

USO DE LA CARRIMICINA EN LA INFECCIÓN POR MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS RESISTENTE

CAMPO TÉCNICO:

- 5 La presente descripción se refiere al uso de antibióticos macrólidos en el tratamiento de la infección por bacilos tuberculosos.

ANTECEDENTES:

- 10 La tuberculosis es una enfermedad crónica infecciosa debida a la infección por *Micobacterium tuberculosis* (MTB). Afecta fundamentalmente los pulmones y, entre las enfermedades infecciosas, es una enfermedad con la mayor cantidad de víctimas que fallecen por una causa única. La tuberculosis es común en personas con función inmunológica baja y es una de las enfermedades oportunistas más comunes relacionadas con el SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reportado que cada año aparecen de 8 a 10 millones
- 15 de casos típicos nuevos, que de 3 a 4 millones de personas mueren por tuberculosis, y que los países en desarrollo tienen más pacientes. Además, se predice que, de 2000 a 2020, aproximadamente un billón de personas se infectarán y 35 millones de personas morirán de tuberculosis. Al mismo tiempo, la resistencia del MTB a los fármacos aumenta con los años y constituirá una amenaza importante para el control de la tuberculosis en el mundo entero. El nuestro es uno de los 22 países con una alta
- 20 incidencia de tuberculosis en el mundo entero, el número de pacientes que sufre tuberculosis activa es el segundo del mundo, y las características epidémicas comprenden alta tasa de infección, alta tasa de casos, alta resistencia a los fármacos, alta tasa de mortalidad, y 1/4 o más de 2 millones de pacientes MTB positivos en todo el país son pacientes cuyo bacilo tuberculoso es resistente a los fármacos.
- 25 En la actualidad, los fármacos de primera línea que se usan comúnmente para el tratamiento clínico de la tuberculosis (con actividad de resistencia definida del *Micobacterium tuberculosis*) comprenden 5 tipos, que son, rifampicina, isoniazida, estreptomicina, etambutol y pirazinamida. Sin

embargo, estos fármacos tienen muchos efectos adversos y tienen acción bactericida limitada. El curso del tratamiento es relativamente largo, y se usan generalmente durante más de 6 meses. Y los pacientes tienen una adaptabilidad pobre. Los fármacos antituberculósicos de segunda línea (con acción bacteriostática sobre el *Micobacterium tuberculosis*) comprenden capreomicina, etionamida, ácido p-aminosalicílico, cicloserina, ciprofloxacina, amikacina, canamicina, etc. Sin embargo, estos fármacos tienen mayores reacciones adversas, y el curso del tratamiento es más largo (de 18 a 24 meses), el precio es caro y la tasa de curación es más baja. Es notorio que las investigaciones clínicas muestran que todos los antituberculósicos de primera línea pueden causar daño hepático. Por ejemplo: las reacciones adversas de la isoniazida comprenden neuritis periférica, hepatotoxicidad, afecciones del sistema nervioso central y alergia. Las reacciones adversas de la rifampicina comprenden hepatotoxicidad, molestias del tracto digestivo, síntomas neurológicos y alergia. Una reacción adversa del etambutol se manifiesta principalmente por toxicidad del nervio óptico. Las reacciones adversas de la pirazinamida comprenden xantocromia y aumento del contenido de ácido úrico en sangre. Los problemas de toxicidad y de resistencia bacteriana a la estreptomina limitan seriamente el uso de la estreptomina, y la tasa de incidencia de resistencia al fármaco se puede reducir mediante el uso conjunto de la estreptomina con otros fármacos, aunque los usos clínicos son pocos, la estreptomina aún sirve como un antituberculósico de primera línea. [Zhu, shanmei, Strait Pharmaceutical Journal, 2010, 22 (2): 123-125] Además, en 2010 se reportó que investigaciones hechas en 518 cepas clínicamente separadas de *Micobacterium tuberculosis* muestran que entre los fármacos de primera línea, la tasa de resistencia más alta del *Micobacterium tuberculosis* es a la isoniazida (53.67 %), y la resistencia a la estreptomina es 45.95 %; entre los fármacos de segunda línea, la resistencia a la ofloxacina alcanza 39.77 %, la resistencia a la amikacina es 15.83 %, y la resistencia a la capreomicina es 21.81 %; entre las 321 cepas resistentes a uno o más de los fármacos de primera línea, la resistencia a la ofloxacina llega hasta 57.01 %, y la resistencia a la amikacina y la resistencia a la capreomicina son 25.55 % y 33.02 %, respectivamente; entre las 217 cepas resistentes a múltiples fármacos, la resistencia a la ofloxacina alcanza 72.35 %. [Liu, Yidian, y otros, Compilation of Academic conference on clinical foundation profession of

