

Asociación de la tuberculosis pulmonar con los antígenos del sistema HLA en el Noreste de México

María de los Ángeles Rojas-Alvarado,^{a,b} María Luisa Díaz-Mendoza,^{b,c}
Salvador Said-Fernández,^d Guillermo Caballero-Olín^e y Ricardo M. Cerda-Flores^{a,b,f*}

^aDepartamento de Genética de Poblaciones y Bioinformática, Centro de Investigación Biomédica del Noreste, CIBIN-IMSS,

^bFacultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), ^cDepartamento de Patología Clínica, Hospital de Especialidades 25, IMSS, ^dLaboratorio de Micobacteriología, CIBIN-IMSS, ^eDepartamento de Medicina Preventiva, Unidad de Medicina Familiar 28, IMSS, ^fFacultad de Enfermería, UANL, Monterrey, N.L., México

Recibido en su versión modificada: 24 de agosto de 2007

Aceptado: 8 de febrero de 2008

RESUMEN

Antecedentes: La susceptibilidad genética a tuberculosis pulmonar (TbP) ha sido asociada al sistema HLA (antígenos de los leucocitos humanos) del MHC (complejo mayor de histocompatibilidad), principalmente con los antígenos HLA-DR y -DQ. Dado lo anterior, el objetivo de este estudio caso-control no pareado, fue determinar la asociación de TbP con los antígenos HLA-DR y -DQ en pacientes que asistían a una unidad médica del IMSS.

Métodos: Los fenotipos del sistema HLA de casos (n=50) y controles (n=417), se definieron serológicamente por la técnica de microlinfocitotoxicidad dependiente de complemento. Los linfocitos B fueron obtenidos utilizando inmunoperlas. Las frecuencias alélicas y haplotípicas, equilibrio de Hardy-Weinberg y el desequilibrio de ligamiento, se determinaron mediante el programa computacional Arlequin versión 3.01, y el riesgo relativo (RR) mediante el programa Epimax Table Calculator.

Resultados: Los alelos HLA-DR11(5), -DR16(2) y -DQ7(3) y los haplotipos /DR11(5)-DQ7(3), /DR14(6)-DQ5(1) y /DR16(2)-DQ7(3) fueron más frecuentes en casos que en controles (RR>1, p<0.05). Los alelos HLA-DR17(3) y DQ8(3) y los haplotipos /DR17(3)-DQ2 y /DR4-DQ8(3) fueron más frecuentes en controles que en casos (RR<1, p<0.05).

Conclusiones: Estos resultados sugieren asociación entre TbP y HLA-DR y -DQ en esta población mestiza mexicana y son similares a los encontrados en otros estudios caso-control no pareados a nivel mundial.

Palabras clave:
Tuberculosis, MHC, HLA

SUMMARY

Background: Genetic susceptibility to pulmonary tuberculosis (PTb) has been associated with the HLA (Antigens of the Human Leukocytes) system of the MHC (Major Histocompatibility Complex), mainly with HLA-DR and -DQ antigens. Based on this assumption we carried out a case control study to determine the association of PTb with the HLA-DR and -DQ antigens among a sample of patients attending a medical unit belonging to the Mexican Social Security System (IMSS).

Methods: HLA system phenotypes from cases (n=50) and controls (n=417), were defined serologically using a complement dependent microlymphocytotoxic assay. B lymphocytes were obtained using immunobeads. The allele and haplotype frequencies were determined using the Arlequin version 3.01 computer software. Relative risk (RR) was calculated with the Epimax Table Calculator.

Results: The alleles HLA-DR11(5), -DR16(2) and -DQ7(3) and haplotypes /DR11(5)-DQ7(3), /DR14(6)-DQ5(1) and /DR16(2)-DQ7(3) had a higher frequency in cases than in controls (RR>1, p<0.05). The HLA-DR17(3) and DQ8(3) alleles and /DR17(3)-DQ2 and /DR4-DQ8(3) haplotypes had a higher frequency among controls than among cases (RR<1, p<0.05).

Conclusions: These results indicate an association between PTb with the HLA-DR and -DQ antigens in a Mexican sample. Our results are similar to those found in the international literature.

