



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**MODELO ESPACIAL DE UN BROTE HIPOTÉTICO POR
LECHE Y QUESO FRESCO CONTAMINADO CON
Mycobacterium spp EN TIZAYUCA, HIDALGO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

ELISA RAQUEL PÉREZ GONZÁLEZ

ASESORES

**M. en C. ORBELÍN SOBERANIS RAMOS
M. en C. LUCÍA DEL CARMEN FAVILA HUMARA**



México, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A mi papá, mi mamá y mi hermano que durante toda la carrera y sobre todo en la vida siempre me han apoyado incondicionalmente. Muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mis asesores M. en C. Orbelín Soberanis Ramos y M. en C. Lucía Favila Humara por sus consejos, observaciones y tiempo dedicado a la realización de mi tesis.

Muchísimas gracias a la M. en C. Ximena Torres Mejía por su valioso apoyo para la realización del modelo predictivo y al MVZ. José Antonio Ortega Ramírez por su colaboración en los SIG.

Le agradezco al M. en C. Marco Antonio Santillán Flores por su tiempo y enseñanzas en el laboratorio de tuberculosis del INIFAP.

Agradezco el apoyo económico de la beca-tesis y el financiamiento parcial otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico con el Programa de Apoyo a Proyectos Institucionales de Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) No. 203409 “Los Sistemas de Información Geográfica y su aplicación en Salud Pública Veterinaria”. También al financiamiento parcial a través del proyecto 3217251P “Enfermedades emergentes en bovinos lecheros en México” del INIFAP.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Agente etiológico.....	2
Diagnóstico.....	3
Tuberculosis bovina.....	5
Tuberculosis humana.....	9
Los Sistemas de Información Geográfica (SIG).....	11
Análisis de riesgo.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	16
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVO GENERAL.....	18
Objetivos específicos.....	18
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	27
DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIONES.....	49
REFERENCIAS.....	51
ANEXO 1.....	58

RESUMEN

Elisa Raquel Pérez González. Modelo espacial de un brote hipotético por leche y queso fresco contaminado con *Mycobacterium spp* en Tizayuca, Hidalgo. Bajo la asesoría de los MCV's Orbelín Soberanis Ramos y Lucía del Carmen Favila Humara.

La tuberculosis bovina es una zoonosis, se transmite al humano por el consumo de productos lácteos contaminados con *Mycobacterium bovis*, y generalmente se asocia a tuberculosis extrapulmonar. Las personas que habitan alrededor de las cuencas lecheras, donde la prevalencia de esta enfermedad es mayor, tienen mayor riesgo de llegar a consumir productos contaminados con *M. bovis* y contraer la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue determinar un modelo predictivo de riesgo para la posible propagación de un brote hipotético de tuberculosis en las poblaciones aledañas a la Cuenca de Tizayuca. Se obtuvieron 50 muestras de queso y 7 de leche en tiendas de abarrotes y cremerías, que fueron georeferenciados con un Sistema de Posicionamiento Global (GPS). Las muestras se procesaron para aislamiento de micobacterias y PCR. Del total de muestras se obtuvo un aislamiento positivo al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), el cual se corroboró por PCR. Con esta información se elaboró un modelo de riesgos, que estima la probabilidad en un 90% de encontrar de 0-1 queso contaminado en 4 meses (duración del muestreo), o bien de 0-2 quesos contaminados durante 12 meses. Con respecto a la población en riesgo, el modelo determinó que de 3-11 personas pudieran llegar a infectarse con micobacterias del CMTB por consumir quesos contaminados.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina es una zoonosis que afecta a una gran cantidad de especies animales tanto domésticas como silvestres. Se trata de una enfermedad crónica y consuntiva, es decir, se presenta con pérdida de peso o emaciación progresiva, de curso crónico, caracterizada por la formación de lesiones granulomatosas.¹ El agente causal es *Mycobacterium bovis*, que pertenece al Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), que comprende *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microtti*, *M. canetti*, *M. pinnipedi*, *M. bovis caprae* y *M. bovis* BCG (Bacilo Calmette-Guérin)^{2,3,4} que son similares en un 99.9% a nivel de nucleótidos (secuencias RNAr 16 S). Sin embargo hay diferencias fenotípicas entre las especies en cuanto a huéspedes preferenciales y patogenicidad.²

