

11262

9

Lej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION "SALVADOR ZUBIRAN"

Prevalencia de infección por *Mycobacterium tuberculosis*
resistente en la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla y su
caracterización molecular

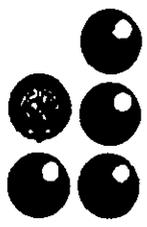
TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS
PRESENTA: DRA. MIDORI KATO MAEDA

TUTORES:

DR. JOSE SIFUENTES OSORNIO
M.C.J. MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE
DR. L. ALFREDO PONCE DE LEON G.
DR. GUILLERMO M. RUIZ PALACIOS y S.

MEXICO D.F. NOVIEMBRE, 1998

266968



INNSZ
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis fue realizada en el laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Nutrición "Salvador Zubirán", financiado parcialmente con fondos del proyecto de CONACYT 4987-M9406 y a través de la beca número 96087.

INDICE

Resumen en español.....	1
Resumen en inglés.....	2
Introducción.....	3
Justificación.....	6
Objetivo.....	6
Hipótesis.....	6
Material y método.....	7
Resultados.....	11
Discusión.....	14
Conclusiones.....	19
Bibliografía.....	21
Anexos.....	30
Tablas y figuras.....	32

RESUMEN

La aparición de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) resistente a los medicamentos ha complicado el manejo de esta enfermedad, por lo que es importante conocer la prevalencia de la resistencia para definir los esquemas primarios de tratamiento. Asimismo, las técnicas actuales de epidemiología molecular han permitido conocer la diversidad genética de diversos organismos.

Objetivos: Conocer la prevalencia de enfermedad por MTB resistente y determinar su caracterización molecular mediante el análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (PLFR). **Método:** Se realizó un estudio prolectivo, transversal y descriptivo en la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla. El personal de salud solicitó tres muestras de esputo a los individuos con tos y expectoración que acudieron a consulta, se les realizó tinción de auramina-rodamina y los casos positivos fueron corroborados con Ziehl-Neelsen. Todas las muestras fueron cultivadas en Lowenstein-Jensen y en medio de cultivo radiométrico, los casos positivos se identificaron por NAP (*p*-nitro- μ -acetilamino- β -hidroxipropiofenona) y bioquímica convencional, y se determinó la susceptibilidad por el método radiométrico a estreptomycin, isoniacida (INH), rifampicina (RIF), etambutol y pirazinamida. El análisis de PLFR se realizó con la secuencia de inserción IS6110. **Resultados:** Entre junio de 1995 y mayo de 1998, se cultivaron 2586 muestras de 1326 enfermos y se diagnosticaron 269 casos de tuberculosis (TB) (20%); 135 en mujeres y 134 en hombres, con una mediana de edad de 42 años. La sensibilidad de la baciloscopia fue de 59% y el cultivo de 90%. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó en 230 aislados, 15% fueron resistentes a INH y 5% multirresistentes (MR). De 165 (72%) enfermos con información clínica, 48 habían recibido tratamiento contra la TB previamente. La resistencia primaria a INH fue de 12%, RIF 4%, y MR 2.5%; en los casos con baciloscopia positiva la resistencia primaria fue de 6.8%, 2.7% y cero por ciento; y la resistencia secundaria fue de 29%, 19% y 14%, respectivamente. El análisis del PLFR se realizó en 200 aislados; 60 (30%) formaron 18 conglomerados de cinco o más bandas. La proporción de individuos con aislados resistentes fue mayor en aquellos que formaron conglomerados.

Conclusiones. Uno de cada cinco individuos estudiados tuvo TB y en 41% de los casos, el diagnóstico se realizó mediante cultivo. La frecuencia de resistencia primaria fue elevada, la mayoría con baciloscopia negativa. El análisis de los PLFR demostró similitud genética en 30% de los casos. Se requiere mejorar la eficiencia de los métodos diagnósticos y realizar la vigilancia de la farmacoresistencia con estudios basados en cultivo para evitar sesgo de diagnóstico. Debido a la prevalencia de resistencia primaria a INH, el esquema primario de tratamiento de la TB pulmonar debe estar formado por al menos cuatro medicamentos y bajo administración supervisada.

ABSTRACT

The frequency of primary resistant tuberculosis (TB) is one of the main factors which helps to decide the empiric treatment of new cases of pulmonary TB. In addition, the use of modern molecular epidemiologic tools allows genetic diversity of different organisms to be studied, which is an interesting issue from the molecular biology stand point. **Objectives:** To determine the frequency of resistant MTB and to characterized strains using restricted fragment length polymorfism (RFLP) analysis. **Method:** A prolective, transversal and descriptive study was designed in Huauchinango, Puebla, at the Eastern Sierra Madre of Mexico. Three sputum samples were asked to be given from all patients with productive cough seeking medical attention in the health care units. Direct sputum examination using fluorochrome stain was done, and the positive results were confirmed by Ziehl-Neelsen; culture was done in Lowenstein-Jensen and in radiometric broth; the identification by NAP (*p*-nitro- μ -acetylamino- β -hydroxi-propiofenone) and biochemical tests, and the drug susceptibility test for spstreptomycin, isoniazid (INH), rifampicin (RIF), ethambutol and pyrazinamide by the radiometric method. The RFLP analysis was done using IS6110. **Results:** Between June 1995 and May 1998, 2586 samples from 1326 patients were cultured, and 269 cases (20%) of TB were diagnosed. Direct smear examination identified 59% of the cases and the culture 90%. TB was diagnosed in 135 women and 134 men, with a median of 42 years. The susceptibility test was done in 230 isolates, 15% were resistant to INH and 5% were multidrug-resistant (MDR). The clinical data was obtained from 165 patients (72%), 48 had history of anti-TB treatment. The prevalence of primary resistance to INH was 12%, RIF 4%, and MDR 2.5%; in smear positive cases the frequency of primary resistance was 6.8%, 2.7% and 0%, and the secondary resistance was 29%, 19% and 14%, respectively. The RFLP analysis was done in 200 isolates, and 30% formed 18 clusters of five or more bands. The percentange of patients with resistant isolates were higher in those who formed clusters. **Conclusion.** One of five studied patients had TB and in 41% of the cases, the diagnosis was made by culture. The frequency of primary resistance was high, and higher in those with smear negative results. The RFLP analysis showed that 30% of the patients had genetically similar MTB, which is very high since we did not do active search of TB cases. Diagnosis efficacy need to be improved, and culture based diagnosis is important in drug resistance surveillance study to avoid bias. Because of the high prevalence of primary resistance to INH, the treatment of the new cases of pulmonary TB requires at least four drugs using direct observed therapy to assure the adherence of treatment.

INTRODUCCION

La prevalencia de tuberculosis (TB) ha aumentado en todo el mundo en los últimos 10 años, especialmente en enfermos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y en individuos sin hogar (1,2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha calculado que habrá 90 millones de casos nuevos en el mundo durante esta década y 30 millones de enfermos morirán en el mismo periodo (3). En México, los estudios epidemiológicos han mostrado una tendencia hacia la disminución del número de casos de TB entre 1941 y 1976; sin embargo, a partir de 1985, se ha observado un incremento y se calcula un exceso de 27,000 casos (4). La tasa notificada de todas las formas de TB a la Secretaría de Salud es de 22.2 casos por 100,000 habitantes, sin embargo, la tasa estimada es de 51.7 casos por 100,000 habitantes debido a la subnotificación (4,5). Además, la TB ocupa el lugar número 17 entre las causas de mortalidad general en México (6).

El incremento en el número de casos de TB se ha acompañado de un aumento en el número de individuos infectados por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) resistente a los medicamentos tradicionalmente utilizados. La estreptomocina (STP) se utilizó con éxito en 1944, sin embargo, se observó recaída por aislados resistentes en poco tiempo (7,8). En 1946, se agregó el ácido *p*-amino-salicílico al tratamiento, observándose mayor eficacia y menor riesgo de resistencia (9). En 1952, se descubrió la isoniacida (INH) y desde entonces se ha recomendado el tratamiento combinado con tres o más medicamentos con lo cual la prevalencia de resistencia se mantuvo baja hasta finales de los años 60's (10,11).

En los últimos años, la enfermedad por MTB resistente se ha convertido en uno de los problemas más importantes de salud pública mundial (12-24). Varios investigadores han realizado revisiones sobre la prevalencia de MTB resistente en el mundo, la cual es muy variable entre los países y entre la población de cada país debido a diferencias reales y a la metodología utilizada. La resistencia primaria a INH osciló entre 0% y 31.7% y la secundaria entre 4% y 69.7%, siendo más alta en Africa, Asia y en Europa Oriental; la multiresistencia (MR) primaria varió entre 0% y 14.4% y la secundaria de 0% y 54.4% (20,24) (tabla 1). En México, la resistencia primaria a INH fue de 8.5% en los enfermos de los Institutos Nacionales de Salud, entre 1993 y 1995; cinco veces más que en 1980

cuando se reportó un valor de 1.8% (tabla 2) (16,17). En el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México (INER) se ha encontrado resistencia secundaria a INH en 62% de los pacientes y MR en 25% (25). Por otra parte, investigadores norteamericanos encontraron que los inmigrantes mexicanos y de otros países latinoamericanos tienen riesgo de tener TB por un aislado resistente, entre 1.7 y 6.8 veces en comparación con la población estadounidense nativa (26-28).

La enfermedad por MTB se ha asociado al antecedente de tratamiento con fármacos contra la TB, uso de drogas intravenosas, infección por el VIH, abandono social, alcoholismo y antecedente de hospitalización en áreas con enfermos con TB resistente (13,19,29-31). Esta forma de TB representa un nuevo reto para el control de la enfermedad, sobre todo cuando existe MR, pues no existe un tratamiento eficaz (32). Los efectos de la TB MR son devastadores, pues en enfermos no infectados por el VIH se ha logrado la curación en 50% de los casos; en aquellos con infección asintomática por el VIH, la sobrevivencia media ha sido de 15 meses; y con diagnóstico de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) de seis semanas (33-34).

En la década de los 70's, la tipificación por fagos era utilizada como herramienta epidemiológica, pero en la actualidad ha sido reemplazada por técnicas de biología molecular, como el análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (PLFR) del ácido desoxirribonucleico (ADN) de MTB con la secuencia de inserción IS6110 (35,36). Estos métodos han permitido definir mejor la epidemiología de la TB, los factores de riesgo para desarrollar enfermedad progresiva rápida, la dinámica de la transmisión, la contaminación intralaboratorio, así como el resultado del curso del tratamiento (37-46). En otros estudios se ha contrastado la diversidad genética de MTB; en Etiopía, Túnez y los Países Bajos con tasas de prevalencia de TB de 300, 30 y 10 por 100,000 habitantes, respectivamente, los aislados de MTB pertenecían a grupos genéticamente similares en 58%, 62% y 24% de los casos, respectivamente, lo cual ha sugerido una distribución geográfica diferente en países con tasas diferentes de enfermedad por MTB (42).

En 1993 se estandarizó el método de análisis de PLFR en MTB para crear una base de datos con aislados de diversas partes del mundo. Los marcadores genéticos utilizados son secuencias de inserción repetitivas y cortas de ADN, con función

desconocida. El marcador genético más usado es IS6110, un elemento de inserción transposable, presente en número variable en el genoma del MTB (36). El análisis de PLFR es una herramienta útil para determinar la similitud genética entre los aislados clínicos de una población.

Programa Nacional de Prevención y Control de la TB

La Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de la TB, fue publicada en el Diario Oficial, el 26 de enero de 1995, y tiene como objetivo uniformar criterios, estrategias, actividades, procedimientos y técnicas operativas del Sistema Nacional de Salud con relación a las medidas preventivas y de control aplicables a la TB en el ámbito de la atención primaria de la salud (47). Para la identificación de caso, el personal de salud debe realizar un interrogatorio buscando tos con expectoración y otros síntomas sugestivos de TB en todo individuo que acude a los servicios de salud. El diagnóstico se realiza mediante la baciloscopia con tinción de Ziehl-Neelsen (ZN). El cultivo se indica cuando se sospecha resistencia a los medicamentos utilizados, cuando las baciloscopias son negativas y el cuadro clínico sugiere TB, y como apoyo para la investigación epidemiológica, terapéutica y bacteriológica. El tratamiento para los casos nuevos de TB pulmonar incluye INH, rifampicina (RIF) y pirazinamida (PZ) durante la fase intensiva por dos meses, e INH y RIF en la fase de sostén durante cuatro meses, los cuales deben de ser administrados por el personal de salud quien debe vigilar la deglución de cada dosis del medicamento. La prevención se realiza mediante la vacunación con BCG a todo recién nacido y la quimioprofilaxis en grupos de alto riesgo como los enfermos infectados por el VIH.