Key words:
Tuberculosis, MHC, HLA

Introducción

La tuberculosis pulmonar (TbP) ha sido considerada por la Organización Mundial de la Salud como una enfermedad reemergente.¹ Se calcula que diariamente 23 mil personas desarrollan tuberculosis activa y cerca de 5 mil mueren por esta causa.² La prevalencia mundial estimada de la tuberculosis es de 30 millones de casos, los cuales en

su mayoría son TbP. Aproximadamente 80% de estos casos ocurre en los países en desarrollo tales como los latinoamericanos, y en especial Perú, donde la incidencia y la prevalencia son especialmente altas.³

La infección por bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* multidrogosresistentes, así como la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana están propiciando la diseminación de la enfermedad en ámbitos económicos y sociales

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Ricardo M. Cerda-Flores. Departamento de Genética de Poblaciones y Bioinformática, Centro de Investigación Biomédica del Noreste, 2 de Abril 501, Col. Independencia, 64720 Monterrey, N. L., México. Tel: (81) 8190 4036. Fax: (81) 8190 4035. Correo electrónico: ricardocerda_mx@yahoo.com.mx

antes no previstos.⁴ Estudios recientes han considerado que las amplias diferencias en la virulencia entre las diferentes cepas del patógeno son indicativas de una gran coevolución entre los humanos y la enfermedad. En otras palabras, desde el punto de vista filogenético, la coevolución del agente infectante con el huésped es una concordancia de la genética de la micobacteria con la genética del hospedero.⁵

La TbP es una enfermedad multifactorial, cuyo desarrollo e historia natural resulta de la interacción de factores ambientales y genéticos.¹

Los antígenos de los leucocitos humanos HLA (*human leukocyte antigens*) del MHC (*major histocompatibility complex*) han sido asociados con susceptibilidad o resistencia a TbP. Cuando dicha asociación conlleva mayor riesgo relativo (RR) de padecer TbP, se conoce como asociación positiva (RR>1). Por el contrario, la asociación de los antígenos HLA con resistencia a TbP se conoce como asociación negativa (RR<1).⁶

Meyer y colaboradores⁶ reconocen que la inmunosupresión y el progreso de la enfermedad parecen ser controlados por el sistema HLA.

En algunos estudios se ha encontrado asociación positiva entre TbP y varios antígenos HLA clase I en diferentes grupos humanos, pero los antígenos de esta clase han variado de una población a otra.⁷⁻⁹ Por otro lado, los antígenos clase II HLA-DR y -DQ han presentado una mayor consistencia en la asociación.^{7,9-25} A su vez, en algunos estudios se ha encontrado asociación negativa de la TbP con los antígenos HLA-DR y -DQ.^{12,15,24-26}

Desde el punto de vista clínico, se ha sugerido que el conocimiento detallado y amplio de estos marcadores genéticos en los pacientes con TbP, permite evaluar rápidamente la naturaleza de un proceso tuberculoso, definir su pronóstico y bajo estas bases, elegir el tratamiento adecuado que debe consistir en una quimioterapia más agresiva y específica en aquellos pacientes con antígenos HLA que predisponen a un cuadro clínico más severo.⁷

Dado lo anterior, el objetivo del presente estudio de caso-control no pareado fue conocer si existe asociación entre la TbP y los antígenos HLA-DR y -DQ.

Material y métodos

Población y diseño de muestreo

Se realizó un estudio de caso-control no pareado en población mestiza mexicana, no emparentada y cuyos cuatro abuelos nacieron en algunos de los cinco estados que conforman el Noreste de México: Nuevo León, Tamaulipas, Coahuila, San Luis Potosí y Zacatecas; de estos se integraron dos grupos: casos y controles.