Anti-Tuberculosis Association of China in 2010, Páginas 274-275]. Esto conlleva un reto severo para la implementación del trabajo de control de la tuberculosis, particularmente el trabajo de control con la tuberculosis resistente a múltiples fármacos en nuestro país. Por lo tanto, ya es urgente encontrar sustitutos contra el *Micobacterium tuberculosis* resistente, particularmente contra las
5 cepas resistentes a múltiples fármacos, lo antes posible.

Los nuevos fármacos macrólidos, tales como claritromicina, azitromicina y roxitromicina son derivados de la eritromicina de 14 miembros, son diferentes de los antituberculósicos de primera y de segunda línea en cuanto al mecanismo de acción antibacteriano y se unen reversiblemente a las subunidades 50S del tallo del ribosoma e interfieren la síntesis de proteínas. En nuestro país se ha
10 reportado que el MIC de la claritromicina al *Micobacterium tuberculosis* sensible es 0.25-2.0 microgramos/mililitro, y el MIC de la claritromicina a las bacterias resistentes a fármacos es 2.0-32 microgramos/mililitro; y el MIC de la azitromicina contra el *Micobacterium tuberculosis* es 128 microgramos/mililitro. [Tang, Shenjie, Latest progress of antituberculous research, Anti-Tuberculosis Journal of China, Páginas 1-3, suplemento, Vol.28, 2006]. Se ha reportado en el
15 extranjero que el MIC de la claritromicina contra el *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) es 6 microgramos/mililitro; el MIC de la azitromicina es 95 microgramos/mililitro. [Kanakeshwari Falzari y otros: In vitro and in vivo activities of macrolide derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob. Agents and Chemother. 2005, 49(4): 1447-1454]; y el MIC de la roxitromicina es mayor o igual a 64 microgramos/mililitro. Estos tipos de fármacos no se incluyen
20 entre los fármacos para el tratamiento clínico de la infección por *Micobacterium tuberculosis*, pero hay reportes de tratamiento clínico de enfermedades infecciosas por el bacilo tuberculoso mediante el uso de fármacos independientes o mediante el uso de fármacos junto con antituberculósicos.[Xu, Li, y otros, Investigation of application of antituberculous related antibacterial drugs for Shenzhen inpatients, Anti-Tuberculosis Journal of China, 2010, 32 (3): 151-154].

25 Se ha probado en investigaciones que los antibióticos ciclomacrólidos de 16 miembros y de 14 miembros tienen mecanismos de acción similares. Estos tipos de fármacos tienen baja actividad contra el *Micobacterium tuberculosis*, por ejemplo, el MIC de la tilosina contra el *M. tuberculosis*

H37Rv (ATCC 27294) es 58.6 microgramos/mililitro, y ambos, el MIC de la espiramicina y el MIC de la medamicina son mayores que 100 microgramos/mililitro. [Kanakeshwari Falzari y otros: In vitro and in vivo activities of macrolide derivatives against Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob. Agents and Chemother. 2005, 49(4): 1447-1454]. Por lo tanto, hasta el presente no hay reportes
5 relacionados con el tratamiento clínico de la tuberculosis mediante el uso de este tipo de antibióticos ni en nuestro país ni en el extranjero.