Jurisdicción de Huauchinango, Puebla

Huauchinango es una de las 10 jurisdicciones sanitarias del estado de Puebla, está formada por 18 municipios con una extensión territorial de 3019 km² y tiene 390,596 habitantes. Según el censo general de población de 1990, la población rural estimada para 1995 fue 68% y la urbana de 32%. El 65% de la población es letrada, pero solamente 8% terminaron la primaria; 2% hablan sólo la lengua indígena y 23% la lengua indígena y español. Una cuarta parte de las viviendas está construida con material de cemento y el resto con lámina de cartón, materiales de desecho y piso de tierra; 40% tienen agua entubada, 35% drenaje, y 67% energía eléctrica; y viven 5 personas en promedio por casa.

Del total de individuos económicamente activos, 59% se encuentran desempleados, 15% trabajan en el sector primario (agricultura, ganadería, silvicultura, caza y pesca), 11% en el secundario (minería, petróleo, gas, energía eléctrica y construcción), y 15% en el terciario (comercio y servicios) (48).

Solamente 17% de la población son derecho-habientes de alguna institución de seguridad social, y 85% viven en la zona urbana. La infraestructura para atender al resto de la población está constituida por dos hospitales de segundo nivel, 43 unidades médico-rurales IMSS-Solidaridad, 19 centros de salud, tres unidades móviles y 110 casas de salud. De 1993 a 1995, se atendieron un promedio de 8,804 individuos al mes en la consulta general de los centros de salud de Huauchinango y se realizaron 120 baciloscopias mensuales con un promedio de dos muestras positivas (49,50).

JUSTIFICACION

El tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar requiere de tres o cuatro medicamentos. El número de fármacos depende de la prevalencia de resistencia primaria a INH, y se ha establecido que en aquellos lugares donde es igual o mayor a 4%, el esquema terapéutico debe incluir INH, RIF, PZ y etambutol (ETM) o STP (51). Diversos estudios han demostrado prevalencia elevada de enfermedad por MTB resistente, sin embargo se han realizado de manera retrospectiva o bien en poblaciones seleccionadas, por lo que es importante realizar un estudio con base poblacional.

Debido a las características infectantes de la TB, es de gran interés analizar el PLFR con IS6110 de los aislados clínicos de enfermos provenientes de las zonas rurales y urbanas de la zona para conocer la diversidad genética.

HIPOTESIS

1. La prevalencia de resistencia primaria a INH en Huauchinango será mayor a 4%.
2. Los aislados de MTB de Huauchinango serán genéticamente similares en 50% o más de los casos.

OBJETIVOS

1. Conocer la prevalencia de enfermedad pulmonar por MTB resistente en

Del total de individuos económicamente activos, 59% se encuentran desempleados, 15% trabajan en el sector primario (agricultura, ganadería, silvicultura, caza y pesca), 11% en el secundario (minería, petróleo, gas, energía eléctrica y construcción), y 15% en el terciario (comercio y servicios) (48).

Solamente 17% de la población son derecho-habientes de alguna institución de seguridad social, y 85% viven en la zona urbana. La infraestructura para atender al resto de la población está constituida por dos hospitales de segundo nivel, 43 unidades médico-rurales IMSS-Solidaridad, 19 centros de salud, tres unidades móviles y 110 casas de salud. De 1993 a 1995, se atendieron un promedio de 8,804 individuos al mes en la consulta general de los centros de salud de Huauchinango y se realizaron 120 baciloscopias mensuales con un promedio de dos muestras positivas (49,50).

JUSTIFICACION

El tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar requiere de tres o cuatro medicamentos. El número de fármacos depende de la prevalencia de resistencia primaria a INH, y se ha establecido que en aquellos lugares donde es igual o mayor a 4%, el esquema terapéutico debe incluir INH, RIF, PZ y etambutol (ETM) o STP (51). Diversos estudios han demostrado prevalencia elevada de enfermedad por MTB resistente, sin embargo se han realizado de manera retrospectiva o bien en poblaciones seleccionadas, por lo que es importante realizar un estudio con base poblacional.

Debido a las características infectantes de la TB, es de gran interés analizar el PLFR con IS6110 de los aislados clínicos de enfermos provenientes de las zonas rurales y urbanas de la zona para conocer la diversidad genética.

HIPOTESIS

1. La prevalencia de resistencia primaria a INH en Huauchinango será mayor a 4%.
2. Los aislados de MTB de Huauchinango serán genéticamente similares en 50% o más de los casos.

OBJETIVOS

1. Conocer la prevalencia de enfermedad pulmonar por MTB resistente en

Del total de individuos económicamente activos, 59% se encuentran desempleados, 15% trabajan en el sector primario (agricultura, ganadería, silvicultura, caza y pesca), 11% en el secundario (minería, petróleo, gas, energía eléctrica y construcción), y 15% en el terciario (comercio y servicios) (48).

Solamente 17% de la población son derecho-habientes de alguna institución de seguridad social, y 85% viven en la zona urbana. La infraestructura para atender al resto de la población está constituida por dos hospitales de segundo nivel, 43 unidades médico-rurales IMSS-Solidaridad, 19 centros de salud, tres unidades móviles y 110 casas de salud. De 1993 a 1995, se atendieron un promedio de 8,804 individuos al mes en la consulta general de los centros de salud de Huauchinango y se realizaron 120 baciloscopias mensuales con un promedio de dos muestras positivas (49,50).

JUSTIFICACION

El tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar requiere de tres o cuatro medicamentos. El número de fármacos depende de la prevalencia de resistencia primaria a INH, y se ha establecido que en aquellos lugares donde es igual o mayor a 4%, el esquema terapéutico debe incluir INH, RIF, PZ y etambutol (ETM) o STP (51). Diversos estudios han demostrado prevalencia elevada de enfermedad por MTB resistente, sin embargo se han realizado de manera retrospectiva o bien en poblaciones seleccionadas, por lo que es importante realizar un estudio con base poblacional.

Debido a las características infectantes de la TB, es de gran interés analizar el PLFR con IS6110 de los aislados clínicos de enfermos provenientes de las zonas rurales y urbanas de la zona para conocer la diversidad genética.

HIPOTESIS

1. La prevalencia de resistencia primaria a INH en Huauchinango será mayor a 4%.
2. Los aislados de MTB de Huauchinango serán genéticamente similares en 50% o más de los casos.

OBJETIVOS

1. Conocer la prevalencia de enfermedad pulmonar por MTB resistente en

Del total de individuos económicamente activos, 59% se encuentran desempleados, 15% trabajan en el sector primario (agricultura, ganadería, silvicultura, caza y pesca), 11% en el secundario (minería, petróleo, gas, energía eléctrica y construcción), y 15% en el terciario (comercio y servicios) (48).

Solamente 17% de la población son derecho-habientes de alguna institución de seguridad social, y 85% viven en la zona urbana. La infraestructura para atender al resto de la población está constituida por dos hospitales de segundo nivel, 43 unidades médico-rurales IMSS-Solidaridad, 19 centros de salud, tres unidades móviles y 110 casas de salud. De 1993 a 1995, se atendieron un promedio de 8,804 individuos al mes en la consulta general de los centros de salud de Huauchinango y se realizaron 120 baciloscopias mensuales con un promedio de dos muestras positivas (49,50).

JUSTIFICACION

El tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar requiere de tres o cuatro medicamentos. El número de fármacos depende de la prevalencia de resistencia primaria a INH, y se ha establecido que en aquellos lugares donde es igual o mayor a 4%, el esquema terapéutico debe incluir INH, RIF, PZ y etambutol (ETM) o STP (51). Diversos estudios han demostrado prevalencia elevada de enfermedad por MTB resistente, sin embargo se han realizado de manera retrospectiva o bien en poblaciones seleccionadas, por lo que es importante realizar un estudio con base poblacional.

Debido a las características infectantes de la TB, es de gran interés analizar el PLFR con IS6110 de los aislados clínicos de enfermos provenientes de las zonas rurales y urbanas de la zona para conocer la diversidad genética.

HIPOTESIS

1. La prevalencia de resistencia primaria a INH en Huauchinango será mayor a 4%.
2. Los aislados de MTB de Huauchinango serán genéticamente similares en 50% o más de los casos.

OBJETIVOS

1. Conocer la prevalencia de enfermedad pulmonar por MTB resistente en

Huauchinango.

2. Determinar la diversidad genética de los aislados clínicos de MTB de Huauchinango, mediante el análisis de los PLFR con IS6110.

MATERIAL Y METODO

Diseño. Estudio descriptivo, observacional, transversal, y prolectivo para determinar la prevalencia de enfermedad por MTB resistente y la diversidad genética de los aislados clínicos.

Periodo de estudio. Junio de 1995 a mayo de 1998.

Población de estudio. Habitantes de la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla.

Criterios de inclusión. Todos los enfermos con TB pulmonar y aislamiento de MTB, que aceptaron entrar al estudio (en el caso de los menores de 18 años se obtuvo consentimiento del tutor).

Criterios de exclusión. Diagnóstico de TB pulmonar sin aislamiento de la micobacteria.

Definiciones operacionales.

1. Enfermo con TB: individuo con tos y expectoración con o sin otros síntomas sugestivos de TB y cultivo positivo para MTB o bacitoscopia positiva.
2. Síntomas sugestivos de TB pulmonar: fiebre, pérdida de peso, ataque al estado general o diaforesis.
3. ZN positivo: presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) en la bacitoscopia (52).
4. Cultivo positivo para MTB: Presencia de BAAR formador de colonias rugosas no pigmentadas en medio de Lowenstein-Jensen (LJ), productor de niacina y pirazinamidasas, reductor de nitratos y no productor de catalasa ni de arilsulfatasa, e inhibido por NAP (p-nitro- μ -acetilamino- β -hidroxi-propiofenona) (52).
5. MTB pansensible: MTB sensible a los medicamentos de primera línea estudiados (STP, INH, RIF, PZ y ETM) (53).
6. MTB MR: MTB resistente a por lo menos, INH y RIF (54).
7. Resistencia primaria: enfermo infectado por MTB resistente, sin antecedente de tratamiento con medicamentos contra la TB o con historia de tratamiento durante 30

Huauchinango.

2. Determinar la diversidad genética de los aislados clínicos de MTB de Huauchinango, mediante el análisis de los PLFR con IS6110.

MATERIAL Y METODO

Diseño. Estudio descriptivo, observacional, transversal, y prolectivo para determinar la prevalencia de enfermedad por MTB resistente y la diversidad genética de los aislados clínicos.

Periodo de estudio. Junio de 1995 a mayo de 1998.

Población de estudio. Habitantes de la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla.

Criterios de inclusión. Todos los enfermos con TB pulmonar y aislamiento de MTB, que aceptaron entrar al estudio (en el caso de los menores de 18 años se obtuvo consentimiento del tutor).

Criterios de exclusión. Diagnóstico de TB pulmonar sin aislamiento de la micobacteria.

Definiciones operacionales.

1. Enfermo con TB: individuo con tos y expectoración con o sin otros síntomas sugestivos de TB y cultivo positivo para MTB o baciloscopia positiva.
2. Síntomas sugestivos de TB pulmonar: fiebre, pérdida de peso, ataque al estado general o diaforesis.
3. ZN positivo: presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) en la baciloscopia (52).
4. Cultivo positivo para MTB: Presencia de BAAR formador de colonias rugosas no pigmentadas en medio de Lowenstein-Jensen (LJ), productor de niacina y pirazinamidasas, reductor de nitratos y no productor de catalasa ni de arilsulfatasa, e inhibido por NAP (p-nitro- μ -acetilamino- β -hidroxi-propiofenona) (52).
5. MTB pansensible: MTB sensible a los medicamentos de primera línea estudiados (STP, INH, RIF, PZ y ETM) (53).
6. MTB MR: MTB resistente a por lo menos, INH y RIF (54).
7. Resistencia primaria: enfermo infectado por MTB resistente, sin antecedente de tratamiento con medicamentos contra la TB o con historia de tratamiento durante 30

- días o menos (54).
8. Resistencia secundaria: enfermo infectado por MTB resistente, con antecedente de tratamiento con medicamentos contra la TB por lo menos durante un mes (54).
 9. Índice de riesgo de MR: proporción de enfermos con TB que se encuentran en riesgo de desarrollar TB MR (24).
 10. Antecedente de vacuna BCG: presencia de cicatriz secundaria a la aplicación de la vacuna.
 11. Contaminación por MTB intralaboratorio: MTB de individuos con baciloscopia negativa y PLFR similar a un aislado de una muestra con ZN positivo cultivados el mismo día (55).
 12. Conglomerado: Dos o más aislados de MTB con patrones idénticos tanto en peso molecular como en número de bandas en el PLFR (41)

Metodología.

El personal de salud de las diferentes unidades de salud fue capacitado semestralmente para todas las actividades.

Identificación de tosedores con expectoración: A todos los individuos que acudieron al centro de salud, independientemente del motivo de la consulta se les interrogó sobre la presencia de tos con expectoración y otros síntomas sugestivos de TB pulmonar.