AGENTE ETIOLÓGICO

El *M. bovis* es un microorganismo bacilar, aerobio, no esporulado, inmóvil y de crecimiento muy lento. Considerado Gram positivo aunque no se tiñe muy bien con esa técnica. Presenta un elevado porcentaje de Guanina+Citosina en su ADN. Su pared celular contiene más de un 60% de lípidos que le brinda la característica de ser ácido-alcohol resistente (BAAR), propiedad que se demuestra mediante las tinciones de Ziehl-Neelsen (ZN) y auramina fenolada.¹

El organismo es sensible a la luz solar, pero es resistente a la desecación y puede sobrevivir a un amplio rango de pH, es capaz de permanecer viable por un largo periodo en el suelo húmedo y cálido, en la materia fecal del ganado se tiene indicios de que puede sobrevivir de una a ocho semanas.⁶

DIAGNÓSTICO

Aislamiento y Cultivo

Para su aislamiento, se utilizan medios de cultivo sólidos con huevo como Löwenstein-Jensen (LJ) el cual contiene glicerol y el medio Stonebrink (SB) con piruvato de sodio.⁷ Se incuban durante 8 semanas a 37°C y pueden mantenerse con o sin CO₂. Generalmente, el crecimiento de *M. bovis* se aprecia a partir de la tercera semana pero puede extenderse hasta la sexta semana de incubación.⁸

El crecimiento de las colonias en el medio de LJ es pobre o nulo en el cultivo primario⁹ cuando contiene glicerol, por esta razón se añade piruvato de sodio en lugar de glicerol para el aislamiento de *M. bovis*.⁷ Si *M. bovis* crece en medio de LJ, las colonias son pequeñas (1.0 a 1.5 mm), de color blanco a crema,⁹ con el tiempo llegan a tomar una forma piramidal.¹⁰ En el medio de SB se aprecian colonias generalmente pequeñas (1.0 a 2.0 mm), blancas, como pezones, que suelen estar dispersas. En el examen microscópico con tinción de ZN se observan bacilos largos ácido alcohol resistentes (rojos) de 1.0 a 3.0 x 0.5 µm⁹, que pueden observarse como cordones.¹⁰ En la prueba de la amidasa, *M. bovis* es positivo para ureasa y negativo para nicotaminidasa y pirazinaminidasa.⁸

Prueba de la tuberculina

El principal método diagnóstico de la tuberculosis bovina es la prueba de la tuberculina, la cual consiste en la inyección intradérmica del derivado proteico purificado (PPD) bovino y la consiguiente detección de la induración que ocasiona en el sitio de la inoculación 3 días (72 horas)¹¹ después, debido a una hipersensibilidad retardada de tipo IV.⁸

El PPD bovino utilizado para la prueba de tuberculina es elaborado a partir de la cepa *M. bovis* AN5. La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) mediante la Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995 “Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*)” autoriza su aplicación en las pruebas: caudal, cervical comparativa y cervical simple.¹¹

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

El cultivo es todavía considerado la prueba de oro para la detección de las micobacterias, sin embargo, la posible presencia de micobacterias viables no cultivables en algunas muestras clínicas requieren de métodos más apropiados.² Por ello, en el campo de la biología molecular se han desarrollado nuevas técnicas que permiten la detección de los genes de microorganismos, que tienen la característica de ser muy sensibles y más específicos, por ejemplo la PCR-Multiplex diseñada por Talbot y colaboradores¹² reporta un 100% de sensibilidad y especificidad para la identificación de BCG entre cepas del CMTB, además estas técnicas permiten obtener resultados en poco tiempo.^{13,14}

La técnica molecular que se ha empleado en el diagnóstico de la tuberculosis es la PCR, que permite la amplificación de secuencias específicas de ADN que se encuentren acotadas por oligonucleótidos denominados iniciadores. Los que más se han descrito son los diseñados a partir de las secuencias nucleotídicas IS6110, IS1081 y 16Sr ADN, ya que sólo están presentes en las especies que integran al CMTB.¹⁴