Un antibiótico novedoso, un macrólido de 16 miembros, es decir, la carrimicina (Nombre anterior: shengjimicina y biotecspiramicina) desarrollado por nuestro laboratorio es la espiramicina 4"-acilada que toma la isovaleril espiramicina como el ingrediente principal, y el mecanismo de
10 acción de la carrimicina es inhibir la síntesis de proteínas mediante la unión con los ribosomas de las bacterias. Estos resultados han demostrado en pruebas in-vivo e in-vitro, que la carrimicina es efectiva contra bacterias Gram-positivas, particularmente contra algunas bacterias resistentes a fármacos (por ejemplo, el estafilococo áureo resistente a β -lactama, el estafilococo áureo resistente a eritromicina, etc.) y está libre de la resistencia cruzada obvia con fármacos similares. Al mismo
15 tiempo, la carrimicina tiene muy buena actividad antibacteriana contra el micoplasma y la clamidia, también tiene actividad antibacteriana contra parte de las bacterias Gram-negativas y también tiene un buen efecto antibacteriano contra el toxoplasma, la legionella, etc. [Wang, Yiguang, y otros, "Biotechspiramycin and application thereof in infectious disease resistance", 23, diciembre, 2003, patente China de la descripción: ZL 2003 1 0122420.9]. La carrimicina tiene una buena
20 penetrabilidad en el tejido y el efecto in vivo de la actividad antibacteriana de la carrimicina es obviamente superior a la actividad antibacteriana in vitro. Y la carrimicina tiene una acción inmunorreguladora potencial. Se ha demostrado en investigaciones clínicas de fase I, II y III, que la carrimicina es un antibiótico seguro en su uso y con un efecto notorio en el tratamiento. Nuestro laboratorio además desarrolla los efectos potenciales de la carrimicina, y la indicación clínica y el
25 alcance del uso de la carrimicina están ampliados.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un objetivo de la presente descripción es proporcionar una serie de detecciones y de investigaciones experimentales sobre la actividad de la carrimicina contra *Micobacterium tuberculosis* clínicamente separados para probar que la carrimicina posiblemente tenga un nuevo uso en el tratamiento de las enfermedades infecciosas debidas al bacilo tuberculoso.

- 5 De acuerdo con la presente descripción, las etapas principales son las siguientes: se mide la actividad de resistencia de los bacilos tuberculosos clínicamente separados, es decir, *Micobacterium tuberculosis*, a la carrimicina mediante la adopción de un método de concentración absoluto, y se toman como controles fármacos antituberculósicos de primera línea que se usan clínicamente, es decir, isoniazida y rifampicina. Se ha probado por resultados
- 10 experimentales, que la carrimicina muestra actividad contra 172 cepas de 240 cepas de *Micobacterium tuberculosis* clínicamente separadas, y tiene una tasa de efectividad total de 71.66 %; 37 cepas tienen una actividad superior a la isoniazida y representan 21.5 % de las cepas efectivas; 39 cepas tienen una actividad superior a la rifampicina y representan 22.7 % de las cepas efectivas; y 23 cepas tienen una actividad superior a la isoniazida y la rifampicina y
- 15 representan 13.4 % de las cepas efectivas. Los resultados de la presente descripción muestran que el nuevo uso de la carrimicina en el tratamiento del *Micobacterium tuberculosis*, el cual es resistente a la isoniazida y a la rifampicina, está favorablemente desarrollado en enfermedades infecciosas.

La presente descripción además proporciona el uso de una composición en la fabricación de

20 fármacos para tratar las enfermedades infecciosas debidas al bacilo tuberculoso, la composición comprende la carrimicina como un ingrediente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con el uso proporcionado por la presente descripción, se puede usar la formulación oral, la formulación inyectable o cualquier otra formulación apropiada.

25 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Las modalidades más abajo se usan solamente para ayudar a los expertos en la técnica a comprender mejor la presente descripción, en lugar de limitar la presente descripción de alguna manera.