Muestras de expectoración:

- Se solicitaron tres muestras de expectoración: la primera al ser identificado el tosedor, la segunda a la mañana siguiente, la cual fue tomada por el enfermo; y la tercera al momento de entregar la segunda muestra.
- Las muestras de expectoración se conservaron a 4°C (hielera) y se enviaron en las siguientes 24– 72 horas al laboratorio clínico del Hospital General de Huauchinango.

Cuestionario: A todos los individuos que resultaron enfermos con TB se les practicó un cuestionario sobre datos demográficos, epidemiológicos, BCG, TB previa, otras enfermedades y el cuadro clínico actual (Anexo 1).

Notificación: Los resultados fueron notificados a las oficinas de la Jurisdicción, tan pronto como se obtuvieron. Los enfermos recibieron tratamiento con medicamentos contra la TB en forma supervisada en los centros de salud respectivos, según los lineamientos de la Norma Oficial para la Prevención y Control de la TB de la Secretaría de Salud (47).

Estudio microbiológico.

El personal capacitado del laboratorio clínico del Hospital General de Huauchinango realizó frotis directo de la muestra para ZN y su lectura inmediata. Además, realizó digestión con N-acetil cisteína, descontaminación con hidróxido de sodio, neutralización con buffer de fosfatos de la muestra y preparó un frotis que fue enviado junto con la muestra procesada al Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" (INNSZ) (52).

En el laboratorio de micobacteriología del INNSZ se realizó baciloscopia con auramina-rodamina (AR) y en caso de ser positivo corroboración con ZN. La muestra se inoculó en medio de LJ que fue incubado en atmósfera de CO₂ 7.5% a 37°C y en medio BACTEC 12B (BACTEC TB 460, Becton Dickinson, Cockesville, Maryland EEUU) previamente estabilizado con CO₂ y se incubó a 37°C (53). El resto de la muestra se almacenó a pH neutro a 4°C durante 15 días para ser usado en caso de contaminación. El medio de LJ se revisó semanalmente durante ocho semanas. El BACTEC 12B se revisó cada 48 horas durante dos semanas y posteriormente, en forma semanal por 4 semanas; los medios con un índice de crecimiento (IC) mayor a 10 fueron leídos diariamente hasta alcanzar 80 a 100, para realizar un frotis con ZN y verificar el crecimiento de BAAR.

Los cultivos positivos se identificaron como MTB de acuerdo a los procedimientos bioquímicos convencionales y por NAP (52). El estudio de susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método radiométrico BACTEC TB: se inoculó 0.1ml. del medio con IC de 500-800 a los frascos con antibiótico y un inóculo 100 veces mayor en el frasco control (53). Los antibióticos y concentraciones que se utilizaron fueron: STP, 6.0mcg/ml; INH, 0.1mcg/ml; RIF, 2.0mcg/ml; ETM, 7.5mcg/ml y PZ, 100mcg/ml.

Estudio de epidemiología molecular.

El análisis del PLFR se realizó a todos los aislados clínicos según la técnica convencional (36,56). El ADN cromosomal de MTB se aisló por el método de lisis con bromuro de cetil-trimetil-amonio y se cuantificó por espectrofotometría. Se digirió con la endonucleasa de restricción *PvuII* (Boehringer Mannheim, México, DF, México) de acuerdo con la recomendación del fabricante, y se analizó por electroforesis (60V, amortiguador Tris-boratos 1X, por 16 horas) en gel de agarosa al 0.8%. En todos los ensayos se incluyó

un marcador de peso molecular (λ -HindIII y PhiX174-HaeIII) y el aislado de referencia MTB H37Rv.

El gel se tiñó con bromuro de etidio para la fotografía y se expuso 5' en luz ultravioleta. Se trató en agitación con HCl 0.25N durante 15', y posteriormente con NaOH 0.4M durante 20' en dos ocasiones. El ADN del gel se transfirió a una membrana de nylon (Amersham Life Science, Ohio, EEUU) en el equipo "vacuum blotter" (Bio-Rad Hércules, California, EEUU) con NaOH 0.4M durante 45'.

La membrana se lavó en SSC 5x durante 5'. Se realizó hibridación tipo Southern-blot con la sonda correspondiente a la secuencia de inserción IS6110 marcada con peroxidasa (Equipo ECL, Amersham Life Science, Little Chalfont Buckinghamshire, Gran Bretaña) a 42°C durante toda la noche. Se reveló con el equipo ECL y se expuso con una película Hyperfilm (Amersham Life Science) al minuto y a los 5'. Las señales observadas fueron almacenadas en una computadora.

Tamaño de la muestra. Se necesitaron 92 enfermos sin antecedente de tratamiento previo contra la TB para una tolerancia de 4% e intervalo de confianza al 95%, tomando en cuenta la hipótesis de una prevalencia de 4% de MTB con resistencia primaria a INH (57).

Análisis estadístico.

1. Las tasas de morbilidad fueron calculadas de acuerdo al censo estimado del CONAPO. La tasa de 1995, se obtuvo multiplicando el promedio de casos diagnosticados en forma mensual por 12.
2. La prevalencia de enfermos con MTB resistente se calculó utilizando como denominador los casos de TB confirmados microbiológicamente, la prevalencia de resistencia primaria con los casos de TB sin antecedentes de tratamiento, y la secundaria con los casos con TB y antecedente de tratamiento.
3. El patrón de bandas de cada uno de los aislados de MTB se analizó en el programa de cómputo de búsqueda y conglomerado de la Universidad de Stanford, San Francisco, California (Millipore, Bioimage, California, EEUU).
4. Los factores asociados a los resultados de baciloscopia, cultivo y polimorfismo se analizaron por medio de la prueba de *t*-student para las variables continuas, y la prueba de *chi* cuadrada y exacta de Fisher para las variables nominales. Además, se utilizaron

medidas de tendencia central.

5. El índice de riesgo de MR se calculó sumando la prevalencia de resistencia a INH y RIF de aquellos aislados que no fueran MR (24).

Aspectos éticos. El estudio siguió los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de la TB en la Atención primaria a la Salud (47). Las autoridades en materia de salud del nivel estatal y jurisdiccional conocieron y aceptaron la ejecución del estudio. Además, el estudio fue aceptado por el Comité de Investigación Biomédica en Humanos del INNSZ, y a todos los participantes se les solicitó consentimiento por escrito (Anexo 2).

Financiamiento. El proyecto fue financiado parcialmente con fondos del proyecto de CONACYT 4987-M9406.

RESULTADOS

Datos generales:

Durante el periodo de estudio se obtuvieron 2697 muestras de 1378 individuos, 11 muestras de 11 individuos fueron excluidas por estar secas, siete de ellos con muestras previas. La baciloscopia se realizó a 2686 muestras de 1374 individuos (moda: 1, promedio:2) y se cultivaron 2586 muestras de 1326 individuos (moda: 1, promedio:2). El cultivo no se realizó en 100 muestras de 48 individuos debido a que la muestra estaba contaminada a pesar de digestión y descontaminación en dos ocasiones.

Las muestras provinieron de individuos de todos los municipios, principalmente de Huauchinango (26%), Jopala (10%), Chiconcuautla (7%) y Xicotepec (7%). Se estudiaron 793 mujeres (58%) y 581 hombres (42%), con edad promedio de 43 años (intervalo:2-95, DS 20.5), 46% entre los 25 y 64 años de edad (tabla 3). La tasa de individuos estudiados osciló entre 51 y 78 por 100,000 habitantes durante los seis semestres del estudio, siendo mayor en mujeres (figura 1).

Diagnóstico de TB

Se diagnosticaron 269 enfermos con TB (20%), seis infecciones por micobacterias no TB (0.4%), cuatro por nocardia (0.3%) y 17 casos de MTB (1%) que fueron excluidas por considerarse contaminación intralaboratorio según el análisis de PLFR.

Los casos de TB se diagnosticaron en 135 mujeres (50%) y 134 hombres (50%),

medidas de tendencia central.

5. El índice de riesgo de MR se calculó sumando la prevalencia de resistencia a INH y RIF de aquellos aislados que no fueran MR (24).

Aspectos éticos. El estudio siguió los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de la TB en la Atención primaria a la Salud (47). Las autoridades en materia de salud del nivel estatal y jurisdiccional conocieron y aceptaron la ejecución del estudio. Además, el estudio fue aceptado por el Comité de Investigación Biomédica en Humanos del INNSZ, y a todos los participantes se les solicitó consentimiento por escrito (Anexo 2).

Financiamiento. El proyecto fue financiado parcialmente con fondos del proyecto de CONACYT 4987-M9406.

RESULTADOS

Datos generales:

Durante el periodo de estudio se obtuvieron 2697 muestras de 1378 individuos, 11 muestras de 11 individuos fueron excluidas por estar secas, siete de ellos con muestras previas. La baciloscopia se realizó a 2686 muestras de 1374 individuos (moda: 1, promedio:2) y se cultivaron 2586 muestras de 1326 individuos (moda: 1, promedio:2). El cultivo no se realizó en 100 muestras de 48 individuos debido a que la muestra estaba contaminada a pesar de digestión y descontaminación en dos ocasiones.

Las muestras provinieron de individuos de todos los municipios, principalmente de Huauchinango (26%), Jopala (10%), Chiconcuautla (7%) y Xicotepec (7%). Se estudiaron 793 mujeres (58%) y 581 hombres (42%), con edad promedio de 43 años (intervalo:2-95, DS 20.5), 46% entre los 25 y 64 años de edad (**tabla 3**). La tasa de individuos estudiados osciló entre 51 y 78 por 100,000 habitantes durante los seis semestres del estudio, siendo mayor en mujeres (**figura 1**).

Diagnóstico de TB

Se diagnosticaron 269 enfermos con TB (20%), seis infecciones por micobacterias no TB (0.4%), cuatro por nocardia (0.3%) y 17 casos de MTB (1%) que fueron excluidas por considerarse contaminación intralaboratorio según el análisis de PLFR

Los casos de TB se diagnosticaron en 135 mujeres (50%) y 134 hombres (50%),

65% entre los 25 y 64 años (139/213 de los que se tiene registrada la edad), con una mediana de 42 años. La distribución de tasas por edad y sexo demostró una afección discretamente mayor en hombres entre los 15 y 24 años, y entre los 45 y 64 años de edad; y mayor afección en mujeres de 65 años y más (**figura 2**). La proporción de casos de TB entre los estudiados fue mayor en los hombres durante los seis semestres del estudio (**figura 3**). La tasa de morbilidad global fue mayor durante el segundo semestre, con mayor afección en hombres durante el segundo y tercero, y mayor afección en mujeres durante los últimos dos semestres. La tasa de morbilidad en 1995, fue de 19.4; en 1996, de 27.9; y en 1997, de 14.8 por 100,000 habitantes, mucho mayor a lo reportado en años previos, aún comparando sólo los casos con baciloscopia positiva (**figura 4**). Los municipios más afectados fueron: Jopala, Naupan, Tlaola, y Huauchinango, con más de 100 casos por 100,000 habitantes (**figura 5**).

Del total de individuos estudiados, 27 (2%) tuvo baciloscopia positiva y cultivo negativo, 111 (8%) cultivo positivo y baciloscopia negativa y 131 (10%) tuvo ambos resultados positivos, aislándose en total 242 MTB (18%). La sensibilidad de la baciloscopia fue de 59% y del cultivo 90% considerando como estándar de oro, la documentación microbiológica por cualquiera de los dos métodos (**tabla 4**).

En la mitad de los individuos estudiados se analizó una sola muestra; la proporción de enfermos con ZN y cultivo positivo fue mayor en los individuos estudiados con tres o más muestras, lo cual fue estadísticamente significativo ($p < 0.001$) (**tabla 5**). Sin embargo, la proporción de baciloscopias positivas entre los enfermos con cultivo positivo fue similar con uno, dos, tres o más baciloscopias. En los enfermos con cultivo positivo y tres muestras de expectoración analizadas, sólo 59% tuvieron baciloscopia positiva; y con cuatro muestras sólo 68% (**tabla 6**). El número promedio baciloscopias realizadas en los enfermos con cultivo y baciloscopia positivos fue de 2.4 (intervalo: 1 a 9, DS +/-1.4), y en los enfermos con cultivo positivo y baciloscopia negativa de 2.1 (intervalo 1 a 7, DS +/-1.2), siendo la diferencia significativa ($p=0.04$).

El cultivo en LJ fue positivo en 76% de los casos de TB a los 20 días en promedio (intervalo 6-42, DS 6.9), el BACTEC 12B en 90% a los 12 días (intervalo 2-34, DS 6.9); y ambos métodos en 68% de los casos. Ochenta por ciento de los enfermos con ZN positivo tuvieron cultivos positivos en ambos métodos, 2% sólo en LJ y 14% sólo en BACTEC 12B;

en cambio, únicamente 53% de los casos con baciloscopia negativa tuvieron cultivo positivo en ambos métodos, 14% en LJ y 25% en BACTEC 12B, diferencias que no fueron estadísticamente significativas.