Casos

Se incluyeron derechohabientes de la Unidad de Medicina Familiar 28 del Instituto Mexicano del Seguro Social, susceptibles a TbP. Definimos como susceptibles a todos los

pacientes con diagnóstico de TbP. Esta población derechohabiente del IMSS corresponde a la Jurisdicción Sanitaria 1 de la Secretaría de Salud en el estado de Nuevo León, la cual tiene su circunscripción en el poniente del Municipio de Monterrey. El estudio se desarrolló por entrevista personal a 50 personas que acudían a consulta, con diagnóstico clínico de TbP. Se realizó un muestreo no probabilístico (por casos consecutivos) en un periodo de un año²⁷ a pacientes de uno u otro sexo, sin importar la edad, con imagen radiológica sugerente de TbP y baciloscopia positiva (presencia de BAAR en frotis de esputo); el diagnóstico de TbP se confirmó posteriormente por cultivo micobacteriológico. Los casos excluidos fueron los que tuvieron una o varias de las siguientes características:

- Parentesco del candidato a participante con otro paciente incluido en este grupo.
- Cultivo negativo para micobacterias del complejo de la tuberculosis.
- Sida.
- Tratamiento con medicamentos inmunosupresores.
- Pacientes que no aceptaron participar en el proyecto.

Controles

Se estudiaron 417 personas que acudían al Hospital de Especialidades 25 del IMSS en esta ciudad, para posible donación renal. Dado lo anterior, el número de controles por casos fue en una proporción de 8:1, de acuerdo a lo propuesto por Coggon y colaboradores²⁸ para estudios de asociación de una enfermedad con el sistema HLA.

Cultivo de micobacterias: el diagnóstico clínico en los casos se confirmó por cultivo e identificación de *M. tuberculosis* (a partir de esputo) en medio de Lowenstein Jensen-Holm a 37 °C, que se incubó por cuatro a ocho semanas.²⁹

Tipificación para los antígenos HLA clase II: el aislamiento de los linfocitos B se llevó a cabo mediante la técnica de perlas inmunomagnéticas (inmunoperlas)³⁰ y la tipificación de los antígenos HLA, mediante la técnica serológica de microlinfocitotoxicidad dependiente de complemento.³¹

Análisis estadístico: de los datos obtenidos para los casos y controles se realizaron tres procesos:

- Los 50 casos con TbP fueron analizados con estadística descriptiva mediante el paquete estadístico SPSS versión 10.0, tomando en cuenta ocho parámetros sociodemográficos: sexo, lugar de nacimiento, escolaridad, ingreso mensual familiar, vivienda en condiciones de hacinamiento, consumo de alcohol, abuso de drogas y tabaquismo; y siete fisiopatológicos: aplicación de BCG, Combe, familiares con TbP, antecedentes de TbP, pérdida de peso, otros síntomas y diabetes mellitus tipo 2.
- Para el análisis genético de los 467 individuos se utilizó el programa de Genética de Poblaciones Arlequín versión 3.01. Se determinaron las frecuencias alélicas, así como la prueba exacta del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW). La configuración *cis* para la asignación haplotípica y la determinación de sus frecuencias para genotipos con fase desconocida, fueron generadas a través del algoritmo

mo de expectación maximizada. La prueba exacta de HW también se realizó a nivel haplotípico; así como la prueba de razón de probabilidades de desequilibrio de ligamiento entre HLA-DR y -DQ asumiendo equilibrio de ligamiento.

- c) De los 15 alelos para HLA-DR, siete alelos HLA-DQ y 26 haplotipos encontrados en los casos y de los 13 alelos para HLA-DR, siete alelos HLA-DQ y 40 haplotipos encontrados en los controles, sólo se analizaron cinco alelos (DR11, DR16, DR17, DQ7 y DQ8) y cinco haplotipos (DR11-DQ7, DR14-DQ5, DR16-DQ7, DR17-DQ2 y DR4-DQ8), cuya frecuencia estuvo incrementada en uno u otro grupo. En estos alelos y haplotipos incrementados se cálculo de χ^2 , RR y su significancia estadística mediante el programa *Epimax Table Calculator* (disponible en <http://www.healthstrategy.com/epiper/htm>). Este paso final se efectuó para determinar si la

asociación era positiva ($RR > 1$) o negativa ($RR < 1$). Para esto, se crearon tablas de contingencia 2 x 2 donde las columnas corresponden a los grupos de estudio (controles y casos) y las hileras corresponden a:

- 1) Número de individuos para cada uno de los alelos o haplotipos incrementados y específicos.
- 2) La diferencia del total de controles (n=417) y de casos (n=50). El nivel de significancia para todas las pruebas fue < 0.05 .