En modalidades específicas, se llevan a cabo una serie de investigaciones para medir la actividad de

resistencia del *Micobacterium tuberculosis* a la carrimicina, y se ha tomado como control el antituberculósico de primera línea que se usa frecuentemente en la clínica. Los resultados demuestran que para *Micobacterium tuberculosis* separado clínicamente, la cantidad de cepas efectivas sobre las cuales la carrimicina tiene efectos, es mayor que en los grupos controles. La carrimicina se aplica para tratar algunas enfermedades infecciosas debidas a *Micobacterium tuberculosis* resistente a fármacos.

<Modalidad 1> Adquisición y tratamiento del espécimen de *Micobacterium tuberculosis*

De acuerdo con la Norma Nacional WS288-2008 <Norma para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar> emitida por el Ministerio de Salud, se seleccionan los pacientes que están definitivamente diagnosticados o que son altamente sospechosos de tuberculosis por manifestaciones clínicas, signos e imágenes torácicas. De los pacientes seleccionados se recogieron aproximadamente 2 ml de especímenes de esputo, hidrotórax, líquido cefaloraquídeo y pus, y cada espécimen se depositó en un tubo de centrifuga de 50 ml con tapa de rosca. A cada tubo de centrifuga se añadió una solución de pretratamiento con una cantidad igual de N-acetil-L-cisteína hidróxido de sodio (NaOH-NALC) y se agitó en vortex durante 20 segundos. El material agitado en el vortex se dejó reposar durante 18 minutos a temperatura ambiente. Se añadió PBS (pH 6.8) hasta un volumen de 40 ml, se centrifugó a 3000 g durante 20 minutos, luego se desechó el sobrenadante y se reservó el precipitado. Se añadieron 2 ml de PBS (pH 6.8) para preparar la suspensión. Se inoculó un medio de cultivo con el espécimen tratado para cultivo sólido.

<Modalidad 2> Aislamiento, cultivo e identificación del espécimen de *Micobacterium tuberculosis*

1. Preparación del medio de cultivo:

Los ingredientes del medio de cultivo se muestran en la tabla 1. Todos los ingredientes se añadieron a agua destilada de acuerdo con la dosis listada, y los ingredientes se disolvieron completamente. Se hirvió durante 30 minutos o 15 minutos a presión alta a la temperatura de 121 °C.

Se tomaron huevos frescos de pollo, se lavaron con agua corriente, se cepillaron con agua jabonosa para limpiarlos y después que los huevos de pollo se escurrieron se les pasó un paño con alcohol al 75 % para desinfección. Se vertió el fluido del huevo en una copa esmaltada graduada y esterilizada, bajo condiciones de esterilidad, y se revolvió bien para obtener una mezcla uniforme. Entonces se filtró el fluido del huevo con una gasa estéril. Después se añadieron 1000 ml del fluido de huevo filtrado en el medio de cultivo y se mezcló todo uniformemente. Se añadieron 20 ml de verde malaquita al 2 %, y se mezcló uniformemente; se añadieron 7 ml del cultivo total en un tubo de

ensayo de subpaquete (18mm*180mm), y se dejó coagular durante 50 minutos a una temperatura de 85 °C en un termostato de vapor. El cultivo que se preparó se tomó del tubo de acuerdo con 5 %, y se cultivó durante 48 horas a una temperatura de 37 °C para examinarlo con esterilidad. Y el medio de cultivo se puso en un refrigerador a una temperatura de 4 °C para usarlo posteriormente después del examen con esterilidad, y se usa el cultivo durante un mes.

Tabla 1 Medio de cultivo

Ingrediente	Dosificación
Glutamato monosódico (pureza: 99 % o más)	7.20 g
Dihidrógeno Fosfato de Potasio	2.40 g
Sulfato magnésico	0.24 g
Citrato de magnesio	0.60 g
Glicerina	12 ml
Agua destilada	600 ml

2. Cultivo inoculado con el bacilo tuberculoso

Se aspiró 0.1 ml del espécimen tratado en la <modalidad 1>, y se inoculó uniformemente en la cara inclinada del medio de cultivo. La cara inclinada completa se cubrió con la suspensión. La cara inclinada inoculada del medio de cultivo se incubó en una incubadora a una temperatura de 37 °C. Las condiciones de crecimiento de las bacterias se observaron al tercer y séptimo días, luego la observación se realizó una vez a la semana. Los sospechosos positivos se sacaron oportunamente si se descubrían sospechosos positivos y la observación se realizó todos los días. El crecimiento positivo se verificó a través de la extensión del filtrado. Se determina que el cultivo es negativo de *Micobacterium tuberculosis* si no ocurre crecimiento bacteriano durante las 8 semanas del cultivo.