Estudios de susceptibilidad antimicrobiana

El estudio de susceptibilidad antimicrobiana se realizó en 230 (95%) aislados de MTB, ya que en el resto no fue posible recuperar el organismo. De los 230, 189 (82.2%) fueron pansensibles, 20 (8.7%) fueron resistentes a un medicamento, 15 (6.5%) a dos, 5 (2.2%) a tres y 1 (0.4%) a los cinco (**tabla 7**). La resistencia a INH fue de 15.2% y la MR de 4.8% (**tabla 8**).

La información clínica se obtuvo en 165 (72%) de los 230 enfermos; 76 mujeres (46%) y 89 hombres (54%), con edad promedio de 42 años (intervalo 7-92, DS 19.2). La mayoría de los hombres eran campesinos (33%) y las mujeres se dedicaban a las labores del hogar (27%); 35% eran analfabetas, 30% tuvieron cicatriz de BCG y 29% refirieron el antecedente de contacto con un tosedor crónico. La mayoría de los enfermos presentaron tos (85%) y sólo 19% tuvieron hemoptisis. En 48 enfermos (29%) se recabó el antecedente de tratamiento con medicamentos contra la TB y en seis (4%) casos se documentó diabetes mellitus.

De los 117 individuos sin tratamiento previo, 85.4% tuvieron aislados pansensibles, 6.9% fueron resistentes a un medicamento, 6.9% a dos y 0.8% a tres (**tabla 7**). El 12% mostró resistencia primaria a INH, 4.3% a RIF, y 2.5% fueron MR; la prevalencia en los casos con ZN positivo fue de 6.8%, 2.7 y 0%, respectivamente (**tabla 9**). Los casos con resistencia primaria se observaron con mayor frecuencia en individuos mayores de 45 años, destacando los cinco casos que fueron resistentes a INH y STP, cuatro de ellos en mayores de 24 años (**tabla 10**).

De los 48 individuos con tratamiento previo, 64.6% tuvieron aislados pansensibles, 16.7% fueron resistentes a un medicamento, 10.4% a dos y 8.3% a tres (**tabla 7**). El 29.2% tuvieron resistencia secundaria a INH, 18.7% a RIF y 14.6% fueron MR (**tabla 11**). El Índice de riesgo de MR primaria fue de 11%.

Análisis de PLFR

El control de calidad de la técnica de PLFR se realizó con 20 aislados de MTB que fueron procesados en dos ocasiones en forma ciega, obteniéndose una reproducibilidad

del 100%.

El análisis de los PLFR se realizó en 200 (83%) de los 242 aislados de MTB, ya que no fue posible recuperar la micobacteria. Ciento once (56%) se distribuyeron en 25 conglomerados de una a 12 bandas (moda de 10 y 11 bandas), los cuales constaban de 2 a 19 aislados clínicos (promedio 4.4 aislados por conglomerado, moda 3); los 89 restantes (44%) fueron aislados únicos. Al considerar sólo los conglomerados de más de tres bandas, 81 aislados (41%) se distribuyeron en 20 conglomerados; y al considerar más de cuatro bandas, 60 (30%) se distribuyeron en 18 conglomerados.

La distribución por sexo y edad, así como la proporción de ZN positivos fue similar tanto en el grupo de enfermos que formó conglomerados como el que tuvo aislados únicos. La frecuencia de enfermos con TB resistente fue mayor entre los que formaron conglomerados con cualquier número de bandas (22% vs. 12%, $p=0.1$), con más de tres (29% vs. 10%, $p=0.002$), y más de cuatro bandas (25% vs. 14%, $p=0.097$) (tabla 12).

Cada conglomerado estuvo formado por pacientes de diversos municipios, y en ninguno se encontró relación temporal entre los aislados. Asimismo, no se identificaron aislados resistentes que tuvieran polimorfismos similares.

DISCUSION

Durante los tres años del estudio uno de cada cinco individuos estudiados tuvo TB pulmonar, con tasas de morbilidad de 19.4 por 100,000 habitantes en 1995, 27.9 en 1996 y 14.8 en 1997; cifras por arriba de la tasa estatal de Puebla, de 9.4, 12.4 y 9.8; y de la tasa nacional de 18.7, 18.2 y 15.9, respectivamente (5,58,59). Esto revela la magnitud del problema que representa la TB en la región, según este estudio basado en la población que acude a las unidades de salud de la Secretaría de Salud, y eventualmente en otras áreas similares a Huauchinango.

La tasa de morbilidad observada se debe seguramente a dos factores: al sesgo de búsqueda por el proyecto de investigación y al método de diagnóstico utilizado. La tasa de morbilidad por TB pulmonar fue mayor durante los primeros dos semestres del estudio, paralelamente a una tasa mayor de individuos estudiados.

En cuanto al método de diagnóstico, la baciloscopia detectó sólo 59% de los enfermos en comparación con el cultivo que identificó 90%. La baja sensibilidad de la

del 100%.

El análisis de los PLFR se realizó en 200 (83%) de los 242 aislados de MTB, ya que no fue posible recuperar la micobacteria. Ciento once (56%) se distribuyeron en 25 conglomerados de una a 12 bandas (moda de 10 y 11 bandas), los cuales constaban de 2 a 19 aislados clínicos (promedio 4.4 aislados por conglomerado, moda 3); los 89 restantes (44%) fueron aislados únicos. Al considerar sólo los conglomerados de más de tres bandas, 81 aislados (41%) se distribuyeron en 20 conglomerados; y al considerar más de cuatro bandas, 60 (30%) se distribuyeron en 18 conglomerados.

La distribución por sexo y edad, así como la proporción de ZN positivos fue similar tanto en el grupo de enfermos que formó conglomerados como el que tuvo aislados únicos. La frecuencia de enfermos con TB resistente fue mayor entre los que formaron conglomerados con cualquier número de bandas (22% vs. 12%, $p=0.1$), con más de tres (29% vs. 10%, $p=0.002$), y más de cuatro bandas (25% vs. 14%, $p=0.097$) (tabla 12).

Cada conglomerado estuvo formado por pacientes de diversos municipios, y en ninguno se encontró relación temporal entre los aislados. Asimismo, no se identificaron aislados resistentes que tuvieran polimorfismos similares.

DISCUSION

Durante los tres años del estudio uno de cada cinco individuos estudiados tuvo TB pulmonar, con tasas de morbilidad de 19.4 por 100,000 habitantes en 1995, 27.9 en 1996 y 14.8 en 1997; cifras por arriba de la tasa estatal de Puebla, de 9.4, 12.4 y 9.8; y de la tasa nacional de 18.7, 18.2 y 15.9, respectivamente (5,58,59). Esto revela la magnitud del problema que representa la TB en la región, según este estudio basado en la población que acude a las unidades de salud de la Secretaría de Salud, y eventualmente en otras áreas similares a Huauchinango.

La tasa de morbilidad observada se debe seguramente a dos factores: al sesgo de búsqueda por el proyecto de investigación y al método de diagnóstico utilizado. La tasa de morbilidad por TB pulmonar fue mayor durante los primeros dos semestres del estudio, paralelamente a una tasa mayor de individuos estudiados.

En cuanto al método de diagnóstico, la baciloscopia detectó sólo 59% de los enfermos en comparación con el cultivo que identificó 90%. La baja sensibilidad de la

baciloscopia se debe a que sólo se analizó una muestra de expectoración en un gran número de enfermos, y uno de los factores más importantes para que la baciloscopia sea más sensible es el número y calidad de las muestras analizadas (60-62). De hecho, la proporción de baciloscopias y cultivos positivos entre los individuos estudiados fue mayor cuando se analizaron tres o más muestras ($p < 0.001$); y el promedio de baciloscopias en los casos con cultivo positivo fue mayor en aquellos individuos que tuvieron baciloscopia positiva ($p = 0.04$). Sin embargo, sólo 61% de los casos con cultivo positivo y tres o más baciloscopias estudiadas tuvieron baciloscopia positiva, por lo que es evidente que este método no es eficaz aunque se estudien tres o más muestras de expectoración.

La frecuencia de MTB resistente fue elevada, 18% de los enfermos estuvo infectado por un aislado resistente. Uno de los hallazgos más sobresalientes, es el hecho de que más de la mitad de los casos nuevos de TB pulmonar resistente tuvo baciloscopia negativa, es decir, no hubieran sido diagnosticados por el método estándar. Cabe mencionar, que varios estudios sobre farmacoresistencia, incluyendo el protocolo de la OMS, se llevan a cabo en pacientes con baciloscopia positiva (54). Al comparar nuestros resultados con lo observado en el estudio de la OMS, la frecuencia de resistencia primaria a INH en individuos con baciloscopia positiva (6.8%) se encontraría por debajo de la mediana internacional, cuando la realidad demuestra que es mayor (**fig 6**) (24). Asimismo, todos los casos con MR primaria de Huauchinango tuvieron baciloscopia negativa (**fig 7**). Aunque la frecuencia de resistencia primaria es similar al estudio recientemente realizado por la Secretaría de Salud en Oaxaca, Sinaloa y Baja California, cabe mencionar que sólo fueron incluidos pacientes con baciloscopia positiva, por lo que de encontrarse el mismo sesgo de diagnóstico, la cifra de resistencia podría ser mayor en éste y todos los que utilizan dicha metodología (24,63).

A pesar de las diferencias en la población de estudio, parece ser que la frecuencia de resistencia primaria a INH se ha incrementado en el país, de 1.8% en la primera mitad de la década de los 80's, 7.2% a principios de los 90's, hasta 12% en los últimos años (15,63,64). De acuerdo con lo anterior, más del 10% de los casos nuevos con TB en Huauchinango están recibiendo tratamiento inadecuado, ya que son resistentes a INH. Según el criterio de la Sociedad Americana de Tórax y el Centro de Control de

Enfermedades de Atlanta, EEUU, en lugares con resistencia primaria a INH igual o mayor a 4%, se recomienda utilizar esquemas de cuatro medicamentos con INH, RIF, PZ y ETM o STP en todos los casos nuevos de TB pulmonar (51).

Aunque la frecuencia de MR primaria en Huauchinango fue de 2.5%, 11% de los enfermos de Huauchinango están en riesgo de desarrollar MR en los próximos años, según el índice de riesgo de MR primaria (24). Esta forma de resistencia es producto de una serie de eventos que inicia con el uso inadecuado de cuando menos INH y RIF, lo cual genera resistencia secundaria. Estos pacientes transmiten la infección a la comunidad, ocasionando infección y enfermedad por aislados resistentes en los individuos contagiados (65). El tiempo requerido para este proceso se desconoce, sin embargo, estudios observacionales sugieren que puede suceder después de tres a cinco años (66).

Es importante resaltar que el antecedente de haber recibido o no tratamiento para la TB se obtuvo mediante interrogatorio directo y, en lo posible se corroboró con el expediente del enfermo y en el archivo de la Jurisdicción. Desgraciadamente, no se obtuvo la información clínica en todos los pacientes, muchos de ellos debido a que no fue posible localizarlos. Por otra parte, podrían existir casos en los que el paciente hubiera recibido medicamentos contra la TB y no lo hubiera informado, o bien, que haya utilizado dichos fármacos para otras enfermedades, ya que son fáciles de adquirir en las farmacias, lo que aumentaría erróneamente la prevalencia de resistencia primaria.

Los niveles de resistencia primaria sugieren transmisión reciente de los aislados resistentes en la comunidad, por lo que la tendencia a través del tiempo representa una manera de vigilar la eficiencia de los programas de control de TB, aunque no necesariamente demuestran la situación actual. Ejemplo de ello, es el hallazgo de resistencia primaria a STP e INH de 4% principalmente en individuos mayores de 24 años, seguramente por la aparición de aislados resistentes durante los años 70's y 80's cuando se utilizaban esquemas de tratamiento a base de INH, STP, y ETM, tiacetazona, o ácido paraminosalicílico (67-69).

La prevalencia de resistencia secundaria fue mayor dado que el antecedente de tratamiento es el factor más importante para la selección de aislados resistentes (65). La prevalencia de resistencia secundaria a INH fue de 29%, RIF de 19%, MR de 14% y STP de 8%. Estos resultados muestran frecuencias de resistencia sensiblemente menores a las

encontradas en el INER, seguramente por el tipo de población estudiada ya que esta Institución recibe a enfermos con TB multitratada (25).

El análisis de los PLFR con IS6110 demostró que 50% de los aislados de Huauchinango formaron conglomerados, encontrando una mayor proporción de aislados resistentes en este grupo, aunque no se detectó ningún MTB resistente endémico. Estos datos sugieren que la resistencia es un factor reciente para el incremento en el número de casos de TB, desarrollándose diversos polimorfismos y patrones de resistencia, por lo que será de gran interés realizar un estudio para analizar la dinámica de la transmisión (70).