Resultados

La edad de los 467 individuos estudiados varió de 18 a 79 años. En los 50 casos obtenidos del IMSS se observaron los siguientes factores:

- a) *Sociodemográficos*: una prevalencia de TbP de 68% en personas nacidas fuera del estado de Nuevo León, escolaridad primaria en 52.5%, ingreso familiar mensual alrededor de dos a tres salarios mínimos, 26% vivía en condiciones de hacinamiento, 50% consumía alcohol, 12% era adicto a alguna droga de consumo y 48% era adicto al tabaco (Cuadro I).
- b) *Fisiopatológicos*: más de 50% recibió la vacuna BCG, 38% fue Combe positivo, 23% tenía familiares con tuberculosis, 40% tenía antecedentes de haber padecido tuberculosis, 87.50% presentó pérdida de peso en diferentes proporciones, aproximadamente 18% fue positivo para otros síntomas sugerentes de TbP y casi 38% tenía antecedentes de padecer diabetes mellitus tipo 2 (Cuadro II).

En el cuadro III se presentan las frecuencias génicas para los alelos HLA-DR y -DQ en casos y controles. Se encontró que ambos grupos estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$). Para los casos se encontraron 26 haplotipos y en desequilibrio de ligamiento ($\chi^2 = 164.28$, $gL = 72$, $p = 0.000001$) y para los controles 40 haplotipos y en desequilibrio de ligamiento ($\chi^2 = 1789.87$, $gL = 84$, $p = 0.000001$). Las diferencias estadísticas para las frecuencias alélicas y haplotípicas entre los casos y los controles se presentan en los cuadros IV y V, respectivamente.

En el cuadro IV se presentan los RR para los alelos DR y DQ, cuyas frecuencias se encontraron incrementadas significativamente en casos y controles. Los alelos DR11(5), DR16(2) y DQ7(3) tuvieron frecuencias más altas en los casos que en los controles mostrando una asociación positiva con TbP ($RR > 1$), mientras que los alelos DR17(3) y DQ8(3) tuvieron frecuencias más altas en los controles que en los casos, mostrando una asociación negativa ($RR < 1$).

En el cuadro V se presentan los RR para los haplotipos HLA-DR/DQ incrementados significativamente en casos y controles. Los haplotipos /DR11(5)-DQ7(3), /DR14(6)-DQ5(1), /DR16(2)-DQ7(3) tuvieron frecuencias más altas en los casos que en los controles mostrando una asociación positiva ($RR > 1$). Además se observa que en el haplotipo /DR14(6)-DQ5(1), tanto el antígeno DR14(6) como el antígeno DQ5(1) se asocian

Cuadro I. Descripción de los factores sociodemográficos de los enfermos con tuberculosis pulmonar

Variable	Frecuencia	%
Sexo		
Hombres	31	62.00
Mujeres	19	38.00
Nacido en Nuevo León		
Sí	16	32.00
No	34	68.00
Escolaridad		
Analfabeta	3	7.50
Primaria	21	52.50
Secundaria	9	22.50
Preparatoria o técnico	5	12.50
Profesionista	2	5.00
No hay dato	10	
Ingreso mensual familiar		
Hasta 1 salario mínimo	8	22.22
2 a 3 salarios mínimos	17	47.22
Hasta 4 salarios mínimos	4	11.11
Más de 5 salarios mínimos	7	19.45
No hay dato	14	
Vivienda en condiciones de hacinamiento		
Sí	11	26.19
No	31	73.81
No hay dato	8	
Consumo de alcohol		
Sí	15	50.00
No	15	50.00
No hay dato	20	
Abuso de drogas		
Sí	3	12.00
No	22	88.00
No hay dato	25	
Tabaquismo		
Sí	14	48.28
No	15	51.72
No hay dato	21	

Cuadro II. Descripción de los factores fisiopatológicos de los enfermos con tuberculosis pulmonar