3. Tinción resistente al ácido del bacilo tuberculoso

Se tomó una pequeña cantidad de las cepas positivas de *Micobacterium tuberculosis* cultivadas y la cepa se esparció parejamente en láminas que se fijaron al fuego, se colorearon con una solución de ácido carbónico pétreo, se calentaron al fuego durante 5 minutos y se decoloraron con ácido clorhídrico al 3 % durante aproximadamente 1 minuto, y se enjuagaron con agua. Y entonces, después de contrastar con una solución de metileno alcalino durante 1 minuto, la cepa se enjuagó con agua, se puso a secar y se observó al microscopio con inmersión. La tinción roja era *Micobacterium tuberculosis*.

<Modalidad 3> Experimento sobre la actividad de resistencia del *Micobacterium tuberculosis* a la

carrimicina

1. Método de concentración absoluta

1) Antituberculosicos

Productos estándar de Carrimicina: derivados del Instituto Nacional para el Control de Productos Farmacéuticos y Biológicos; control de fármacos: isoniazida y rifampicina adquiridas a partir de productos estándar de Sigma. Las dosis que se requieren (tabla 2) se preparan a través de la preparación de soluciones madre a partir de los antituberculosicos de acuerdo con ciertas concentraciones y después se añaden al medio de cultivo de acuerdo con cierta cantidad.

2) Inoculación de las cepas

- 10 Se confirmó a través de la extensión, que las cepas de los especímenes clínicos separados son un cultivo de bacterias resistentes al ácido. Después aquello se diluyó en solución salina fisiológica que contenía tween 80 al 10 %, se realizó turbimetría con un tubo turbimétrico estándar de McFarland (Guangdong Huankai Microbiological technology Co., Ltd.). Se preparó una solución bacteriana de 10^{-2} mg/ml, y se inoculó a un medio de cultivo que contenía un fármaco de detección con la solución
- 15 bacteriana.

En cada lote de examen se dispusieron controles negativos y positivos. Un control negativo comprende un medio de cultivo libre de fármaco. Un control positivo comprende cepas estándar H37Rv de *Micobacterium tuberculosis*. El volumen de inoculación a cada tubo es 0.1 ml. El cultivo se llevó a cabo con el medio de cultivo inoculado a una temperatura de 37 °C.

- 20 Tabla 2 Dosis de antituberculosicos añadidos al medio de cultivo

Fármaco	El medio de cultivo contiene alta concentración de fármaco (µg/ml)	El medio de cultivo contiene baja concentración de fármaco (µg/ml)
Isoniazida	1	0.2
Rifampicina	250	50
Carrimicina	20	1

Nota: las cantidades de fármaco de primera línea que se usan en los experimentos de la presente descripción se diseñan de acuerdo con las cantidades reales que se usan en la clínica.

3) Resultado de la observación y juicio

La observación se realizó una vez 3 días después de la inoculación de la solución bacteriana, después,

la observación se realizó una vez a la semana, y el resultado se reportó en 4 semanas.