En nuestra población fue frecuente encontrar polimorfismos de menos de seis bandas, lo cual según hipótesis de algunos autores se debe a resistencia del MTB a adquirir el elemento de inserción IS6110, o simplemente que es un polimorfismo endémico en la población (71). Diversos estudios han demostrado que los individuos en este tipo de conglomerados, no suelen compartir antecedentes epidemiológicos ni patrones de susceptibilidad similares, por lo que es importante utilizar otras secuencias como las directas repetitivas, secuencias ricas en guanina-citosina, y el oligonucleótido GTG5, entre otros, para establecer similitud genética (38,72-77).

Al analizar los casos de cinco o más bandas, al menos 30% de los aislados formaron conglomerados, es decir, los enfermos fueron infectados por organismos similares genéticamente. Esta cifra es menor a lo reportado en otros estudios, sin embargo, representan solamente los casos de TB detectados por la Secretaría de Salud entre la población que acudió a los servicios de salud y se le solicitó muestra de expectoración (42,78).

En este estudio no se incluyó la búsqueda de infección por el VIH, factor al cual se le ha atribuido gran parte del incremento en el número de casos de TB resistente (10,12,13). Sin embargo, un estudio realizado en los individuos con SIDA y TB del INNSZ, reveló que solamente 2.2% tenían resistencia primaria a INH, mucho menor que la cifra encontrada en Huauchinango, Puebla (79).

Sólo en 30% de los enfermos se encontró el antecedente de vacunación con BCG, seguramente porque la mayoría de los afectados tenía más de 24 años de edad y no fue beneficiado con las campañas masivas de vacunación. Sin embargo, esto no explica el problema actual de TB en la región ya que la vacuna solamente parece proteger de las

formas graves de TB (80). Cabe mencionar, que en países como China y Túnez, donde también se realiza vacunación masiva con BCG se encontró poca diversidad genética en comparación con Etiopía donde no se utiliza, por lo que se ha sugerido que la vacunación tenga influencia en el genotipo de MTB predominante en una comunidad (81).

Recientemente, varios grupos de investigadores han considerado el género como factor importante en la evolución de la TB. Este se define no sólo por las diferencias genotípicas y fenotípicas entre los sexos, si no también por las diferencias culturales, sociales y económicas (82,83). En Huauchinango, la tasa de mujeres estudiadas por 100,000 habitantes fue significativamente mayor que la de los hombres a lo largo del estudio, seguramente por una mayor asistencia de las mujeres a los servicios de salud, ya que acuden frecuentemente debido a los programas de salud del niño y materno-infantil. Este hallazgo contrasta con los reportes de otros países en vías de desarrollo, en donde la mujer tiene menor acceso a los servicios de salud (82,83). Sin embargo, al analizar la proporción de casos de TB entre los individuos estudiados, el porcentaje de hombres enfermos fue mayor, probablemente porque los hombres acuden a los centros de salud cuando realmente se encuentran muy sintomáticos, o bien, porque se estudiaron muchas mujeres sin que realmente tengan datos sugestivos de TB.

Otro hallazgo interesante, fue la tasa de morbilidad mayor en hombres durante la primera mitad del estudio y posteriormente en mujeres. Las características del estudio no permitieron conocer los factores causantes de dicho patrón; una de las teorías podría ser la migración de la población masculina hacia otras jurisdicciones en los últimos semestres en busca de mejores oportunidades económicas, ya que la población más afectada por la TB fue la económicamente activa.

En varios estudios sobre el análisis de PLFR se ha documentado y verificado la contaminación intralaboratorio (84-87). Aunque se desconoce la frecuencia de contaminación cruzada, el riesgo se incrementa proporcionalmente al número de muestras procesadas y al número de casos con cultivo positivo. En nuestro estudio 17 casos (6.5%) fueron considerados contaminantes y los restantes 242 se consideraron como causantes de enfermedad. Esto representa un grave problema ya que estos enfermos son tratados innecesariamente, por lo que el análisis de los PLFR es útil para el control interno de los laboratorios de micobacteriología, en forma conjunta con el análisis de cada caso, lo cual

no se incluyó como parte de nuestro protocolo (88).

Impacto de los resultados.

Los resultados obtenidos demuestran varios problemas en el manejo del enfermo con TB en Huauchinango y eventualmente en áreas similares a ésta región:

1. El diagnóstico mediante la baciloscopia es poco eficiente, tanto por el número de muestras de expectoración estudiadas, como por el método mismo. Por lo anterior, deben buscarse estrategias para asegurar el número de muestras, mejorar los métodos de examen microscópico, o bien difundir el uso del cultivo, método que se acerca más al estándar de oro para el diagnóstico de TB, cuando se combinan medios líquidos y sólidos (89-91).
2. La prevalencia de resistencia primaria fue mayor a 4%, por lo que debe considerarse una modificación del esquema de tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar, agregando un cuarto medicamento. Esto, aunado a la disponibilidad de medicamento en presentación combinada de INH, RIF y PZ, y a la estrategia del Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado (TAES) o DOT's en sus siglas en inglés, permitirán la disminución de casos resistentes (51,92-94).
3. En la actualidad, está justificado hacer estudios de vigilancia epidemiológica de la farmacoresistencia así como de epidemiología molecular si resultan en intervenciones específicas para lograr el control de la TB (95-97). Este tipo de estudios deberá realizarse en un periodo razonable en esta Jurisdicción para evaluar el impacto y la eficiencia de las estrategias que se implementen a raíz de estos resultados.
4. Los estudios de vigilancia de la farmacoresistencia en TB pulmonar basados en los casos con baciloscopia positiva, deberán evaluarse cuidadosamente, debido a que los enfermos con baciloscopia negativa podrían influir en los resultados.

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de resistencia de TB resistente fue elevada en Huauchinango, Puebla, según este estudio con base poblacional.
2. La proporción de casos con resistencia primaria esta distribuida en forma heterogénea entre los enfermos con baciloscopia positiva y negativa, por lo que es importante

no se incluyó como parte de nuestro protocolo (88).

Impacto de los resultados.

Los resultados obtenidos demuestran varios problemas en el manejo del enfermo con TB en Huauchinango y eventualmente en áreas similares a ésta región:

1. El diagnóstico mediante la baciloscopia es poco eficiente, tanto por el número de muestras de expectoración estudiadas, como por el método mismo. Por lo anterior, deben buscarse estrategias para asegurar el número de muestras, mejorar los métodos de examen microscópico, o bien difundir el uso del cultivo, método que se acerca más al estándar de oro para el diagnóstico de TB, cuando se combinan medios líquidos y sólidos (89-91).
2. La prevalencia de resistencia primaria fue mayor a 4%, por lo que debe considerarse una modificación del esquema de tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar, agregando un cuarto medicamento. Esto, aunado a la disponibilidad de medicamento en presentación combinada de INH, RIF y PZ, y a la estrategia del Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado (TAES) o DOT's en sus siglas en inglés, permitirán la disminución de casos resistentes (51,92-94).
3. En la actualidad, está justificado hacer estudios de vigilancia epidemiológica de la farmacorresistencia así como de epidemiología molecular si resultan en intervenciones específicas para lograr el control de la TB (95-97). Este tipo de estudios deberá realizarse en un periodo razonable en esta Jurisdicción para evaluar el impacto y la eficiencia de las estrategias que se implementen a raíz de estos resultados.
4. Los estudios de vigilancia de la farmacorresistencia en TB pulmonar basados en los casos con baciloscopia positiva, deberán evaluarse cuidadosamente, debido a que los enfermos con baciloscopia negativa podrían influir en los resultados.

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de resistencia de TB resistente fue elevada en Huauchinango, Puebla, según este estudio con base poblacional.
2. La proporción de casos con resistencia primaria esta distribuida en forma heterogénea entre los enfermos con baciloscopia positiva y negativa, por lo que es importante

realizar estudios que se basen en el cultivo como método de diagnóstico.

3. La prevalencia de resistencia primaria a INH es elevada, por lo que deberá evaluarse el uso de cuatro medicamentos (INH, RIF, PZ, ETM ó STP) en el tratamiento de los casos nuevos de TB pulmonar.
4. Treinta por ciento de los aislados de MTB fueron similares genéticamente. La frecuencia de aislados resistentes en conglomerados sugiere que parte del problema actual de la TB se debe a transmisión reciente influida en parte por los casos resistentes, aunque no se encontró ningún polimorfismo endémico.
5. Es imperativo reforzar el programa de prevención y control de la TB, mejorando la eficiencia de los métodos diagnósticos y administrar el tratamiento en forma estrictamente supervisada. Esto permitirá que los enfermos sean detectados oportunamente y reciban el tratamiento completo, lo que permitirá la curación, y a mediano plazo la disminución de los casos resistentes.

BIBLIOGRAFIA

1. Brudney K, Dobkin J. Resurgent tuberculosis in New York City: human immunodeficiency virus, homeless, and the decline of tuberculosis control programs. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:745-9.
2. Barnes PF, Bloch AB, Davidson PT, Snider Jr DE. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1991;324:1644-50.
3. Snider Jr. DE, Raviglione M, Kochi A. Global burden of tuberculosis. In: Bloom BR, Editor. *Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control*. Segunda ed. Washington DC, EEUU: American Society for Microbiology Press, 1994: 3-11.
4. García-García ML, Valdespino-Gómez JL, García-Sancho MC, Salcedo-Alvarez RA. Epidemiología de VIH/SIDA y tuberculosis. In: Sada-Díaz E, Sifuentes-Osorio J Editores. *Tuberculosis*. México, D.F.: Interamericana-McGraw Hill, 1995: 809-22.
5. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud. *Epidemiología: Sistema único de información* 1996; 51:6.
6. Dirección General de Estadística e Informática. Subsecretaría de Prevención y Control de Enfermedades, Secretaría de Salud. *Mortalidad*. México D.F: Secretaría de Salud, 1996.
7. Medical Research Council. Streptomycin treatment of pulmonary tuberculosis. Medical research council investigation. *Br Med J* 1948;2:769-82.
8. Youmans GP, Williston EH, Feldman WH, Hinshaw HC. Increase in resistance of tubercle bacilli to streptomycin: a preliminary report. *Mayo Clin* 1946;21:126-7.
9. Medical Research Council. Treatment of pulmonary tuberculosis with streptomycin and para-aminosalicylic acid. Medical research council investigation. *Br Med J* 1950;2:1073-86.
10. Medical Research Council. Tuberculosis chemotherapy trials committee. Long term chemotherapy in the treatment of chronic pulmonary tuberculosis with cavitation. *Tubercle* 1962;43:201-67.
11. US PHS Cooperative investigation. Prevalence of drug resistance in previously untreated patients. *Am Rev Respir Dis* 1964;89:327
12. Jacobs RF. Multidrug-resistant tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1994;19:1-8.

13. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn JO, Cauthen GM, Dooley SW. The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 1993;328:521-6.
14. Kleeberg H, Olivier M. Tuberculosis research institute of the South African medical research council. A world atlas of initial drug resistance. Atlanta: US department of health and human services, 1984.
15. Gangadharam PR. Epidemiological aspects of drug resistance. In: Gangadharam PR, Editor. Drug resistance in mycobacteria. Boca Raton, USA: CRC Press Inc, 1984:127-58.
16. Sifuentes-Osornio J, Ponce-de-León A, Bobadilla-del-Valle, Ramírez-Fernández N, Infante-Suárez L, Nelson AN. Drug resistance in tuberculosis: a survey in Mexico city's metropolitan area. *Clin Infec Dis* 1996, 23:886 (abstract).
17. Sifuentes-Osornio J, Ponce-de-León LA, Camacho-Mezquita FE, Bobadilla-del-Valle M, Infante-Suárez L, Ramírez-Fernández N et al. Resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes mexicanos. I. Características clínicas y factores de riesgo. *Rev Invest Clin* 1995;47:273-81.
18. Bloch AB, Cauthen GM, Onorato IM, Dansbury KG, Kelly GD, Driver CR, Snider Jr. DE. Nationwide survey of drug-resistant tuberculosis in the United States. *JAMA* 1994;271:665-71.
19. Neville K, Bromberg A, Bromberg R, Bonk S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic: multidrug-resistant tuberculosis. *Chest* 1994;105:45-8.
20. Cohn DL, Bustreo F, Raviglione MC. Drug-resistant tuberculosis: review of the worldwide situation and the WHO/ IUATLD global surveillance project. *Clin Infec Dis* 1997;24 (suppl 1):s121-30.
21. Githui WA, Kwamanga D, Chakaya JM, Karimi FG, Waiyaki PG. Antituberculosis initial drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Kenya: a ten-year review. *East Afr Med J* 1993;70:609-12.
22. Chandrasekaran S, Jagota P, Chauduri K. Initial drug resistance to antituberculosis drugs in urban and rural district tuberculosis programme. *Indian Journal of tuberculosis* 1992;39:171-5.
23. Gupta PR, Singhal B, Sharma TN, Gupta RB. Prevalence of initial drug resistance in