Adicionalmente, la prueba de PCR es altamente sensible por lo que permite detectar como positivas muestras clínicas con escasas copias de la secuencia blanco.¹ El PCR permite comprender mejor la dinámica de la transmisión del bacilo, la identificación de brotes y la relación de éstos con focos de infección comunes, así como la diferenciación entre cepas vacunales, saprófitas o virulentas.¹⁴

TUBERCULOSIS BOVINA

La infección tuberculosa es principalmente pulmonar, en un 90% de los casos causada por la inhalación de pequeñísimas gotas procedentes de la respiración de un animal enfermo e infectado con micobacterias tuberculosas; estas pequeñas partículas reciben el nombre de gotas de Pflugge.¹

Cuando un animal no sensibilizado previamente, inhala bacilos tuberculosos, las barreras mecánicas de las vías respiratorias altas y el sistema mucociliar de la mucosa bronquial eliminan las partículas grandes, las que tienen un diámetro menor o igual a 5 µm alcanzan el alvéolo,¹ los bacilos son fagocitados por los

macrófagos, que luego interactúan con las células involucradas en la respuesta inmune innata y adquirida dentro de los linfonodos del tejido.¹⁵

La tuberculosis pulmonar presenta signos clínicos muy variados e inespecíficos. Suelen estar afectados los linfonodos bronquiales y causar disnea, al originar la constricción del paso del aire, también se puede observar timpanismo ruminal recurrente debido al aumento de tamaño de los ganglios mediastínicos.¹

La característica formación de lesiones granulomatosas se observa con más frecuencia en los linfonodos bronquiales, mediastínicos, portales y los de la cabeza (submaxilares, retrofaríngeos y parotídeos).¹¹ Los linfonodos pueden ser el único tejido infectado, además de los pulmones, el hígado, el bazo y las superficies de las cavidades del cuerpo.⁸

Un granuloma tuberculoso suele presentar un aspecto amarillento y consistencia caseosa, caseo-calcárea o calcificada, ocasionalmente pueden ser purulentos. El centro caseoso es seco, firme, y está cubierto con una cápsula fibrosa conjuntiva de grosor variable.⁸

También, es importante mencionar la presencia de lesiones tuberculosas en la glándula mamaria. La mastitis tuberculosa aparece de manera tardía en la evolución de la enfermedad, es de desarrollo insidioso porque no muestra signos de inflamación aguda ni cambios en el aspecto de la leche.^{16, 17}

Los conductos intra e interalveolares están engrosados y contienen material caseoso, así mismo los lobulillos infectados presentan un color blanco a grisáceo, y están rodeados por una proliferación excesiva de tejido conectivo interlobulillar, lo cual confiere firmeza a la glándula al momento de incidir para su inspección.¹⁶

Mills en 1898 reportó en la India el primer caso de mastitis tuberculosa en una vaca tuberculina positiva. Tiempo después se revelaron las típicas lesiones en pulmones y en ubre.¹⁸

Diversos estudios realizados recientemente mencionan la infección tuberculosa en glándula mamaria, entre ellos se encuentra el trabajo de Doran y colaboradores¹⁹ en Irlanda, el cual describe un aumento de casos de tuberculosis en el ganado y en las personas que habitan un granja lechera, a raíz del consumo de leche infectada con el bacilo tuberculoso de una vaca de 7 años con mastitis tuberculosa. La leche infectada fue utilizada para alimentar a los becerros del nacimiento al destete y la familia la consumía directamente del tanque sin pasteurizar. Veinticinco de 28 becerros fueron positivos a la prueba de la tuberculina, así como 5 de 6 miembros de la familia.¹⁹

Además de la vía aerógena, existe la infección por vía digestiva la cual ocurre por la ingestión de pasturas contaminadas, agua o por fómites, además de leche o calostro de vacas infectadas, como se mencionó anteriormente.³

Asimismo la transmisión congénita puede ocurrir hasta en el 1% de las vacas infectadas.²⁰