El resultado de un cultivo se enjuicia de acuerdo con los estándares siguientes:

(1) reportar que el cultivo de *Mycobacterium* es negativo (-) si el crecimiento de colonias bacterianas está ausente a través de 8 semanas de cultivo;

5 (2) reportar que el *Micobacterium* es positivo y el número de colonias bacterianas, si el número de colonias bacterianas que crece en la cara inclinada de un medio de cultivo es 20 o menos;

(3) reportar que el *Micobacterium* es positivo (1+) si las colonias bacterianas crecen dispersas en la cara inclinada del medio de cultivo y ocupan 1/4 o menos del área de la cara inclinada y el número de colonias bacterianas es 20 o más;

10 (4) reportar que el cultivo de *Micobacterium* es positivo (2+) si las colonias bacterianas crecen dispersas en la cara inclinada del medio de cultivo y ocupan 1/4 o más de la cara inclinada y 1/2 o menos de la cara inclinada;

(5) reportar que el *Micobacterium* es positivo (3+) si las colonias bacterianas crecen cercanas en la cara inclinada del medio de cultivo o están parcialmente fusionadas y ocupan 1/2 o más de la cara inclinada y 3/4 o menos de la cara inclinada; y

(6) reportar que el *Micobacterium* es positivo (4+) si las colonias bacterianas crecen cercanas en la cara inclinada del medio de cultivo y ocupan 3/4 o más del área de la cara inclinada.

2. Actividad de resistencia del *Micobacterium tuberculosis* a la carrimicina

1) *Micobacterium tuberculosis* clínicos sensibles a carrimicina

20 Entre las 240 cepas de *Micobacterium tuberculosis* clínicamente separadas e identificadas, 172 cepas fueron sensibles a 1 µg/ml o 20 µg/ml de carrimicina (tabla 3). Como se puede apreciar en la tabla 3, 92 cepas de las 172 cepas clínicamente separadas sensibles a carrimicina tienen una sensibilidad equivalente a la de las cepas del control de calidad H37Rv en un laboratorio y representan 53.48 % de las cepas efectivas. Las otras 80 tienen una sensibilidad obviamente superior

25 que la de las cepas del control de calidad H37Rv en un laboratorio; y 54 cepas son sensibles a 1 µg/ml de carrimicina y representan 31.39 % de las bacterias totales efectivas. Por lo tanto, la carrimicina tiene mejor actividad contra los *Micobacterium tuberculosis* clínicamente separados.

Tabla 3 *Micobacterium tuberculosis* clínicos sensibles a carrimicina

Número de serie	1 (µg/ml)	20 (µg/ml)	Número de serie	1 (µg/ml)	20 (µg/ml)	Número de serie	1 (µg/ml)	20 (µg/ml)
-----------------	-----------	------------	-----------------	-----------	------------	-----------------	-----------	------------

Control de calidad	4+	-	57	4+	-	115	4+	+
Control	4+		58	-	-	116	4+	-
1	4+	-	59	4+	-	117	4+	+
2	4+	+	60	4+	-	118	4+	-
3	4+	-	61	4+	-	119	4+	-
4	4+	+	62	4+	-	120	2+	-
5	4+	-	63	4+	-	121	-	-
6	4+	-	64	4+	-	123	-	-
7	4+	+	65	-	-	124	-	-
8	4+	-	66	4+	-	125	-	-
9	4+	-	67	4+	-	126	-	-
10	4+	+	68	4+	+	127	+	-
11	4+	+	69	4+	-	128	-	-
12	+	-	70	4+	-	129	-	-
13	4+	+	71	4+	-	130	-	-
14	4+	-	72	4+	-	131	-	-
15	4+	-	73	4+	-	132	-	-
16	-	-	74	4+	-	133	-	-
17	4+	+	75	4+	-	134	+	-
18	4+	+	76	4+	-	135	-	-
19	+	-	77	4+	-	136	4+	-
20	4+	-	78	4+	-	137	4+	-
21	4+	-	79	4+	-	138	4+	-
22	4+	-	80	4+	-	139	4+	-
23	4+	-	81	4+	-	140	+	-
24	4+	+	82	+	-	141	4+	-
25	4+	+	83	4+	-	142	4+	+
26	4+	-	84	-	-	143	4+	-
27	4+	-	85	-	-	144	4+	-
28	4+	-	86	-	-	145	4+	-
29	4+	+	87	-	-	146	4+	-
30	4+	+	88	-	-	147	4+	2+
31	4+	+	89	+	-	148	-	-
32	+	-	90	-	-	149	4+	-
33	+	-	91	-	-	150	4+	-
34	4+	-	92	+	-	151	4+	+
35	4+	-	93	-	-	152	4+	-
36	4+	+	94	-	-	153	4+	-
37	+	-	95	-	-	154	4+	-
38	-	-	96	2+	-	155	4+	+
39	4+	-	97	-	-	156	4+	+