- tuberculosis patients attending a chest hospital. *Indian J Med Res* 1993;97:102-3.
24. The WHO/IUATLD Global project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance. *Anti-tuberculosis drug resistance in the world*. WHO 1997:60-90
 25. Olvera-Castillo R, Pérez-González LR. Resistencia secundaria en tuberculosis. *Rev Inst Nat Enf Resp Mex* 1993; 6:185-90.
 26. Ben-Dov I, Mason OR. Drug-resistant tuberculosis in a southern California hospital: trends from 1969 to 1984. *Am rev Resp Dis* 1987;135:1307-10.
 27. Carpenter JL, Obnibene AJ, Gorby EW, Neimes RE, Koch JR, Perkins WL. Antituberculosis drug resistance in South Texas. *Am Rev Resp Dis* 1983;128:1055-8.
 28. Moser KS, Ocaña M, Mohle Boetani J, Escobedo M, Bergmire Sweat D, Fields D, et al. Charecteristics of foreing born hispanic patients with tuberculosis. Eights counties bordering Mexico. *MMWR* 1996; 45:1032-6
 29. Smith PG, Moss AR. Epidemiology of tuberculosis. In: Blooom BR, Editor. *tuberculosis: Pathogenesis, protection and control*. Washington DC: American Society for Microbioloty Press 1994:47-59.
 30. Barnes PF. The influence of epidemiological factors on drug resistance rates in tuberculosis. *Am Rev Resp Dis* 1987;136:325-8.
 31. Coronado VG, Beck-Sague CM, Hutton MD, Davis BJ, Nicholas P, Villareal C, et al. Transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* among persons with HIV infection in an urban hospital: epidemiological and restriction fragment lenght polymorphism analysis. *J Infect Dis* 1993;168:1052-5.
 32. Crofton J, Chaulet P, Maher D. Guidelines for the management of drug-resistant tuberculosis. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1997. WHO\Gtuberculosis\96.210
 33. Goble MJ, Iseman MD, Madsen LA, Waite D, Ackerson L, Horsburgh RC. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. *N Engl J Med* 1993;328:527-32.
 34. Fischl MA, Daikos GL, Uttamchandani RB, Poblete RB, Moreno JN, Reyes RR et al. Clinical presentation and outcome of patients with HIV infection and tuberculosis caused by multiple-drug resistant bacilli. *Ann Inter Med* 1992;115:184-90.
 35. Gruff H, Johnson R, Clafin R, Loder A. Phage-typing and drug-resistance patterns as

- tools in mycobacterial epidemiology. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:96.
36. van Embden JDE, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993;31:406-9.
 37. Alland D, Kalkut GE, Moss AR, McAdam RA, Hanh JA, Bosworth W et al. Transmission of tuberculosis in New York City: an analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods. *New Engl J Med* 1994;330:1710-7
 38. Kline SE, Hedemark LL, Davies SF. Outbreak of tuberculosis among regular patrons of a neighborhood bar. *N Engl J Med* 1995; 333:222-7.
 39. Daley ChL, Small PM, Schecter GF, Schoolnik GK, McAdam RA, Phil D, et al. An outbreak of tuberculosis with accelerated progression among persons infected with the human immunodeficiency virus. An analysis using restriction-fragment-length polymorphisms. *N Engl J Med* 1992;326:231-5.
 40. DiPerri G, Cruciani M, Danzi MC, Luzzati R, de Checchi G, Malena M. Nosocomial epidemic of active tuberculosis among HIV-infected patients. *Lancet* 1989;2:1502-4.
 41. Small PM, Shafer RW, Hopewell PC. Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection. *N Engl J Med* 1993;328:1137-44.
 42. Hermans PWM, Messadi F, Guebrexabher H, van Soolingen D, de Haas PEW, Heersma H et al. Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia, and the Netherlands. Usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. *J Infect Dis* 1995;171:1504-13.
 43. Rastogi N, Ross BC, Dwyer B, Goh KS, Clavel-Sérés S, Jeantils V. Emergence during unsuccessful chemotherapy of multiple drug resistance in a strain of *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:901-7.
 44. Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. *N Engl J Med* 1994;330:1703-8.
 45. Alland D, Kalkut GE, Moss AR, McAdam R, Hahn J, Bosworth W et al. Transmission of tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 1994;330:1710-6.
 46. Genewein A, Telenti A, Bernasconi C, Mordasini C, Weiss S, Maurer A et al. Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community. *Lancet*

- 1993;342:841-4.
47. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-1993. Para la prevención y control de la tuberculosis en la atención primaria de la salud. Diario Oficial, 26 de enero de 1995.
 48. Censo General de la Población. INEGI, Puebla 1995.
 49. Jurisdicción de Huauchinango, Puebla. Secretaría de Salud. Programa de Prevención y Control de tuberculosis 1996.
 50. Secretaría de Salud de Puebla. Diagnóstico de Salud, Jurisdicción de Huauchinango, Puebla, 1995.
 51. American Thorax Society. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1359-74
 52. Nolte FS, Metchock B. *Mycobacterium*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH Editores. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: American Society of Microbiology 1995. p. 400-37.
 53. Siddiqi SH. Bactec tuberculosis system. Product and Procedure Manual. Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems. Towson, Maryland USA. 1989.
 54. WHO/IUATLD Global Working group on antituberculosis drug resistance surveillance. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1997. WHO/tuberculosis/96.216
 55. Small PM, McClenny NB, Singh SP, Schoolnik GK, Tompkins LS, Mickelsen PA. Molecular strain typing of *Mycobacterium tuberculosis* to confirm cross-contamination in the mycobacteriology laboratory and modification of procedures to minimize occurrence of false-positive cultures. *J Clin Microbiol* 1993;31:1677-82.
 56. Johnson JL. Similarity analysis of DNA's. In: Gerhardt P, Murray RGE, Wood W, Krieg N. Editores. *Methods for general and molecular bacteriology*. Washinton, DC: American Society of Microbiology Press, 1994:656-80.
 57. Colton T. Inference on Proportions. In: *Statistics in Medicine*. Boston, EEUU: Little, Brown and Company, 1974:151-60.
 58. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud. *Epidemiología, Sistema único de información*, 1995: 50:7.

59. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud. Epidemiología, Sistema único de información, 1997; 52:7.
60. Blair EB, Brown GL, Tull AH. Computer files and analyses of laboratory data from tuberculosis patients: II. Analyses of 6 years data on sputum specimens. *Am Rev Respir Dis* 1976;113:427-32.
61. Lipsky BA, Gates J, Tenover FC, Plarde JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis* 1984; 6:214-22.
62. Correa AG. Unique aspects of tuberculosis in the pediatric population. *Clin Chest Med* 1997;18: 89-98.
63. Acosta-Bermúdez R, Acosta-Blanco P, Anzaldo-Flores G, Balandrano-Campos S, Barrón-Rivero C, Castañeda-Nava D, et al. Population based survey for drug resistance of tuberculosis-Mexico, 1997. *MMWR* 1998; 47:371-5.
64. Lazzlo A, Kantor IN. Encuesta por muestreo aleatorio de farmacoresistencia inicial en casos de tuberculosis de América Latina. *Bof Oficina Sanit Panam* 1995;119:226-35.
65. Mitchison DA. How drug resistance emerges as a result of poor compliance during short course chemotherapy for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 10-5.
66. Bureau of tuberculosis control, New York City Department of Health. Information summary 1996. New York NY, 1997.
67. Secretaría de Salubridad y Asistencia. Subsecretaría de Salubridad. Dirección General de Control de la tuberculosis y de las enfermedades del aparato respiratorio. Programa Nacional de Control de la tuberculosis. México, 1977.
68. Steiner M, Zimmerman R, Park BH, Shiralli SR, Schmidt H. Primary tuberculosis in children 2. Correlation of susceptibility patterns of *M. tuberculosis* isolated from children with those isolated from source cases as an index of drug resistant infection in a community. *Am Rev Respir Dis* 1968;98:201-9
69. Ramos J, Pico L, Martínez R. Experiencia con la administración de una combinación fija en la fase intensiva del tratamiento antituberculosos. *Neumología y Cirugía de Tórax*, marzo, 1987:12-8
70. Barnes PF, El-Hajj H, Preston-Martin S, Cave MD, Jones BE, Oyata M, Pogoda J, Eisenach KD. Transmission of tuberculosis among the urban homeless. *JAMA*

- 1996;275:305-7.
71. Fomukong NG, Tang TH, Al-Maamary S. Insertion sequence typing of *Mycobacterium tuberculosis*: characterization of a widespread subtype with a single copy of IS6110. *Tubercle Lung Dis* 1994;75:435-40.
 72. Hermans PWM, van Soolingen D, Dale JW, Schuitema ARJ, McAdam RA, Catty D, van Embden JDA. Insertion element IS987 from *Mycobacterium bovis* BCG is located in a hot-spot integration region for insertion elements in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Infect Immun* 1991;59:2695-705.
 73. Ross BC, Raios K, Jackson K, Bwyer B. Molecular cloning of highly repeated DNA element from *Mycobacterium tuberculosis* and its use as an epidemiological tool. *J Clin Microbiol* 1992;30:942-6.
 74. Hermans PWM, van Soolingen D, van Embden JDA. Characterization of a major polymorphic tandem repeat in *Mycobacterium tuberculosis* and its potential use in the epidemiology of *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium goodii*. *J. Bacteriol* 1992; 174:4157-65
 75. Wiid IJF, Werely C, Beyers N, Donald P, van Helden PD. Oligonucleotide (GTG)₅ as a marker for *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. *J Clin Microbiol* 1995;32:1318-21.
 76. Van Deutekom H, Gerritsen JJJ, van Soolingen D, van Ameijden EJC, van Embden JDA, Coutinho RA. A molecular epidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam. *Clin Infec Dis* 1997;25:1071-7
 77. Cave MD, Eisenach KD, Templeton G, Salfinger M, Mazurek G, Bates JH, Crawford JT. Stability of DNA fingerprint pattern produced with IS6110 in strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1993;32:262-6.
 78. Yang ZH, de Haas PEW, Wachmann CH, van Soolingen D, van Embden JDA, Andersen AB. Molecular epidemiology of tuberculosis in Denmark in 1992. *J Clin Microbiol* 1995;33:2077-81
 79. Jones-López D, Ponce-de-León LA, Kato-Maeda M, Calva-Mercado JJ, Villa-Soto O, Bobadilla-del-Valle M, Chávez-Mazari B, Sifuentes-Osorio J. Clinical characteristics of culture-confirmed tuberculosis in HIV infected patients in Mexico: A 6 year follow up study (Enviado a publicación).

80. Fine PEM. The BCG story: lessons from the past and implications for the future. *Rev Infect Dis* 1989;11 (suppl 2): S353-9.
81. van Soolingen D, Qian L, de Haas PEW. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. *J Clin Microbiol* 1995;33:3234-8.
82. Hudelson P. Gender differentials in tuberculosis: the role of socio-economic and cultural factors. *Tubercle Lung Dis* 1996; 77:391-400
83. Holmes CB, Hausler H, Nunn P. A review of sex differences in the epidemiology of tuberculosis. *Int J tuberc Lung dis* 1998;2:96-104.
84. Frieden TR, Woodley CL, Crawford JT, Lew D, Dooley SM. The molecular epidemiology of tuberculosis in New York City: the importance of nosocomial transmission and laboratory error. *Tubercle Lung Dis* 1996;77:407-13.
85. Wurtz R, Demarais P, Trainor W, McAuley J, Kocka F, Mosher L, Dietrich S. Specimen contamination in mycobacteriology laboratory detected by pseudo-outbreak of multidrug-resistant tuberculosis: analysis by routine epidemiology and confirmation by molecular technique. *J Clin Microbiol* 1996;34:1017-9
86. Mauer JR, Desmond EP, Lesser MD, Jones WD. False positive cultures of *Mycobacterium tuberculosis*. *Chest* 1984;86:439-43
87. Vannier AM, Tarrand JJ, Murray PR. Mycobacterial cross contamination during radiometric culturing. *J Clin Microbiol* 1988;26:1867-8.
88. Behr MA, Small PM. Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*: how can it help the clinician?. *Clin Infec Dis* 1997;25:806-10.
89. Heifets L. Mycobacteriology laboratory. *Clin Chest Med* 1997;18:35-53.
90. Morgan MA, Horstmeier CD, DeYoung DR, Roberts GD. Comparison of a radiometric method (BACTEC) and conventional culture media for recovery of mycobacteria from smear-negative specimens. *J Clin Microbiol* 1983;16:689-96.
91. Wilson ML, Stone BL, Hildred MV, Reves RR. Comparison of recovery rates for mycobacteria from BACTEC 12B vials, Middlebrook 7H11, selective 7H11 biplates and LJ slants in a public health mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol* 1995;33:2516-8.
92. Anonymous. The promise and reality of fixed dose combinations with rifampicin. A joint

statement of the International Union Against tuberculosis and Lung Disease and the tuberculosis programme of the World Health organization. *Tuberc Lung Dis* 1994;75:180-1

93. Quiroz-Huerta G, Yáñez-Velasco LB, Kato-Maeda M, Jaimes-Escobedo ML, Avena-Peralta MA, Salazar-Estrada ML, Santos-Preciado JI. TAES: tratamiento acortado estrictamente supervisado, la estrategia para controlar la tuberculosis. *Enf Infec Microbiol (México)* 1998;18:83-4
94. Weis SE, Slocum PC, Blais FX, King Barbara, Nunn M, Matney GB, Gomez E, Foresman BH. The effect of directly observed therapy on the rates of drug resistance and relapse in tuberculosis. *N Engl J Med* 1994;330:1179-84.
95. Boulahbal F, Khaled S, Tazir M. The interest of follow-up of resistance of the tubercle bacillus in the evaluation of a programme. *Bull Int Union Tuberc Lung Dis* 1989;64:23-5
96. Chaulet P, Raviglione M, Bustreo F. Epidemiology, control and treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Drugs* 1996;52(suppl 2):103-8.
97. Chaulet P, Boulahbal F, Grosset J. Surveillance of drug resistance for tuberculosis control: why and how? *Tuberc Lung Dis* 1995;76:487-92

Anexo I.

PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS RESISTENTE
EN HUAUCHINANGO, PUEBLA
CUESTIONARIO

I. DATOS EPIDEMIOLOGICOS.

Nombre _____ Edad _____

Sexo Fem _____ Masc _____

Escolaridad _____ Lugar de origen _____

Lugar de residencia _____

Ocupación _____

I. ANTECEDENTES

Presencia de cicatriz de BCG si _____ no _____ fecha de aplicación _____

Convivencia con tosedores crónicos si _____ no _____ tiempo de contacto _____

Diagnóstico del tosedor crónico _____

HISTORIA DE tuberculosis si _____ no _____ Fecha de presentación _____

Cuadro clínico _____

Tratamiento médico _____ tiempo de administración _____

Tratamiento quirúrgico si _____ no _____ tipo de cirugía _____

Otras Enfermedades asociadas _____

II. PADECIMIENTO ACTUAL

Fecha de diagnóstico _____ Fecha de inicio de aislamiento respiratorio _____

Síntomas:

Fiebre si _____ no _____ Tos si _____ no _____ Hemoptisis si _____ no _____

Pérdida ponderal (kg) si _____ no _____ cuanto _____ Ataque al estado general si _____ no _____

OTROS _____

Diagnóstico

Clinico si _____ no _____ PPD si _____ no _____

Rx si _____ no _____ BAAR si _____ no _____

Cultivo si _____ no _____

Tratamiento _____

IX. ESTUDIO DE CONTACTOS

Nombre	BCG	Fecha de aplicación	PPD	Rx tórax	Baciloscopia
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____

Anexo 2.

CARTA DE CONSENTIMIENTO

Huauchinango, Puebla a ____ de _____ de 1995

A quien corresponda:

Presente

Yo _____ estoy informada (o) sobre el estudio titulado "Prevalencia de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* resistente en la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla y caracterización molecular de los aislados clínicos.

Estoy enterada(o), de que se trata de un estudio de carácter epidemiológico para conocer la prevalencia de tuberculosis resistente en nuestra población. Me han informado que no existe riesgo en mi persona. En cambio, se tendrán beneficios como el ajuste del tratamiento en caso de que se tratara de una infección por *Mycobacterium tuberculosis* resistente. Por otra parte si rehúso participar en el estudio, no afectará en absoluto sobre la calidad de atención médica que vengo recibiendo.

Se me comunicarán sobre los datos del estudio al igual que a las autoridades sanitarias de la región.

Atentamente

Participante en el estudio

Testigo

Testigo

Responsable del estudio

Tabla 1. Panorama de *Mycobacterium tuberculosis* resistente en el mundo

Medicamento	Mediana del porcentaje de resistencia primaria (rango)		Mediana del porcentaje de resistencia secundaria (rango)	
	Meta-análisis *	Proyecto OMS**	Meta-análisis *	Proyecto OMS**
Isoniacida	4.1 (0 - 16.9)	7.3 (1.5 - 31.7)	10.6 (4 - 53.7)	29.7 (5.3 - 69.7)
Estreptomicina	3.5 (0.1 - 23.5)	6.5 (0.3 - 28.0)	4.9 (0 - 19.4)	15.0 (0 - 82.6)
Rifampicina	0.2 (0 - 3.0)	1.8 (0 - 16.8)	2.4 (0 - 14.5)	17.4 (0 - 57.9)
Etambutol	0.1 (0 - 4.2)	1.0 (0 - 9.9)	1.8 (0 - 13.7)	6.1 (0 - 29.6)
Multiresistencia	0.5 (0 - 10.8)	1.4 (0 - 14.4)	12.2 (0 - 48.0)	13.0 (0 - 54.4)

*Cohn DL et al. Clin Infect Dis 1997;24 (suppl):s121-30 (modificado de la 20)

**The WHO/UA/TLD Global project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance. WHO 1997:60-90 (Modificado de la 244)

Tabla 2. Prevalencia de *Mycobacterium tuberculosis* resistente en pacientes de los Institutos Nacionales de Salud.

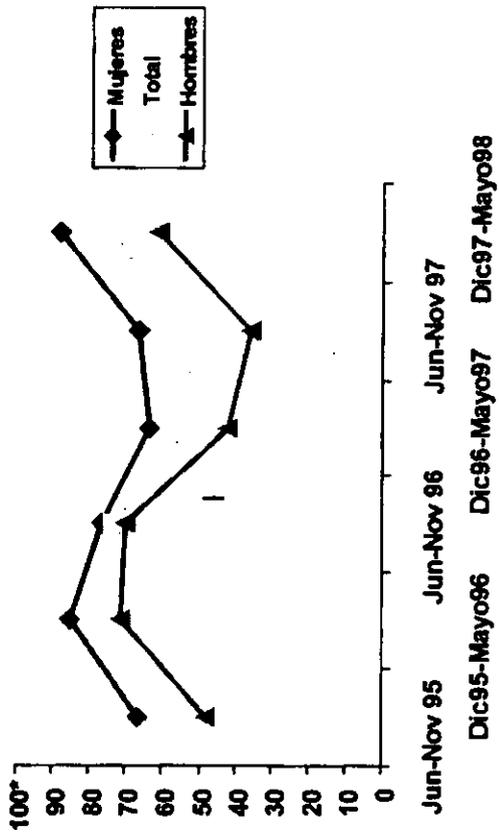
Medicamento	Resistencia primaria (%)	Resistencia secundaria (%)
Isoniacida	8.5	28.9
Estreptomicina	6.3	24.2
Rifampicina	2.0	12.1
Etambutol	2.0	5.2
Multirresistencia	6.3	23.0

Sifuentes Osornio J et al. Rev Invest Clin 1995;47:273-81 (modificado de la 17)

Tabla 3. Distribución por edad y sexo de los individuos estudiados en la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla

Edad	Total n(%)	Mujeres n	Hombres n
<5 años	13 (1)	8	5
5 a 14 años	84 (6)	44	40
15-24 años	137 (10)	75	62
25-44 años	318 (23)	182	136
45- 64 años	317 (23)	196	121
> 64 años	195 (14)	112	83
Sin dato	310 (23)	176	134
TOTAL	1374 (100)	793 (58%)	581 (42%)

Figura 1. Tasa de individuos estudiados según el sexo y el periodo de estudio



*Tasa por 100,000 habitantes

Figura 2. Distribución de casos por edad y sexo

Junio 1995-Mayo 1998

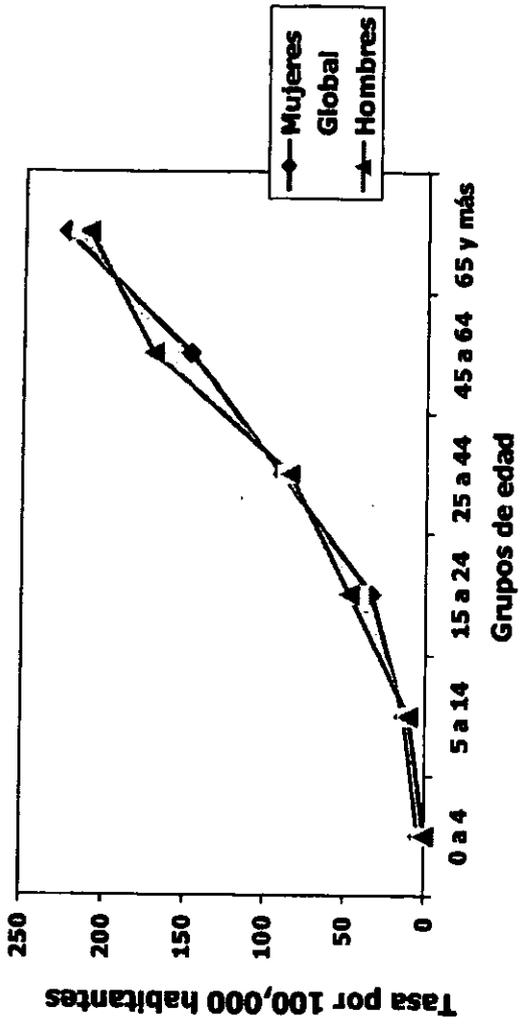


Figura 3. Proporción de enfermos en relación a los individuos estudiados

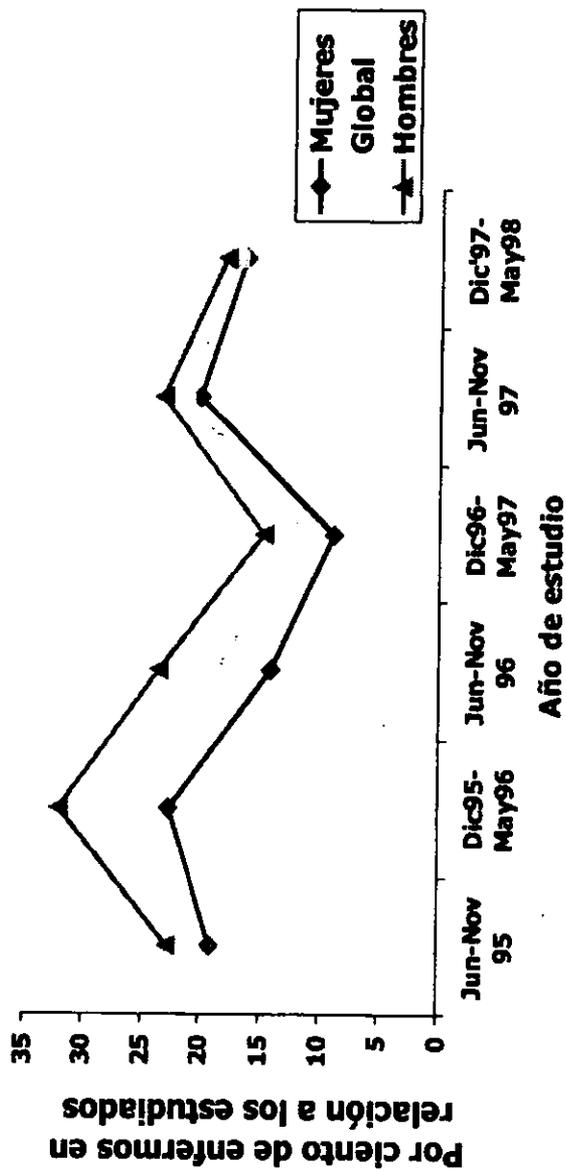
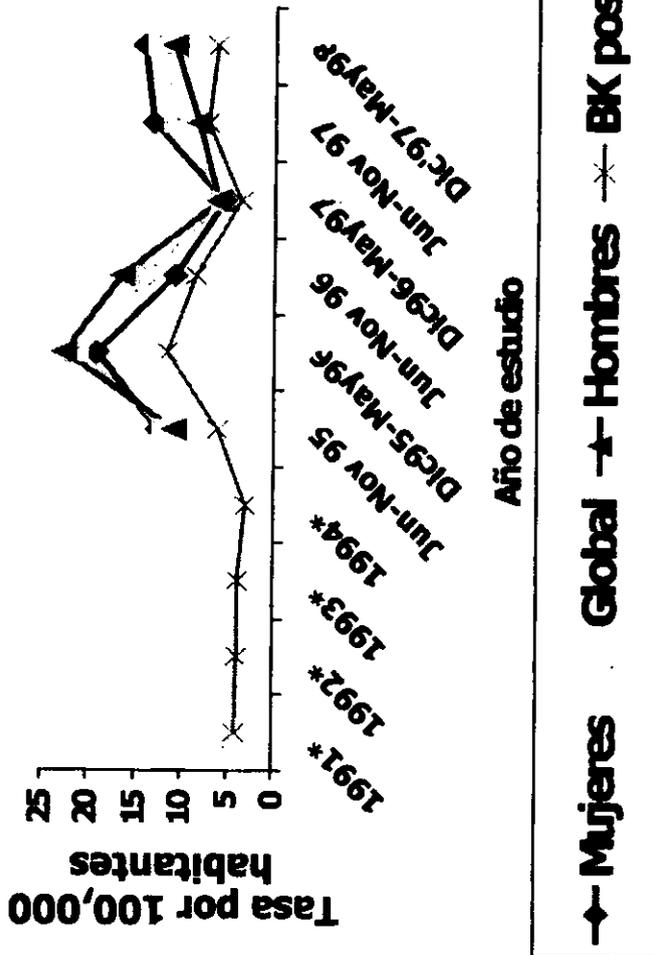


