativas contra la resistencia que presenta la bacteria al tratamiento de Dapsona.
- Evaluar la actividad antibacteriana de los compuestos derivados de Dapsona Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico en combinación con Trimetoprim-sulfametoxazol u otro antibiótico para conocer si existe sinergismo entre moléculas.
- Evaluar los compuestos con otras especies del género *Mycobacterium*, especialmente en *M. tuberculosis*.
- Evaluar la actividad antimicobacteriana utilizando otros antibióticos antituberculosos de primera línea.

- Evaluar la actividad antiparasitaria del compuesto Tosilato de Dapsona sobre otros protozoarios de relevancia clínica tales como: *Giardia lamblia* y *Trypanosoma cruzi*.
- Evaluar el efecto citotóxico de los compuestos derivados de Dapsona Besilato, Mesilato, Tosilato de Dapsona, Dapsona 4 y Dapsona pícrico en líneas celulares.
- Determinar el mecanismo de acción antimicobacteriano y antiparasitaria de los análogos de Dapsona

12. Bibliografía

1. Aparicio P., Rodríguez E., Gárate T., Molina R. Soto A. y Alvar J. (2003). "Terapéutica antiparasitaria". *Enferm. Infecc. Microbiol Clin.* 21(10): 579-594.
2. Apiweb® [CD-ROM] BioMérieux. 2010. Sitio web www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacologia/catedraMicro/10_SistemasAPI.pdf Fecha de consulta 12 de octubre 2021
3. Backes G.L., Neumann D.M. y Jursic B.S. (2014). "Synthesis and antifungal activity of substituted salicylaldehyde hydrazones,hydrazides and sulfohydrazides". *Bioorg Med Chem* 22(17):4629-4636. doi: 10.1016/j.bmc.2014.07.022.
4. Barrón H, Monteghirfo M, Rivera N. (2006). Diagnóstico Molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en biopsias pleurales embebidas en parafina. *Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.* 67(1):11-18.
5. Barrón Ma., Mata B., Villarreal L., Morales Ma. y Morales M (2012). "Inhibición del enquistamiento de *Entamoeba histolytica* por *Lactococcus lactis*". *Rev Mex Cienc Fann* 43 (4): 21-37 Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57928311005>> ISSN 1870-0195
6. Bestratén Belloví M., Guardino Solá X., Iranzo García Y., Piqué Ardanuy T., Pujol Senovilla Luís., Solórzano Fábrega M., Tamborero del Pino J. M., Turmo Sierra E., Varela Iglesias I., (2015). Seguridad en el trabajo Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Gobierno de España.
7. Bertram G., Susan B. y Anthony J. (2013). fármacos antimicóticos. En *Farmacología básica y clínica* (857). Ciudad de México, México: MC Graw Hill. Capitulo y paginas
8. Boletín Epidemiológico de la Secretaria de Salud. (2015). Semana 36.
9. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL. (2005). *Harrison's principles of internal medicine.* 16th edition. New York McGraw-Hill.
10. Bothamley G. (2001). Drug treatment for tuberculosis during pregnancy: safety considerations. *24(7):553-65.*
11. Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. <https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema->

nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-261547
Fecha de consulta 12 de octubre 2021