Variable	Frecuencia	%
Aplicación de BCG		
Positivo	23	58.97
Negativo	16	41.03
No hay dato	11	
Combe		
Positivo	16	38.10
Negativo	26	61.90
No hay dato	8	
Familiares con tuberculosis		
Sí	7	23.33
No	23	76.67
No hay dato	20	
Antecedentes de tuberculosis		
Sí	16	40.00
No	24	60.00
No hay dato	10	
Pérdida de peso		
<10%	16	40.00
>10%	15	37.50
Se ignora %	4	10.00
Negativo	5	12.50
No hay dato	10	
Otros síntomas sugerentes de TbP		
Positivo	7	17.95
Negativo	32	82.05
No hay dato	11	
Diabetes mellitus tipo 2		
Sí	11	37.93
No	18	62.07
No hay dato	21	

positivamente a TbP únicamente en forma haplotípica, ya que no se encontró asociación de estos antígenos en forma alélica y el haplotipo formado por ambos antígenos fue el que tuvo el mayor RR (7.22). A su vez, los haplotipos /DR17(3)-DQ2 y el /DR4-DQ8(3) cuyas frecuencias fueron más altas en controles que en casos, mostraron asociación negativa ($RR < 1$). En este grupo de controles, se encontró a los antígenos HLA-DR4 y -DQ2 asociados negativamente a TbP únicamente en forma haplotípica.

Discusión

Para la discusión de los resultados del presente trabajo, los antígenos del sistema HLA asociados con TbP se han comparado con otros informes a nivel serológico y para aquellos en los cuales se han definido por técnicas de biología molecular, se ha tomado en cuenta la especificidad serológica correspondiente al alelo tipificado a nivel molecular.

Haber encontrado al alelo HLA-DR16(2) incrementado significativamente en casos y con el mayor RR a nivel de

Cuadro III. Frecuencias génicas estimadas para los loci HLA-DR y -DQ en personas con y sin tuberculosis pulmonar

Alelo HLA	Controles	Casos
DR1	0.07314	0.04000
DR10	0.00719	0.00000
DR103	0.01079	0.00000
DR11	0.06355	0.12000
DR12	0.02038	0.01000
DR13	0.07314	0.07000
DR14	0.05755	0.10000
DR15	0.09472	0.04000
DR16	0.01918	0.09000
DR17	0.07914	0.01000
DR18	0.00719	0.01000
DR4	0.27818	0.25000
DR7	0.06235	0.10000
DR8	0.14149	0.15000
DR9	0.01199	0.01000
DQ2	0.15468	0.11000
DQ4	0.14508	0.19000
DQ5	0.11511	0.11000
DQ6	0.15108	0.14000
DQ7	0.27578	0.41000
DQ8	0.14988	0.03000
DQ9	0.00839	0.01000

alelo, concuerda con lo mencionado por Mehra y colaboradores para poblaciones de la India (DRB1*1602),³² Polonia (DRB1*1601),^{11,12} y China, donde este mismo alelo se correlacionó cercanamente a la incidencia de TbP y se sugirió que otra posibilidad es que esté ligado a genes funcionales de susceptibilidad.¹⁵ Selvaraj y colaboradores demostraron que los genes/productos génicos de HLA-DR2 (antígeno paterno de DR16) pueden estar asociados con un papel regulador en el mecanismo de la susceptibilidad a enfermedad en la tuberculosis.²¹ Difiere a lo observado en otro estudio en población mexicana, donde la TbP ha sido asociada al antígeno HLA-DR15(2) (DRB1*1501).²³

Los resultados respecto al antígeno DR11(5) incrementado significativamente en casos, indicando asociación positiva o mayor riesgo para padecer TbP en este grupo, están de acuerdo con los de Dovgaliuk y colaboradores, quienes encontraron incrementado a su antígeno paterno DR5.⁹

Cuadro IV. Riesgo Relativo para los alelos HLA-DR y -DQ incrementados significativamente en personas con y sin tuberculosis pulmonar

Alelo HLA	Controles	Casos	χ^2	p	Riesgo relativo
DR11(5)	53	12	3.850	0.0490	1.95 (1.001;3.602)
DR16(2)	16	9	14.991	0.0001	3.881 (1.882;6.854)
DR17(3)	66	1	5.913	0.0150	0.121 (0.006;0.765)
DQ7(3)	230	41	12.130	0.0010	3.295 (1.594;7.171)
DQ8(3)	125	3	11.720	0.0010	0.169 (0.042;0.543)

Cuadro V. Riesgo relativo para los haplotipos /HLA-DR-DQ incrementados significativamente en personas con y sin tuberculosis pulmonar.