La importancia de la tuberculosis bovina (TBb) radica en las pérdidas económicas que ocasiona a la ganadería y el riesgo que representa para la salud pública. En México se han estimado pérdidas por 40 millones de dólares anuales, tan solo por el desecho de ganado enfermo (el ganadero, pierde de un 60 a 70% de sus ganancias para poder reemplazar un vientre, ya que no hay una indemnización por parte del Gobierno, al llevar a rastro una vaca con PPD positivo).²¹

Se estima además que la TBb disminuye la producción de leche en un 17%, reduce la ganancia de peso y la tasa de conversión alimenticia hasta en un 15%, además de la fertilidad en un 6%.²¹

De acuerdo a la página web del Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), la superficie nacional en fase de erradicación de la TBb es del 83.11% (abarca la totalidad de 10 estados y parte de otros 15)²² en la zona en erradicación existe una prevalencia de la enfermedad del 0.5%, y la prevalencia promedio en las zonas de control es del 2.05%, excepto en las cuencas lecheras donde existe una prevalencia estimada del 16.5%.²³

TUBERCULOSIS HUMANA

El agente causal de la tuberculosis humana (TBh) es principalmente *M. tuberculosis*, aunque cualquier especie del CMTB puede infectar al ser humano. Esta enfermedad afecta principalmente el aparato respiratorio, en muchos países es considerada la más importante como causa única de morbilidad y mortalidad.²⁴

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el 2009 1.7 millones de personas murieron por TBh, incluyendo 0.38 millones que padecían VIH.²⁵ La transmisión de *M. tuberculosis* ocurre por la inhalación de gotitas que se propagan por el aire, provenientes de personas infectadas al toser, hablar o escupir.²⁶ Estas gotitas penetran hasta los alveolos terminales de los pulmones, donde se multiplican y diseminan a través de la vía linfática al resto del cuerpo. Los pacientes con tuberculosis pulmonar presentan tos crónica productiva, fiebre y pérdida de peso.²⁷

La segunda causa más común de TBh es *M. bovis*,²⁴ que es indistinguible clínica, radiológica y patológicamente de *M. tuberculosis*.³

En los países en donde la TBb no está controlada la mayoría de los casos humanos se presentan en personas jóvenes, como resultado de beber leche o productos lácteos no pasteurizados contaminados por *M. bovis*, esta ruta de infección conduce a la forma extrapulmonar de la tuberculosis.³

Los factores de riesgo para las infecciones por micobacterias en seres humanos son principalmente la intensidad de la exposición, edad, sistema inmune, coinfección con VIH, estado de vacunación, entre otros.³

Los signos que deben considerarse en las personas que adquieren la infección por consumo de leche contaminada con *M. bovis* son agrandamiento de los linfonodos cervicales o mesentéricos, a veces con formación de absceso o sinusitis;²⁸ así como adenopatías cervicales, lesiones intestinales, tuberculosis crónica de la piel (formas de lupus), entre otras presentaciones no pulmonares²⁹ como derrame pericárdico, enfermedad pleural y meningitis.²⁷

La transmisión por consumo de alimentos contaminados con micobacterias afecta la salud pública y está sumamente influenciada por factores económicos, demográficos, hábitos y costumbres alimenticias, estilos de vida, entre otros. En México, se tienen estimaciones de que el 52% del consumo nacional de leche corresponde a la no pasteurizada.³⁰ En el caso particular de Hidalgo, se conoce que en su mayoría las personas adquieren productos como queso y leche, en tiendas de abarrotes, mercados regionales y locales, y que en el ámbito rural solo el 2% de la población compra en tiendas de autoservicio.³¹

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) de la Secretaría de Salud (SSA) de México, informa que en el 2010 se presentaron 14,502 casos de tuberculosis respiratoria y 204 de meningitis tuberculosa en el país (cuadro 1). Cabe destacar, que de estos casos presentados en la población mexicana, se desconoce cuántos corresponden a *M. bovis*.³²

CUADRO 1.- Casos de tuberculosis en México de 2009 a 2011.