12. Bertram G. Katzung, Susan B. Masters, Anthony J. Trevor Farmacología básica y clínica, 12e CAP 48 Fármacos antimicóticos
13. Calvo J. y Martínez L. (2009). "Mecanismos de acción de los antimicrobianos." *Enferm Infecc Microbiol Clin* 27(1):44-52. doi:10.1016/j.eimc.2008.11.001
14. Clavellina Miller Marcela, 2014. "Dapsona: su uso en dermatología" *Dermatología CMQ*; 12(1): 47-51. Sitio web <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2014/dcm141j.pdf> consultado el 11 de octubre de 2021
15. CDC <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/amibiasis.html>. Fecha de consulta (04/11/2019)
16. Centros para el control y la prevención de enfermedades (2016). USA (<https://www.cdc.gov/parasites/es/about.html>) Fecha de consulta 25 de diciembre de 2019
17. Sin Autor (2016). Acerca de los parásitos. 2018, Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) Sitio web: <https://www.cdc.gov/parasites/es/about.html> Fecha de consulta 25 de diciembre de 2019
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). DPDx - Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern. Amebiasis. 2013. consultado el 12 octubre 2021
19. Cervantes E., García R. y Salazar Ma. (2014). "Características generales del *Staphylococcus aureus*", de Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México (UNAM), *Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*. Vol. 61 (1) pp 28-40 (<http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>) Fecha de consulta 22 diciembre 2019
20. Chopra I, Brennan P. (1998). Molecular action of antimicrobial agents. *Int J Tuberc Lung Dis*. 78:89-98.
21. Coll P. (2003). Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 21:299-308.
22. Conde Bonfil Ma. del Carmen y De La Mora Zerpa Carlos. (2016). " *Entamoeba histolytica*: Un desafío vigente.", de Departamento de Biología Molecular, Dirección de Patología Experimental, Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos Sitio web: (<http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/5508/5881>) Fecha de consulta 25 diciembre 2019
23. Corrales Ramírez lucia Constanza y cols. (2014) "Bacillus: genero bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato" *NOVA*; 12 (21): 165–178 sitio web www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n22/v12n22a06.pdf consultado el 10 octubre 2021
24. CLSI. (2010) Manual de actualización en resistencia bacteriana y normas CLSI m100-s20.

25. Clavellina M. y Moreno G. (2014). "Dapsona: su uso en Dermatología" *Dermatología CMQ* 12(1): 47-51
26. Cuervo P. (2010). "Aislamiento Y Caracterización De *Bacillus Spp* Como Fijadores Biológicos De Nitrogeno Y Solubilizadores De Fosfatos En Dos Muestras De Biofertilizantes Comerciales, de Universidad Nacional de Colombia, Sitio web: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis404.pdf> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
27. DATABIO. (2012b). *Staphylococcus aureus*, de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Sitio web: (<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf>) Fecha de consulta 22 diciembre 2019
28. Sin Autor (2012). "*Staphylococcus aureus*" de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). DATABIO. Sitio web: <https://www.insst.es/documents/94886/353495/Staphylococcus+aureus.pdf/0f7074f1-f1d4-441e-b808-edd4523c9fae?version=1.0&t=1528734434245> (Fecha de consulta 12 octubre 2021)
29. Sin Autor (2017). "*Pseudomonas aeruginosa*", de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). DATABIO. DB-BPa16: 1-5 Sitio web: <https://www.insst.es/documents/94886/353495/Pseudomonas+aeruginosa+2017.pdf/7e1ed73b-eca5-4578-a4f7-1c8847e6a799> (Fecha de consulta 12 octubre 2021)
30. Dermatologia.cat, Sulfonas. Tratamiento oral., de Servicio de Dermatología del Hospital del Mar, Barcelona Sitio web: <http://dermatologia.cat/es/informacion-para-pacientes/curas-y-tratamientos-dermatologicos/sulfonas-tratamiento-oral/> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
31. Dorronsoro I, Torroba L. (2007). Microbiología de la Tuberculosis. *An. Sist. Sanit. Navar.* 30(2):67-84.
32. Drugbank. (2016). Dapsona. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00250>
33. Duque Montaña Blanca Estela (2010). "Efecto Biológico de compuestos derivados de la Nitazoxanida sobre *Entamoeba histolytica*". (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Farmacia. Morelos, México
34. Duque-Montaña, B. E., Gómez-Caro, L. C., Sanchez-Sanchez, M., Monge, A., Hernández-Baltazar, E., Rivera, G., & Torres-Angeles, O. (2013). "Synthesis and in vitro evaluation of new ethyl and methyl quinoxaline-7-carboxylate 1,4-di-N-oxide against *Entamoeba histolytica*." *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21(15) 4550-4558.
35. Echevarria Z. Juan, Iglesias Q. David (2003). "*Estafilococo* Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos", de *Revista Médica Hered* Sitio web: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v14n4/v14n4tr01.pdf> Fecha de consulta 25 diciembre 2019