40	4+	-	98	4+	-	157	-	-
41	4+	-	99	4+	-	158	2+	-
42	4+	-	100	4+	-	159	-	-
43	4+	-	101	4+	-	160	-	-
44	4+	-	102	-	-	161	4+	-
45	4+	-	103	4+	-	162	-	-
46	4+	-	104	4+	-	163	-	-
47	4+	-	105	4+	-	164	-	-
48	4+	-	106	-	-	165	-	-
49	4+	-	107	4+	-	166	3+	-
50	4+	-	108	4+	-	167	-	-
51	4+	-	109	4+	-	168	-	-
52	4+	-	110	4+	-	169	4+	-
53	4+	-	111	4+	-	170	-	-
54	4+	-	112	4+	-	171	-	-
55	4+	-	113	4+	-	172	-	-
56	4+	-	114	4+	-			

Control de calidad: cepas de *Micobacterium tuberculosis* estándar de laboratorio H37Rv sirven como control positivo;

Control: un medio de cultivo libre de fármaco. Todas las cepas separadas que crecen en el medio de cultivo libre de fármaco son 4+.

5 2) Comparación de la actividad de la carrimicina y la isoniazida contra algunos *Micobacterium tuberculosis* clínicos

Se compara la actividad de la carrimicina y la actividad de la isoniazida como antituberculósico de primera línea, es decir, isoniazida contra *Micobacterium tuberculosis* clínico, y el resultado muestra que 20 µg/ml de carrimicina es efectivo contra 37 cepas de *Micobacterium tuberculosis* clínicos

10 resistentes a isoniazida (tabla 4).

Tabla 4 Comparación de la sensibilidad de la carrimicina y la isoniazida contra *Micobacterium tuberculosis* clínicos

Número de serie	Isoniazida		Carrimicina	
	0.2 (µg/ml)	1 (µg/ml)	1 (µg/ml)	20 (µg/ml)
1	4+	4+	4+	+
2	4+	+	4+	-
3	4+	4+	4+	-
4	4+	4+	4+	-
5	4+	4+	+	-

6	4+	4+	4+	-
7	4+	4+	4+	-
8	4+	+	4+	-
9	3+	3+	4+	-
10	4+	4+	4+	-
11	4+	4+	4+	-
12	4+	4+	4+	-
13	4+	4+	4+	-
14	4+	+	4+	-
15	3+	-	-	-
16	4+	4+	4+	-
17	4+	4+	4+	-
18	4+	4+	4+	-
19	4+	4+	4+	-
20	4+	4+	4+	-
21	4+	4+	4+	-
22	4+	4+	4+	-
23	4+	4+	4+	+
24	4+	4+	4+	+
25	4+	4+	4+	-
26	4+	4+	2+	-
27	4+	4+	2+	-
28	3+	-	-	-
29	4+	4+	-	-
30	4+	3+	4+	-
31	4+	3+	-	-
32	4+	4+	-	-
33	3+	2+	3+	-
34	4+	2+	-	-
35	4+	4+	4+	-
36	4+	4+	-	-
37	3+	-	2+	-

3) Comparación de la actividad de la carrimicina y la rifampicina contra varios *Micobacterium tuberculosis* clínicos

Se compara la actividad de la carrimicina y la actividad de los antituberculosos clínicos de primera línea, es decir, la rifampicina contra *Micobacterium tuberculosis* clínicamente separados, y un resultado experimental muestra que 20 µg/ml de carrimicina es efectivo en 39 cepas de *Micobacterium tuberculosis* resistentes clínicamente a la rifampicina (tabla 5).