ENFERMEDAD	2009	2010	2011
Tuberculosis Respiratoria	15,370	14,502	14371
Meningitis Tuberculosa	226	204	167

Fuente: Elaboración propia con información del: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica.

Dentro del aspecto socio-económico la tuberculosis es una enfermedad que afecta el desarrollo económico de la sociedad, puesto que el 75% de los individuos con tuberculosis se encuentra en el grupo de edad económicamente productivo de 15 a 54 años.³³

Asimismo, los costos directos del diagnóstico y tratamiento son significativos para las familias de escasos recursos, la mayor pérdida económica se produce como consecuencia de los costos indirectos, debido a la pérdida de empleo, los viajes a los centros de atención médica, y particularmente la pérdida de productividad por la enfermedad y la muerte prematura.³³

LOS SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA (SIG)

Los SIG se originan de la cartografía, el primero de éstos fue el Sistema de Información Geográfica Canadiense o CGIS, desarrollado en la década de los 60's, el segundo fue implementado en Estados Unidos de América (EUA) para llevar a cabo el censo de población de 1970.³⁴

Estos sistemas permiten recabar, manipular y obtener datos referenciados geográficamente para generar y analizar hipótesis de investigación. Con las técnicas de análisis espacial (análisis de superficies, análisis de distancias y de proximidad) es posible estudiar patrones de propagación de epidemias.^{34,35}

En el caso de las enfermedades, resulta de gran valor conocer la distribución espacial de los casos de enfermedad, para responder a las preguntas cuándo y dónde sucede una enfermedad, siendo que la epidemiología basa sus investigaciones en las diferentes enfermedades que pueden afectar a una población en cuestión.³⁴

Una de las ventajas de trabajar con SIG es que estos permiten el seguimiento de fenómenos que evolucionan en el tiempo, ya que es posible realizar modificaciones o superposiciones a bajo costo y en forma rápida, así como también comparar diferencias temporales.³⁶

También se elaboran modelos para establecer relaciones y tendencias mediante herramientas para localizar datos, medir distancias entre ellos y explorar su relación con distintas variables.³⁶

Los SIG se basan en el sistema de coordenadas cartesianas, existen 2 tipos de sistemas de coordenadas; las geográficas y las rectangulares o planas.³⁶

En el sistema de coordenadas geográficas se utiliza la nomenclatura sexagesimal, para designar un punto geográfico primero se cita la latitud y después la longitud.³⁴

La proyección cartográfica más utilizada por los SIG es la Universal de Mercator (UTM), la cual pertenece a la clasificación de proyecciones cilíndricas.^{34, 37}

ANÁLISIS DE RIESGO

El análisis de riesgo es un instrumento que mediante un estudio sistemático, lógicamente estructurado y consistente, facilita la toma de decisiones ya que, proporciona información sobre el riesgo de introducción de enfermedades. Existe el de tipo cualitativo, cuantitativo y semicuantitativo.^{38, 39.}

La evaluación cualitativa, utiliza escalas descriptivas, y la cuantitativa utiliza valores numéricos para estimar la probabilidad de ocurrencia de cada evento,³⁸ esta probabilidad se puede cuantificar y el producto de todas ellas representará el riesgo total de introducción de la infección.⁴⁰

El resultado de la probabilidad puede ser generado a través de un enfoque determinístico o estocástico. El primero ofrece solamente un resultado de la probabilidad calculada, es decir entrega un valor único de probabilidad y no toma en cuenta la incertidumbre que existe con respecto al resultado.⁴⁰ El proceso estocástico tiene un rango de posibilidades de resultados y sus probabilidades asociadas, incorpora incertidumbre en los resultados con sus

límites de confianza relacionados, el riesgo resultante es también descrito como una distribución de probabilidades.^{39, 40.}

Para desarrollar este modelo se utilizan programas de cómputo, donde las variables son incorporadas como distribuciones de probabilidad y se desarrolla una simulación con el uso del algoritmo Monte Carlo. Este algoritmo trabaja con números al azar para entregar como resultado una distribución en términos de probabilidad. Los modelos pueden ser representados con un nivel de confianza a elección del 90%, 95% o 99%.⁴⁰