36. Fetsh A. (2018). Characteristic and detection of *Staphylococcus aureus*. En *Staphylococcus aureus* (13). Reino Unido: Academic Press.
37. Fernández N., Böhme M., Díaz B., Cepeda J. y Barros V. (2012). "Characterisation and profiling of *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus licheniformis*" by MALDI-TOF mass fingerprinting." 33(2): 235-242:
38. Figueroa-Damián R, Arredondo-García JL. (1998). Pregnancy and tuberculosis: influence of treatment on perinatal outcome. *Am J Perinatol.* 15(5):303-6.
39. Flores-Pacheco Daniela, Mondragón-Vásquez Karina, Domínguez-Chávez Jorge G, Duque-Montaña Blanca E, Torres-Angeles Oscar y Rivera-Islas Jesús. (2018). Preparation, characterization, intrinsic dissolution studies and microbiological assessment of dapsone tosylate polymorphs. *Trop J Pharm Res* 17(12):2321-2327.
40. Fontalvo D, Gómez D. (2015). Genes del *Mycobacterium tuberculosis* involucrados en la patogenicidad y resistencia a antibióticos durante la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *Revista de los estudiantes de medicina de la Universidad Industrial de Santander.* 28(1):39-51.
41. Franco Y. (2005). Reseña de "La microscopia de fluorescencia y su aplicación en el diagnóstico de bacterias fitopatógenas. *Fitosanidad.* 9(3):65-68
42. García P; Fernández Ma. y Paredes F. (1996). Microbiología de las Heces. En *Microbiología clínica aplicada* (p 160). (3ª. ed.) Madrid, España: Díaz De Santos, S.A
43. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. (2007). *Introducción a la Microbiología.* (9ª ed.) Madrid, España: Panamericana. (pp)
44. Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. (2007) "Introducción a la microbiología" Editorial Panamericana. México
45. Guerra A., De Lucas R. Moreno C., Pérez m., Ribera M. y Martínez E. (2015). Consenso en el tratamiento tópico del acné, *Revista de Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana de Colegio.* Vol. 43 (Num. 2): 104-121 Sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cutanea/mc-2015/mc152d.pdf> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
46. Guerrero Ma.; Hernández Y.; Rada Ma; Aranda A.; Hernández Ma. (2007). "Parasitosis intestinal y alternativas de disposición de excreta en municipios de alta marginalidad ,de Universidad Autónoma de San Luis de Potosí, México Sitio web: <https://www.scielosp.org/article/rcsp/2008.v34n2/10.1590/S0864-34662008000200009/>
47. Grebo, grupo para el control de la resistencia bacteriana de Bogotá. (2010). "Manual de actualización en resistencia bacteriana y normas CLSI M100 – S20 2010", de secretaria distrital de salud
48. González Ma., Carabarin A., Baylon L. & Rosales J. (2012). "De amibas y amebiasis: *Entamoeba histolytica*" de Elementos, BUAP Sitio web: <http://www.elementos.buap.mx/num87/pdf/13.pdf>
49. Gottfried W., Blasum C. (2014). "Dapsone in dermatology and beyond", de - Sitio web: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3927068/pdf/403_2013_Artic