Figura 4. Tasa de morbilidad por tuberculosis pulmonar



* Según los casos notificados por la Jurisdicción de Huauchinango, Puebla

Figura 5. Morbilidad por tuberculosis pulmonar según municipio
 Junio 1995-Mayo 1998

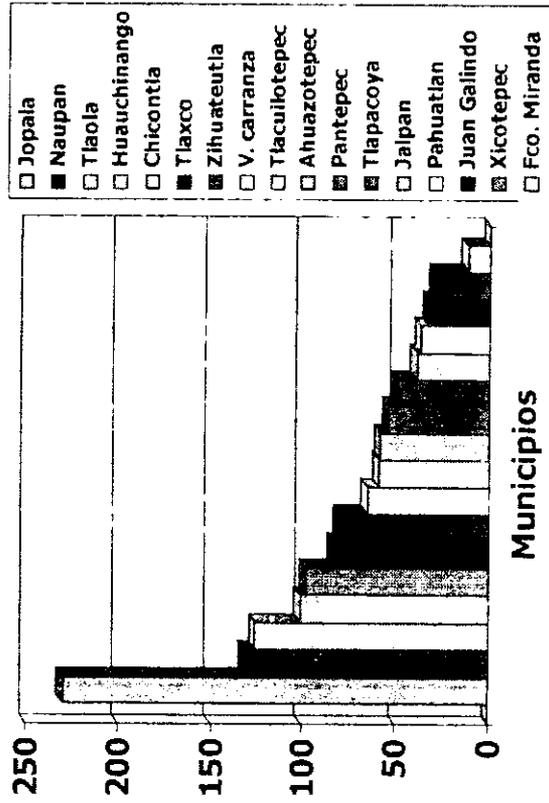


Tabla 4. Sensibilidad del cultivo y baciloscopia para el diagnóstico de los 269 casos de tuberculosis

Cultivo/Baciloscopia	Baciloscopia positiva n (%)	Baciloscopia negativa n (%)	TOTAL
Cultivo positivo para <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	131 (10)	111 (8)	242 (18)
Cultivo negativo	27 (2)	1057 (80)	1084 (82)
TOTAL	158 (12)	1168 (88)	1326 (100)

Sensibilidad de BK: 158/269=59%

Sensibilidad de cultivo: 242/269=90%

Tabla 5. Relación del número de muestras analizadas y el resultado del cultivo y baciloscopia

No. de muestras analizadas	No (%) pacientes	No (%) cultivos positivos*	No. (%) baciloscopias positivas*
1	657 (50)	84 (12.8)	39 (5.9)
2	263 (20)	63 (24.0)	34 (12.9)
3	322 (24)	70 (21.7)	41 (12.7)
>3	84 (6)	25 (29.8)	17 (20.2)
TOTAL	1326 (100)	242 (18.3)	131 (9.9)

*p<0.001

Tabla 6. Relación del número de muestras analizadas en los enfermos con cultivo positivo para *Mycobacterium tuberculosis*

No. de muestras	No. casos con cultivo positivo	No (%) casos con baciloscopia positiva*
1	84	39 (46.4)
2	63	34 (53.9)
3	70	41 (58.5)
>3	25	17 (68.0)
TOTAL	242	131 (54.1)

*p>0.05

Tabla 7. Relación del número de medicamentos a los que fueron resistentes los aislados de *Mycobacterium tuberculosis*

No. de medicamentos resistentes	Global* n(%)	Resistencia primaria** n (%)	Resistencia secundaria*** n(%)
Sin resistencia	189 (82.2)	100 (85.4)	31 (64.6)
Un medicamento	20 (8.7)	8 (6.9)	8 (16.7)
Dos medicamentos	15 (6.5)	8 (6.9)	5 (10.4)
Tres medicamentos	5 (2.2)	1 (0.8)	4 (8.3)
Cuatro medicamentos	0	0	0
Cinco medicamentos	1 (0.4)	0	0
Multiresistente	11 (4.7)	3 (2.5)	7 (14.6)

* 230 enfermos con cultivo positivo para *Mycobacterium tuberculosis*

** 117 enfermos sin antecedentes de historia de tratamiento para la tuberculosis

*** 48 enfermos con antecedentes de historia de tratamiento para la tuberculosis

Tabla 8. Susceptibilidad antimicrobiana de 230 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* a medicamentos de primera línea

Medicamento	Sensible n(%)	Resistente n(%)	IC 95%*
Isoniacida	195 (85)	35 (15)	10.4 - 19.6
Estreptomicina	218 (95)	12 (5)	2.2 - 7.8
Rifampicina	215 (93)	15 (7)	3.7 - 10.3
Etambutol	227 (99)	3 (1)	0.0 - 2.3
Multiresistencia	-	11 (5)	2.2 - 7.8

*Intervalo de confianza al 95%

Tabla 9. Susceptibilidad antimicrobiana de 117 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* en enfermos sin tratamiento previo

Medicamento	Resistencia primaria (%)	IC95*	Resistencia en 73 enfermos con baciloscopia positiva (%)	Resistencia en 44 enfermos con baciloscopia negativa (%)
Isoniacida	14 (11.9)	6.1 - 17.9	5 (6.8)	9 (20.5)
Estreptomicina	5 (4.2)	0.5 - 7.5	1 (1.4)	4 (9.0)
Rifampicina	5 (4.2)	0.5 - 7.5	2 (2.7)	3 (6.8)
Etambutol	1 (0.8)	- 2.8	1 (1.4)	0
Multiresistencia	3 (2.5)	- 5.6	0	3 (6.8)

*Intervalo de confianza al 95%

Tabla 10. Resistencia primaria según el grupo de edad.

EDAD	Total (tasa por 100,000 hab)	Estreptomicina (tasa por 100,000 hab)*	Isoniacida (tasa por 100,000 hab)	Rifampicina (tasa por 100,000 hab)	Etambutol (tasa por 100,000 hab)	Pirazinamida (tasa por 100,000 hab)	Multiresistencia (tasa por 100,000 hab)
<5 años	0	0	0	0	0	0	0
5 a 14 años	1(1.1)	0	1(1.1)	0	0	1(1.1)	0
15-24 años	1(1.4)	1(1.4)	1(1.4)	0	0	0	0
25-44 años	4(4.7)	1(1.2)	2(2.4)	2(2.4)	0	0	0
45- 64 años	4(9.8)	3(7.3)	4(9.8)	1(2.4)	0	0	1(2.4)
> 64 años	3 (19.7)	0	3(19.7)	0	1(6.6)	0	0
Sin dato	4	0	3	2	0	1	2
TOTAL	17 (4.8)	5 (1.4)	14(3.9)	5(1.4)	1(0.3)	2(0.6)	3(0.8)

*Los cinco casos tuvieron resistencia combinada con Isoniacida

Tabla 11. Susceptibilidad antimicrobiana de 48 aislados de *Mycobacterium tuberculosis* en enfermos con tratamiento previo

Medicamento	Resistencia secundaria (%)	IC95%*	Resistencia en 31 enfermos con ZN positivo (%)	Resistencia en 17 enfermos con ZN negativo (%)
Isoniacida	14 (29.2)	16.2 - 41.8	11 (35.5)	3 (17.6)
Estreptomina	4 (8.3)	0.4 - 15.6	3 (9.7)	1 (5.9)
Rifampicina	9 (18.7)	7.9 - 31.1	7 (22.5)	2 (11.7)
Etambutol	1 (2.1)	- 5.9	0	1 (5.9)
Multirresistencia	7 (14.6)	4.2 - 23.8	5 (16.1)	2 (11.7)

*Intervalo de confianza al 95%

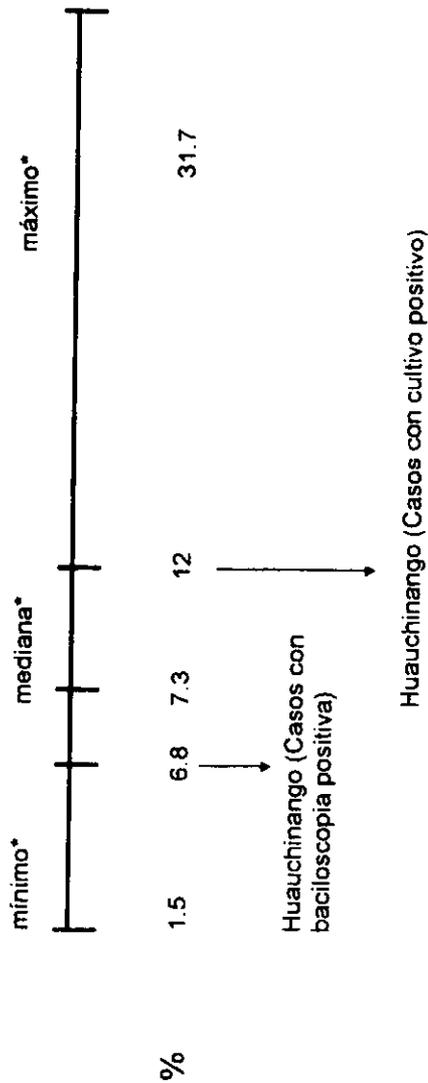
Tabla 12. Frecuencia de *Mycobacterium tuberculosis* resistente en aislados conglomerados y únicos

Conglomerado	Aislados en conglomerado Resistentes/ total	Aislados únicos Resistentes/ total	p
Cualquier conglomerado	24/111 (22%)*	11/89 (12%)	0.1
Conglomerado de cuatro o más bandas	23/81 (29%)**	12/119 (10%)**	0.002
Conglomerado de cinco o más bandas	15/60 (25%)**	20/140 (14%)**	0.097

* En dos casos no se realizó prueba de susceptibilidad antimicrobiana

** En un caso no se realizó la prueba

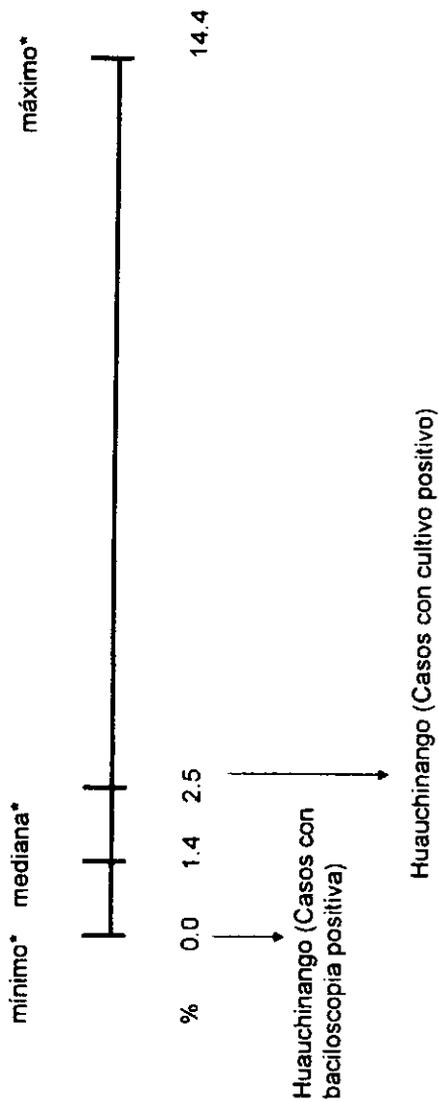
FIGURA 6. PREVALENCIA DE RESISTENCIA PRIMARIA A ISONIACIDA EN HUAUCHINANGO EN RELACION A OTROS PAISES, SEGUN EL PROYECTO DE LA OMS



* Valores obtenidos de: WHO, Anti-tuberculosis drug resistance in the world, 1994-1997 (24)

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

FIGURA 7. PREVALENCIA DE MULTIRRESISTENCIA PRIMARIA EN HUAUCHINANGO EN RELACION A OTROS PAISES, SEGUN EL PROYECTO DE LA OMS



* Valores obtenidos de: WHO, Anti-tuberculosis drug resistance in the world, 1994-1997 (24)