Haplotipo	Controles	Casos	χ^2	P	Riesgo Relativo
DR11(5)-DQ7(3)	46	11	4.041	0.0440	2.029(1.016;3.787)
DR14(6)-DQ5(1)	4	8	34.559	0.0001	7.22(3.607;10.233)
DR16(2)-DQ7(3)	8	4	4.390	0.0360	3.297(1.068;6.851)
DR17(3)-DQ2	65	1	5.719	0.0170	0.124(0.006;0.782)
DR4-DQ8(3)	125	3	11.722	0.0010	0.169(0.042;0.543)

Respecto a los antígenos HLA-DQ, haber encontrado asociación de tuberculosis con el antígeno DQ7(3), coincide con lo señalado por Lombard y colaboradores,³³ quienes encontraron a DQB1*0301-0304 asociado a TbP en población de Venda, Sudáfrica, y cuya correspondencia serológica equivale a DQ7(3).³⁴

En cuanto a los haplotipos HLA-DR/-DQ en asociación con TbP, DR14-DQ5(1) concuerda con lo mencionado por Dubaniewicz y colaboradores, quienes encontraron al haplotipo DRB1*14-DQB1*05 asociado a TbP en población de Polonia.¹² No se halló concordancia de nuestros resultados con lo informado por Mehra y colaboradores,¹⁷ y Ravikumar y colaboradores,²⁰ quienes informan un haplotipo asociado: /DR15(2)-DQ6(1) (/DRB1*1501-DQB1*0601).

De los haplotipos asociados con TbP en el presente trabajo, en /DR11(5)-DQ7(3) y /DR16(2)-DQ7(3) puede observarse que intervienen antígenos para los cuales también se encontró asociación con TbP a nivel de alelo. El haplotipo /DR14(6)-DQ5(1) es el de mayor RR, tanto a nivel de alelos como de haplotipos y para cuyos alelos no se encontró asociación con TbP en forma aislada en este estudio. Sin embargo, en este haplotipo DR14(6) fue asociado a TbP en población rusa^{16,18} y de la India, además se identificó como factor de riesgo para tuberculosis con múltiples resistencias a medicamentos antifímicos,²² y en lo que respecta a DQ5(1) es mencionado asociado a TbP a nivel alélico por Terán-Escandón y colaboradores.²³

Haber encontrado al alelo DR17(3) incrementado en controles, indicando asociación negativa o protección contra TbP en este grupo, está de acuerdo con lo informado por Cox y colaboradores para DR3 como antígeno paterno de DR17(3).²⁶

Respecto a los haplotipos cuya frecuencia está incrementada significativamente en controles, para /DR17(3)-DQ2 los resultados sólo concuerdan con lo informado anteriormente a nivel alélico; además de DR17(3) discutido anteriormente, DQ2 (DQB1*020) se ha asociado con resistencia a TbP en forma alélica en población de Polonia³⁵ y respecto a /DR4-DQ8(3), a DQ3 se le ha encontrado asociado también con resistencia a TbP en forma haplotípica (/DRB1*11-DQB1*03),¹² y en forma alélica en población tailandesa (DQB1 *0301).²⁴

Que 68% de los pacientes con TbP no fueran originarios de Nuevo León (12% de Coahuila y Tamaulipas y 56% de Zacatecas, San Luis Potosí y Durango), indica que este grupo de casos proviene de otras regiones con alta prevalencia de TbP.

En conclusión, en esta población mexicana se encontró asociación de la TbP con los antígenos HLA-DR y -DQ, similar a lo encontrado en otros estudios caso-control a nivel mundial y, por lo tanto, los resultados del presente estudio sugieren que los antígenos HLA-DR y -DQ y sus haplotipos pueden desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la TbP y estar relacionados a un riesgo más alto de desarrollar TbP. De validarse esta asociación mediante estudios de metaanálisis, la tipificación de los antígenos del sistema HLA será de gran utilidad dentro de la práctica clínica del manejo de los pacientes tuberculosos.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo económico otorgado por el FOFI-IMSS: 2002/021/20111021, FOFI-IMSS: 2005/1/1/013 y CONACYT (beca de doctorado 118798 a MARA). También a las químicas farmacobiólogas Leticia Navarro-Marmolejo y Pola Becerril-Montes, por su apoyo técnico en laboratorio.