- le_1409.pdf Fecha de consulta 25 diciembre 2019 Arch Dermatol Res (2014) 306:103–124 DOI 10.1007/s00403-013-1409-7
50. Global Tuberculosis WHO Report 2020 Sitio web: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/PlanTuberculosis/img/ESTIMACION_INCIDENCIA_TB_2020.jpg Fecha de consulta 12 octubre 2021
 51. Gobernadao Miguel, JL. López- Hontangasa. (2003) “Bacterial identification methods”. Elsevier, Vol. 21. (Núm. S2.) Páginas 54-60. Sitio web <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-identificacion-bacteriana-13059086> consultado el 10 de octubre 2021.
 52. Herráez I. (2002). Aportación del Radiólogo en el Diagnóstico de las Enfermedades Granulomatosas Pulmonares. V Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica.
 53. Hernández C., Aguilera M. y Castro G. (2011). “Situación de las enfermedades gastrointestinales en México.” Revista *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, vol. 31, núm. 4, octubre-diciembre (Revisado 22 diciembre 2019 <http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2011/ei114f.pdf>)
 54. Hernández C., Aguilera M. y Castro G. (2011). “Situación de las enfermedades gastrointestinales en México.” *Enf. Inf. Microbiol.* 31 (4):137-151,
 55. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. (2012). Medicamentos para la tuberculosis resistente: bajo el microscopio. Fuentes y precios de fármacos para tratar la DR-TB. Segunda edición.
 56. IQB. (2009). DAPSONA.de Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT - Argentina Sitio web: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/d076.html>
 57. Jean L. Bolognia, Julie V. Schaffer, Lorenzo Cerroni. (2018) “Dermatología” (4 Ed.) Barcelona, España: Elsevier
 58. K. D. Tripathi, 2008 *Farmacología En Odontología: Fundamentos*. (1a Ed) Buenos Aires: Medica Panamericana pp478
 59. Laibl VR, Sheffield JS. (2005). Tuberculosis in Pregnancy. *Clinics in Perinatology.* (32):739-747.
 60. Lambertus Mark, Kwok Richard & Mulligan Mauru. (1990). “In Vitro Susceptibilities of Oxacillin-Resistant Staphylococcus aureus to Dapsone and Sulfamethoxazole Alone and in Combination with Trimethoprim”. *Journal Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, Vol. 34(Num. 7): 1453-1455 ., Sitio web: <https://aac.asm.org/content/aac/34/7/1453.full.pdf>
 61. Lemus D. (2007). Métodos rápidos para la detección de resistencia en *Mycobacterium tuberculosis*. Instituto de Medicina Tropical. Tesis de doctorado. Ciudad de la Habana.
 62. Luján D. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. Revista Acta Bioquím. Clínica Latinoamérica, Vol. 48 (No. 4) La Plata dic.
 63. Sitio web: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400009 Fecha de consulta 25 diciembre 2019
 64. López Ma., Cardenas M, Osuna A. (2012). Infecciones gastrointestinales y agentes etiológicos. En Manual de laboratorio de microbiología para el