Tabla 5 Comparación de la sensibilidad del *Micobacterium tuberculosis* clínico a la carrimicina y a la rifampicina.

Número de serie	Rifampicina		Carrimicina	
	50 (µg/ml)	250 (µg/ml)	1 (µg/ml)	20 (µg/ml)
1	4+	4+	4+	-
2	4+	2+	4+	-
3	4+	4+	4+	+
4	4+	+	4+	-
5	4+	+	4+	-
6	4+	4+	4+	-
7	4+	+	4+	-
8	4+	4+	4+	+
9	4+	-	+	-
10	4+	4+	4+	-
11	4+	4+	4+	-
12	4+	-	-	-
13	4+	4+	4+	+
14	4+	4+	4+	+
15	3+	+	-	-
16	3+	+	-	-
17	4+	+	4+	-
18	2+	+	4+	-
19	4+	4+	-	-
20	4+	4+	4+	-
21	4+	4+	4+	-
22	4+	+	4+	-
23	4+	4+	4+	-
24	2+	+	4+	-
25	4+	4+	-	-
26	4+	4+	4+	-
27	4+	+	4+	-
28	4+	4+	4+	+
29	2+	-	+	-
30	4+	-	2+	-
31	4+	-	2+	-
32	4+	+	-	-
33	2+	-	-	-
34	2+	-	-	-
35	4+	-	-	-
36	4+	2+	-	-
37	4+	-	-	-

38	4+	4+	-	-
39	3+	+	2+	-

La actividad de la carrimicina contra algunos *Micobacterium tuberculosis* clínicos es superior que la de 250 µg/ml de rifampicina.

4) Comparación de la actividad de la carrimicina contra algunos *Micobacterium tuberculosis* clínicos resistentes a la isoniazida y a la rifampicina

- 5 Se comparan las actividades de la carrimicina contra *Micobacterium tuberculosis* clínicos resistentes a la isoniazida y a la rifampicina, y un resultado experimental muestra que la actividad de 20 µg/ml de carrimicina contra 23 cepas de *Micobacterium tuberculosis* clínicos es superior que la de 1 µg/ml de isoniazida y que la de 250 µg/ml de rifampicina (tabla 6).

Tabla 6 Comparación de la actividad de la carrimicina contra algunos *Micobacterium tuberculosis* clínicos resistentes a isoniazida y a rifampicina

Número de serie	Isoniazida		Rifampicina		Carrimicina	
	0.2 (µg/ml)	1 (µg/ml)	50 (µg/ml)	250 (µg/ml)	1 (µg/ml)	20 (µg/ml)
1	4+	4+	2+	+	4+	-
2	4+	+	4+	+	4+	-
3	4+	4+	4+	+	4+	-
4	4+	4+	4+	-	+	-
5	4+	4+	4+	4+	4+	-
6	4+	4+	4+	4+	4+	+
7	3+	+	3+	+	-	-
8	4+	-	3+	+	-	-
9	3+	3+	2+	+	4+	-
10	4+	4+	4+	4+	4+	-
11	4+	4+	4+	4+	4+	-
12	4+	4+	2+	+	4+	-
13	3+	-	4+	4+	-	-
14	4+	4+	4+	4+	4+	-
15	4+	4+	4+	+	4+	-
16	4+	4+	4+	4+	4+	+
17	3+	-	4+	+	-	-
18	4+	4+	2+	-	-	-
19	+	-	2+	-	-	-
20	4+	4+	4+	-	-	-
21	4+	2+	4+	-	-	-

22	4+	4+	4+	4+	4+	-
23	3+	-	3+	+	2+	-

Los resultados experimentales de la presente descripción han probado que la carrimicina no solamente tiene actividad contra bacterias sensibles a los antituberculósicos de primera línea, es decir isoniazida y rifampicina, sino que también tiene actividad contra parte de las bacterias resistentes a fármacos de la isoniazida y rifampicina.

- 5 Y, por tanto, se logra ventajosamente el nuevo uso de la carrimicina en tratamientos clínicos de enfermedades infecciosas por *Micobacterium tuberculosis*.