El proceso del análisis de riesgo consta de las siguientes etapas:³⁸

1. Identificación de peligros
 2. Evaluación del riesgo
 3. Manejo del riesgo
 4. Comunicación del riesgo
- La identificación de peligros requiere la elaboración de un listado de los agentes patógenos que podrían producir efectos perjudiciales en los animales, productos o subproductos que estén bajo el análisis, cuando se ha identificado el peligro potencial, se descompone en partes al evento con el fin de construir el árbol de escenarios.³⁸
 - La evaluación del riesgo, a su vez comprende 4 componentes, que son: 1) la evaluación de la difusión (probabilidad de ingreso del agente patógeno), 2) la evaluación de la exposición que describe el proceso biológico para que animales y personas se vean expuestas al peligro (ingestión, inhalación,

hábitos, demografía, entre otros), 3) la evaluación de las consecuencias la cual describe las relaciones entre ciertas condiciones de exposición y las consecuencias a estas exposiciones, y 4) la estimación del riesgo suma los resultados de la evaluación de la difusión, de la exposición y de las consecuencias con el objetivo de medir el o los riesgos asociados al peligro identificado al principio.⁴¹

- En la gestión del riesgo se deciden y aplican las medidas que permitirán tener una reducción al mínimo de las probabilidades de introducción de enfermedades.⁴¹
- La comunicación o información del riesgo es la parte integral del análisis de riesgo ya que tiene como objetivos la compilación de la información y las opiniones acerca de los peligros y riesgos, la comunicación de éstos resultados y la propuesta de medidas de gestión a quienes toman las decisiones.³⁸

JUSTIFICACIÓN

La tuberculosis bovina es un problema que afecta la producción pecuaria nacional y se considera un problema de salud pública. En nuestro país, de los 15,000 casos que anualmente se reportan de tuberculosis humana, se desconoce la magnitud debida a *M. bovis*.³² La transmisión por la vía digestiva, al consumir productos lácteos sin pasteurizar y contaminados con *M. bovis*, ha sido descrita ampliamente, sin embargo, es importante saber qué repercusión tendría un brote de dicha enfermedad en las poblaciones aledañas a una cuenca lechera. A nivel nacional, el SENASICA indica que en los establos lecheros hay una prevalencia de TBb del 16.5%, además de deficientes medidas sanitarias y que solo el 49.1% de los productores participan en las campañas contra la tuberculosis y la brucelosis.³¹

Por ello, consideramos que un modelo de evaluación de riesgo nos permitirá determinar, en caso de encontrar aislados de *M. bovis*, la magnitud y la posible propagación hipotética que tendría la tuberculosis en las poblaciones aledañas a esa cuenca lechera.

HIPÓTESIS

La prevalencia de tuberculosis bovina en el Complejo Agropecuario e Industrial de Tizayuca, Hidalgo, según cifras oficiales del SENASICA es del 16.5%, por ello, se considera muy probable que el queso fresco artesanal y la leche que de ahí provengan, podrían estar contaminados con *M. bovis*, ya que estos productos no son pasteurizados.

OBJETIVO GENERAL

Representar por medio de un modelo espacial un brote hipotético de tuberculosis humana mediante herramientas como el GPS y el programa Arc View, asociado al consumo de leche y subproductos originarios del CAITSA, Hidalgo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar pruebas microbiológicas y moleculares para identificar la presencia de micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de leche y queso fresco artesanal, provenientes de expendios de Tizayuca, Hidalgo
- Caracterizar espacialmente los expendios de donde se obtuvieron aislamientos de micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis*.
- Diseñar un modelo predictivo que permita determinar el riesgo de la población de Tizayuca por el consumo de productos lácteos contaminados por micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de estudio epidemiológico: transversal, observacional y analítico.

Lugar de estudio: Tizayuca, Hidalgo.

Metodología:

Se realizó un muestreo por conveniencia, que consistió en la elección no aleatoria de la muestra, de expendios donde tenían a la venta productos lácteos, considerando entre ellos tiendas de abarrotes, queserías, cremerías, mercados y tianguis en la población de Tizayuca, Hidalgo. Cada punto de venta fue georeferenciado para obtener sus coordenadas geográficas.