- diagnóstico de infecciones gastrointestinales (5,6). M: OmninaScience. (<http://omniascience.com/scholar/index.php/scholar/article/download/2/3>)
65. Madigan M., Martinko J., Dunlap P., Clarck D. (2009). *Biología de los microorganismos*. Madrid España: Pearson Addison Wesley.
 66. Manual para el Diagnostico Bacteriológico de la Tuberculosis. (2008). Parte I. Organización Panamericana de la Salud.
 67. Manual para el Diagnostico Bacteriológico de la Tuberculosis. (2008). Parte II. Organización Panamericana de la Salud.
 68. Manual de Técnicas de Laboratorio para el Exámen Baciloscópico. (2003). Secretaria de Salud.
 69. Martínez-Guarneros A. (2014). Avances Tecnológicos en Métodos Convencionales de Dx de la TB. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
 70. Mehta P., Sengar N, Subrahmanyam E y Satyanarayana. (2006). Synthesis and biological activity studies of some thiazolidinones and azetidiones. ., de Department of Pharmaceutical Chemistry, Maliba Pharmacy College, Tarsadi Sitio web: <http://www.ijpsonline.com/articles/synthesis-and-biological-activity-studies-of-some-thiazolidinones-and-azetidiones.html> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
 71. Mehta P. & Pathak A., (2011). "Synthesis, Characterization and in vitro antimicrobial activity of novel 4,4'-BIS[3-Chloro4-Aryl-Azetidin-2-ONE-1-YL]Diphenyl Sulphones", *Bulletin of Pharmaceutical Research*, Vol. 1 (Núm. 3):38-48 Department of Pharmacy, Barkatullah University, India Sitio web: <https://www.appconnect.in/wp-content/uploads/2012/06/ReprintBPR031.pdf> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
 72. Miller K, Scott MD, Joseph M. (1996). Tuberculosis in Pregnancy: Interactions, Diagnosis, and Management. Clin Obstet Gynecol. Volume 39(1). Pp. 120-142.
 73. Morán MC, Aceves D, Peña PM, Gallegos MP, Flores SE, Montoya H, Figuera LE, Villa L, Sánchez J. (2000). Detección de Mycobacterium tuberculosis mediante la reacción en cadena de la polimerasa en una población seleccionada del noroccidente de México. Revista Panamericana de Salud Pública. 7(6):389-394.
 74. Morales Cruz V. y Huerta Romano Jose F. *Escherichia coli* diarreogénica. Rev. Mex Pediatr, 77 (6); pág. 272. Sitio web <https://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2010/sp106g.pdf> Fecha de consulta 12 octubre 2021 Montoya H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. (2ª ed.) En Microbiología básica para el área de la salud y afines. Colombia: Editorial Universidad de Antioquia. (pp 160). ([https://books.google.com.mx/books?id=5RjS6B0X5RgC&printsec=frontcover&dq=20.+Montoya+H.+\(2008\).+Microbiolog%C3%ADa+b%C3%A1sica+para+el+%C3%A1rea+de+la+salud+y+afines.+En+Microbiolog%C3%ADa+b%C3%A1sica+para+el+%C3%A1rea+de+la+salud+y+afines+\(160\).+Colombia:+Editorial+Universidad+de+Antioquia.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi5qOwRt9HmAhUPUK0KHdwxAzIQ6AEILTAB#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=5RjS6B0X5RgC&printsec=frontcover&dq=20.+Montoya+H.+(2008).+Microbiolog%C3%ADa+b%C3%A1sica+para+el+%C3%A1rea+de+la+salud+y+afines.+En+Microbiolog%C3%ADa+b%C3%A1sica+para+el+%C3%A1rea+de+la+salud+y+afines+(160).+Colombia:+Editorial+Universidad+de+Antioquia.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi5qOwRt9HmAhUPUK0KHdwxAzIQ6AEILTAB#v=onepage&q&f=false))

75. Müller B, Dürr S, Alonso S, Hattendorf J, Laisse CJM, Parsons SDC. (2013). Zoonotic Mycobacterium bovis–induced tuberculosis in humans. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 19(6). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1906.120543>
76. Noris G, Santana C. (2009). Detección molecular de Tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *Biología Molecular Diagnóstica*. Pp.4-6
77. N'dri J, Guy-Richard M, Guillaume C, Landry A, Kablan C, Ouattara L, Ouattara O y ZIAO N. (2018). "Combining of DFT and QSAR Results to Predict the Antibacterial Activity of a Series of Azetidinones derived from Dapsone as Inhibitors of Bacillus Subtilis and Pseudomonas Aeruginosa". , de SDRP *Journal of Computational Chemistry & Molecular Modelling*. Vol. 2 (Núm. 2):1-9 Sitio web: <https://www.siftdesk.org/article-details/Combining-of-DFT-and-QSAR-Results-to-Predict-the-Antibacterial-Activity-of-a-Series-of-Azetidinones-derived-from-Dapsone-as-Inhibitors-of-Bacillus-Subtilis-and-Pseudomonas-Aeruginosa/284> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
78. Organización Mundial de la Salud. (2015). Tuberculosis. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/>
79. Organización Mundial de la Salud, 2017. *¿Qué es la resistencia a los antimicrobianos?* (<https://www.who.int/features/qa/75/es/>) Fecha de consulta 28 de diciembre de 2019
80. Organización Mundial de la Salud, (2018). Resistencia a los antibióticos, de Organización Mundial de la Salud Sitio web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
81. Ormerod P. (2001). Respiratory diseases in pregnancy: Tuberculosis in pregnancy and the puerperium. 56: 494 - 499.
82. Parsons LM, Driscoll JR, Taber HW, Salfinger M. (1997). Drug resistance in Tuberculosis. *Infect Dis Clin North Am*. 11:905-28.
83. Patrick R. Murray Ken S. Rosenthal, Michel A Pfaller (2006) (5ª Ed.). *Medical Microbiology*. Madrid, España: Elsevier Mosby Imprint. (pp) ([https://books.google.com.mx/books?id=ib7AiOFZE-0C&printsec=frontcover&dq=Patrick+R.+Murray+Ken+S.+Rosenthal,+Michel+A+Pfaller+\(2006\)&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj59LP6mNHmAhVQeKwKHdGrD5cQ6AEIKDAA#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=ib7AiOFZE-0C&printsec=frontcover&dq=Patrick+R.+Murray+Ken+S.+Rosenthal,+Michel+A+Pfaller+(2006)&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj59LP6mNHmAhVQeKwKHdGrD5cQ6AEIKDAA#v=onepage&q&f=false))
84. Paredes F.y Roca J. (,2004). Infecciones gastrointestinales. de OFFARM Sitio web: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-infecciones-gastrointestinales-13061801>
85. Pérez A. (2000). TRABAJO DE FIN DE GRADO: SULFAMIDAS: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS Y QUÍMICO FARMACÉUTICOS., de FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE Sitio web: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ALVARO%20P%C3%89REZ%20ALBA.pdf>
86. Pedro García Martos, María Teresa Fernández del Barrio, Fernando Paredes Salido "Microbiología clínica aplicada" 3a Ed. Ediciones Díaz de Santos, SA 1997 Madrid España Página 149 (<https://books.google.com.mx/books?id=O1pigUGRprwC&pg=PA149&dq=Microorganismos+causantes+de+infecciones+gastrointestinales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwieszpOM5dHIAhVFgK0KH7oB9oQ6AEIMDAB#v=onepage>)