Referencias

- Bloom BR, Murray CJL. Tuberculosis: commentary on a reemerging killer. *Science* 1992;257:1055-1064.
- WHO. Stop TB, Annual Report 2001. Geneva, Switzerland: WHO; 2002. pp. 1-17.
- Centers for Disease Control. Estimates of future global tuberculosis morbidity and mortality. *MMWR* 1993;42:961-964.
- World Health Organization -GTB. WHO global tuberculosis programme. World TB day. WHO report on the TB epidemic 1996.
- Gey van Pittius NC, Sampson SL, Lee H, Kim Y, van Helden PD, Warren RM. Evolution and expansion of the Mycobacterium tuberculosis PE and PPE multigene families and their association with the duplication of the ESAT-6 (esx) gene cluster regions. *BMC Evol Biol* 2006;6:95.
- Meyer CG, May J, Stark K. Human leukocyte antigens in tuberculosis and leprosy. *Trends Microbiol* 1998;6:148-154.
- Chukanova VP, Litvinov VI, Pospelov LE, Slogotskaia LV. Significance of hereditary predisposition factors in the development and course of pulmonary tuberculosis. *Vestn Ross Akad Med Nauk* 1995;7:6-9.
- Knoring BE, Berkoz AS, Sakharova Ila. Distribution of histocompatibility antigens in patients with pulmonary tuberculosis depending on disease course and immune response pattern. *Probl Tuberk* 1995;2:16-19.
- Dovgaliuk IF, Vatutina VV, Kuz'mina SI, Korolenok OL. Clinical and immunogenetic aspects of children with local and multiple forms of primary tuberculosis. *Probl Tuberk* 1995;5:24-27.
- Bothamley GH, Gibbs JH, Beck JS, Schreuder GM, de Vries RR, Grange JM, et al. Delayed hypersensitivity and HLA in smear-positive pulmonary tuberculosis. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;106:38-45.
- Dubaniewicz A. HLA-DR antigens in patients with pulmonary tuberculosis in northern Poland. Preliminary report. *Arch Immunol Ther Exp* 2000;48:47-50.
- Dubaniewicz A, Moszkowska G, Szczerkowska Z. Frequency of DRB1-DQB1 two-locus haplotypes in tuberculosis: preliminary report. *Tuberculosis* 2005;85:259-267.