Los criterios de inclusión fueron: que en los expendios los productos a la venta no estuvieran pasteurizados, haber sido elaborados y/o provenir de la leche de los establos del CAITSA. Las muestras de queso fresco artesanal eran de por los menos 250 gr cada una y las muestras de leche bronca de 500 mL.

Las muestras de leche se transportaron en envases estériles de vidrio con tapón de rosca, las muestras de queso fueron transportadas dentro de una bolsa nueva con cierre hermético, ambas se conservaron en refrigeración durante su traslado al laboratorio.

En el laboratorio de Tuberculosis del CENID Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), se procesaron, de acuerdo a la metodología descrita a continuación:

Procedimiento para el aislamiento de *Mycobacterium bovis* a partir de queso

Se tomó una muestra de 5-10 g de queso, se maceró en un vaso de licuadora estéril con 15 mL de agua estéril, durante 1-2 minutos. Se agregaron 7 mL del macerado en una suspensión de 5 mL de HCl al 10% y 2-3 gotas de rojo de fenol al 1% hasta que la solución se tornó color naranja, se dejó en reposo durante 20 min. El resto del macerado se almacenó en un tubo estéril, para referencias futuras.¹⁰

Se añadió gota a gota una solución de hidróxido de sodio 2N agitando el tubo hasta que viró a un color violáceo (morado a lila), se centrifugó * a 1450 x g durante 20 min, se decantó el 90% del sobrenadante.

Se resuspendió e inoculó en 2 tubos de cultivo con medio Stonebrink y 1 tubo con Löwenstein Jensen, los cuales se incubaron ** en aerobiosis a 37 °C, durante 12 semanas.¹⁰

Se revisaron los cultivos durante las 24 y 48 h posteriores a la inoculación, posteriormente de manera semanal. Las colonias compatibles fueron teñidas por el método de Ziehl Neelsen e identificadas definitivamente por PCR.

*Sigma, Z-16P.

**Incubator, VWR Scientific 1525.

Procedimiento para el aislamiento de *Mycobacterium bovis* a partir de leche

Se tomó una muestra de 30 mL de leche y se centrifugó 30 min a 1450x g, se decantó el suero y resuspendió la pastilla y la grasa con 5 mL de HCl al 10 %, se siguió el protocolo descrito para el aislamiento a partir de queso desde la adición de las gotas de rojo de fenol.¹⁰

Procedimiento para la extracción de ADN a partir de queso

Se depositaron 2 mL del queso macerado en un tubo tipo eppendorf (2mL), se centrifugó a 6000 x g por 5 minutos, se decantó el sobrenadante, se conservó la pastilla, posteriormente se añadió 1mL del reactivo DNAZOL® BD Reagent * se mezcló por vórtex por 15 segundos hasta que se integrara el queso con el reactivo, se conservó a temperatura ambiente (TA) por 5 minutos, se añadieron 0.4 mL de isopropanol al 100 % se homogenizó con vórtex por 15 segundos, se centrifugó a 6000 x g por 6 minutos, se decantó para eliminar el sobrenadante, se agregaron 0.5 mL de DNAZOL ® BD Reagent*, y se homogenizó con vórtex hasta que la pastilla se disolvió completamente, se centrifugó nuevamente a 6000 x g por 5 minutos y se decantó para eliminar el sobrenadante, posteriormente se efectuaron 2 lavados con etanol al 70 %, centrifugando a la misma velocidad y mismo tiempo que anteriormente y decantando el sobrenadante en cada ocasión, al término de los lavados con etanol se dejaron secar los tubos con las tapas abiertas a TA, se disolvió la pastilla con 100 µl de solución 8mM de NaOH y se conservó en refrigeración hasta su uso.

*Life Technologies, USA.

El ADN resultante se evaluó por medio de electroforesis en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio y fue cuantificado en un espectrofotómetro.*

El ADN se conservó en refrigeración hasta su uso.