- &q=Microorganismos%20causantes%20de%20infecciones%20gastrointestinales&f=false)
87. Reyes A. *Escherichia coli*. (2018) de - Sitio web: https://parabolasdocotidiano.files.wordpress.com/2011/10/microbiologia_murray.pdf
 88. “Resistencia a los antibióticos 31 de julio de 2020” Sitio web: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos> Fecha de consulta: 11 octubre 2021 (OMS julio 2020)
 89. “Resistencia a los antimicrobianos 13 de octubre de 2020” Fecha de consulta 12 de octubre 2021, Sitio web <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (OMS octubre 2020)
 90. Richard D. Pearson, MD (2018). Manual MSM Version para professionals. MD, University of Virginia School of Medicine. (<https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/protozoos-intestinales-y-microsporidias/amebiasis>) Fecha de consulta 28 de diciembre de 2019
 91. Rodríguez J., Gutiérrez B y Machuca I. (2018). Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. of American Society for Microbiology. Clinical Microbiology Reviews Sitio web: <https://cmr.asm.org/content/31/2/e00079-17.long> DOI: 10.1128/CMR.00079-17 Fecha de consulta 29 de diciembre de 2019
 92. Rodríguez Pérez E. (2013) Parasitología medica 1º edición Editorial el Manual Moderno México revisar
 93. Roig T. (2008). Infección por especies de *Cándida* durante los cuidados intensivos neonatales. 2018, de Revista Cubana Pediatría Sitio web: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312008000300011
 94. Romero L. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*, Bacteria Presente en el ambiente. de Gaceta Digital UNAM Sitio web: <http://www.gaceta.unam.mx/20151022/pseudomonas-aeruginosa-bacteria-presente-en-el-ambiente/>
 95. Ruiz-Manzano J, Blanquer R, Calpe JL, Caminero J, Caylà J, Domínguez J, García JM, Vidal R. (2008). Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. Arch Bronconeumol. 44(10):551-66.
 96. Saavedra Emma y Olivos García Alfonso, (2017) “Amibiasis” Academia mexicana de ciencias, vol. 68 núm. 1 pp 16. Sitio web <https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/index.php/ediciones-antteriores/ediciones-antteriores/266-vol-68-num-1-enero-marzo-2017> consultado el 10 octubre 2021
 97. Sánchez F. Interpretación de la prueba de la tuberculina. (2006). Pruebas diagnósticas. 1629:49-52.
 98. Sánchez L. (2008). MEDICAMENTOS ANTIGUOS Y VIGENTES EN DERMATOLOGÍA. Enero 2018, de Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Sitio web: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v18_n3/pdf/a02v18n3.pdf Fecha de consulta 25 diciembre 2019