13. Fedoseeva SV, Iusopova MM, Chukanova VP, Pospelov LE. Course of infiltrating pulmonary tuberculosis depending on the patient's genotype. *Probl Tuberk* 1993;2:8-10.
14. Goldfeld AE, Delgado JC, Thim S, Bozon MV, Ugliarolo AM, Turbay D, et al. Association of an HLA-DQ allele with clinical tuberculosis. *JAMA* 1998;279:226-228.
15. Liu ZH, Luo YL, Zhou L, Xu WH, Feng DY, Tan YJ, et al. A study on the correlation between HLA-DR genes and susceptibility to pulmonary tuberculosis in a population of Han nationality from southern China. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2004;27:390-393.
16. Matrashkin AG, Mes'ko EM, Pospelov LE, Ereemeev VV, Khaiby SB, Chistiakova NI. Examining the distribution of HLA antigens in patients with tuberculosis and in healthy individuals in the Erza District, Republic of Tyva. *Probl Tuberk* 2002;12:15-16.
17. Mehra NK, Rajalingam R, Mitra DK, Taneja V, Giphart MJ. Variants of HLA-DR2/DR51 group haplotypes and susceptibility to tuberculoid leprosy and pulmonary tuberculosis in Asian Indians. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1995;63:241-248.
18. Pospelova LE, Matrashkin AG, Larionova EE, Ereemeev VV, Mes'ko EM. The association of tuberculosis with the specificities of the HLA gene DRB1 in different regions of Tuva. *Probl Tuberk Bolezn Legk* 2005;7:23-25.
19. Rajalingam R, Mehra NK, Jain RC, Myneedu VP, Pande JN. Polymerase chain reaction-based sequence-specific oligonucleotide hybridization analysis of HLA class II antigens in pulmonary tuberculosis: relevance to chemotherapy and disease severity. *J Infect Dis* 1996;173:669-676.
20. Ravikumar M, Dheenadhayalan V, Rajaram K, Lakshmi SS, Kumaran PP, Paramasivan CN, et al. Associations of HLA DRB1, DQB1 and DPB1 with pulmonary tuberculosis in South India. *Tuber Lung Dis* 1999;79:309-317.
21. Selvaraj P, Uma H, Reetha AM, Kurian SM, Xavier T, Prabhakar R, et al. HLA antigen profile in pulmonary tuberculosis patients and their spouses. *Indian J Med Res* 1998;107:155-158.
22. Sharma SK, Turaga KK, Balamurugan A, Saha PK, Pandey RM, Jain NK, et al. Clinical and genetic risk factors for the development of multi-drug resistant tuberculosis in non-HIV infected patients at a tertiary care center in India: a case-control study. *Infect Genet Evol* 2003;3:183-188.
23. Terán-Escandón D, Terán-Ortiz I, Camarena-Olvera A, González-Ávila G, Vaca-Marín MA, et al. Human leukocyte antigen-associated susceptibility to pulmonary tuberculosis: molecular analysis of class II alleles by DNA amplification and oligonucleotide hybridization in Mexican patients. *Chest* 1999;115:428-433.
24. Vejbaesya S, Chierakul N, Luangtrakool K, Srinak D, Stephens HA. Associations of HLA class II alleles with pulmonary tuberculosis in Thais. *Eur J Immunogenet* 2002;29:431-44.
25. Wang J, Song C, Wang S. Association of HLA-DRB1 genes with pulmonary tuberculosis. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2001;24:302-305.
26. Cox RA, Downs M, Neimes RE, Ognibene AJ, Yamashita TS, Ellner JJ. Immunogenetic analysis of human tuberculosis. *J Infect Dis* 1988;158:1302-1308.
27. Velasco-Rodríguez VM, Martínez-Ordaz VA, Roiz-Hernández J, Huazano-García F, Nieves-Rentería A. Muestreo y tamaño de muestra. Una guía práctica para personal de salud que realiza investigación. 1a. edición virtual y en papel. Buenos Aires, Argentina: E-libro.net; 2003.
28. Coggon D, Rose G, Barker DJP. *Epidemiology for the uninitiated*. 4th edition: London, UK: BMJ Publishing Group; 1997.
29. Master RN. *Mycobacteriology*. En: Isenberg HD, editor. *Clinical microbiology. Procedures handbook*. Washington DC: American Society for Microbiology; 1994.
30. G Kvalheim, Fodstad O, Pihl A, Nustad K, Pharo A, Ugelstad J, et al. Elimination of B-lymphoma cells from human bone marrow: model experiments using monodisperse magnetic particles coated with primary monoclonal antibodies. *Cancer Res* 1987;47:3846-851.
31. Terasaki PI, McClelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxin. *Nature* 1964;204:998-999.
32. Mehra NK, Verduijn W, Taneja V, Drabbels J, Singh SP, Giphart MJ. Analysis of HLA-DR2-associated polymorphisms by oligonucleotide hybridization in an Asian Indian population. *Hum Immunol* 1991;32:246-253.
33. Lombard Z, Dalton DL, Venter PA, Williams RC, Bornman L. Association of HLA-DR, -DQ, and vitamin D receptor alleles and haplotypes with tuberculosis in the Venda of South Africa. *Hum Immunol* 2006;67:643-654.
34. Tiercy JM, Marsh SGE, Schreuder GMTh, Albert E, Fischer G, Wassmuth R. (European Federation for Immunogenetics Subcommittee for Reporting HLA Ambiguities). Guidelines for nomenclature usage in HLA reports: ambiguities and conversion to serotypes. *Eur J Immunogenet* 2002;29:273-274.
35. Dubaniewicz A, Moszkowska G, Szczerkowska Z, Hoppe A. Analysis of DQB1 allele frequencies in pulmonary tuberculosis: preliminary report. *Thorax* 2003;58:890-891.