99. Sanjay G. y Revankar. (2018). (Candidosis; Moniliasis; Yeast Infection the Merck Manuals. Kenilworth, NJ, USA. Sitio web: <https://www.merckmanuals.com/home/infections/fungal-infections/candidiasis> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
100. SCIDEV. (2016). <http://www.scidev.net/america-latina/sistemas/noticias/oms-define-investigacion-en-enfermedades-olvidadas.html>
101. Secretaría de Salud. (2014). Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica de la Tuberculosis por Laboratorio. Dirección General de Epidemiología, México.
102. Secretaria de Salud. (2014). Avances Tecnológicos en Métodos Convencionales. Departamento de Bacteriología. Laboratorio de Micobacterias, México.
103. Secretaria de Salud, (2019) panorama epidemiológico y estadístico de la mortalidad por causas sujetas a vigilancia epidemiológica en México, 2017. Dirección General de Epidemiología Sitio web: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/498153/ANUARIO_MORTALIDAD_2017.pdf) Fecha de consulta 12 octubre 2021
104. Standard Diagnostics, INC. TB Ag MPT 64. (2016). Rev. 1005.
105. Somoskovi A, Parsons LM, Salfinger M. (2001). The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. Respir Res. 2:164-8.
106. Teran R, de Waard J. (2015). Recientes avances en el diagnóstico de tuberculosis en el laboratorio clínico. Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 26(4):310-325.
107. "Tuberculosis 14 de octubre 2020" (OMS octubre 2020) Sitio web: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis> Fecha de consulta: 12 octubre 2021
108. Todar K. (2016). *Mycobacterium tuberculosis* and Tuberculosis. <http://textbookofbacteriology.net/tuberculosis.html>
109. Torres Guerrero Edoardo, Vásquez del Mercado Elsa, Arenas Roberto (2014) Infecciones por Candida spp en un hospital de segundo nivel: datos clínico-epidemiológicos y tipificación Dermatología CMQ 12(1): 18-23: http://dcmq.com.mx/images/ediciones/DCMQ_2014_V12-N1.pdf
110. Uribarren T. (2015). Tuberculosis. Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina, UNAM. <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/tuberculosis.html>
111. Uribarren T. (2017). ENTAMOEBOSIS o AMIBIASIS o AMEBIASIS. Enero10,2018, de Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM Sitio web: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/amibiasis.html>
112. Valdivia L. (1996). Sulfonas., Dermatología Peruana - Vol. 6, Nº 1-2, Enero –Diciembre Sitio web: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v06_n1-2/articulos_revision.htm Fecha de consulta 25 diciembre 2019

113. Vicente D., Pérez Emiliano. (2009). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. ., de Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián, España Sitio web: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-tetraciclinas-sulfamidas-metronidazol-S0213005X09005187>
114. Wozel G. y Blasum C. (2013). Dapsone in dermatology and beyond. ., de archives of dermatological research Sitio web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3927068/> Fecha de consulta 12 octubre 2021
115. Ximénez C., Morán P., Ramos y Ramiro M. (2017). “Amibiasis intestinal: estado actual del conocimiento”. *Revista Medicina Interna de México*, Vol. 23, (Núm. 5) Sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2007/mim075g.pdf> Fecha de consulta 25 diciembre 2019
116. ZEISS. (2016). Primo Star iLED. http://www.zeiss.com/microscopy/en_de/products/light-microscopes/primo-star-iled.html
117. Zhang Y. (2005). The magic bullets and tuberculosis drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 45:529-64.
118. Tabla 3 tomado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>. Fecha de consulta: 16 de octubre del 2019.
119. Tomado de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/amibiasis.html>. Fecha de consulta 25 diciembre 2019)