Procedimiento para la extracción de ADN a partir de leche

Se realizó la extracción con el reactivo DNAZOL® BD Reagent**, se centrifugaron 10 mL de leche a 1450x g durante 20 minutos, se desechó el suero y se conservó la pastilla y la crema, se transfirió a un tubo tipo eppendorf (2 mL), se disolvió la pastilla en 1 mL de DNAZOL® BD Reagent, se dio vórtex por 15 segundos y se conservó a temperatura ambiente (TA) por 5 minutos, el protocolo sigue igual que para la extracción a partir de queso.

Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de *M. bovis*

Se utilizaron los iniciadores ET1 (5' AAG CGG TTG CCG CCG ACC GACC 3') y ET3 (5' GAG GCG ATC TGG CGG TTT GGGG 3') y de ET2 (5' CTG GCT ATA TTC CTG GGC CCGG 3') *** específicos de la región RD1 complejo tuberculosis. (El diseño de esta PCR se muestra en la figura 1).

Cada reacción consistió en Buffer 1x, 2 mM MgCl₂, 10 mM TrisHCl, gelatina 0.001%, KCl, 200 mM DNTP's, , 25 pM de cada iniciador, 50 ng de ADN, 1.25 UI de Taq polimerasa (BioTecMol) y agua destilada grado biología molecular c.b.p. 50 µl de cada reacción. Las condiciones de amplificación fueron 95 °C/5 min, seguido de 35 ciclos de 94°C/30 s, 66 °C/30s y 72 °C/30 s, y un ciclo final de 72 °C/5 min. El producto esperado es de 150 pares de bases (pb) para las cepas de campo y 200 pb para BCG ¹². Los amplicones fueron visualizados por

medio de electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio y usando como referencia el marcador de peso molecular 50 pb.+

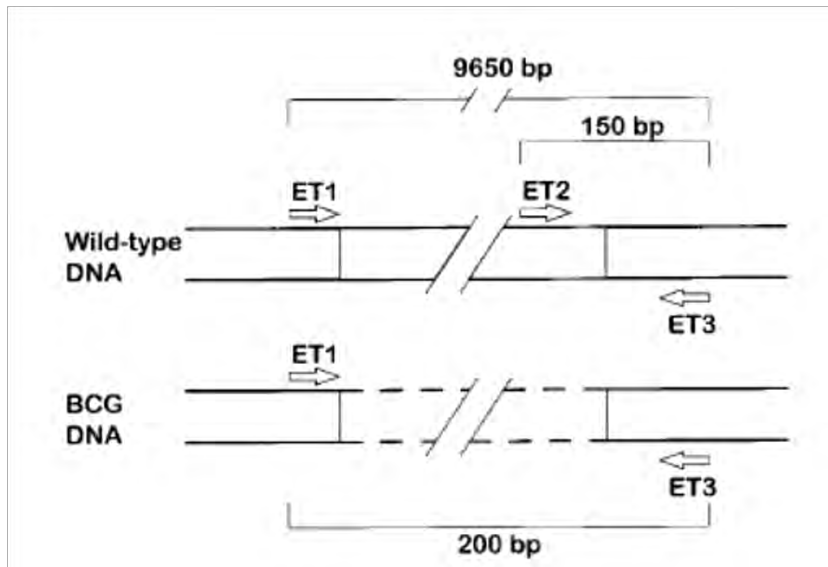


Fig. 1.- Diseño de la PCR Multiplex.¹² En la parte superior se representa una cepa del Complejo Mycobacterium Tuberculosis, que contiene la región RD1 de 9.5kb. ET2 y ET3 obtienen una región de 150 pb. En la cepa *M. bovis* BCG se elimina esta región (dibujo con líneas discontinuas). ET1 y ET3 obtienen un producto de 200 pb.

Determinación de la sensibilidad de la prueba de PCR

Se realizaron diluciones décuples seriales por triplicado a partir de un cultivo de *M. bovis* cepa AN5 crecido en medio líquido Dubos con OADC, de las cuales 100 μ l fueron sembrados por triplicado en agar Middlebrook 7H11 con OADC y cuantificados adicionalmente por espectrofotetría a 640 nm de longitud de onda.⁴²

* PerkinElmer, Lambda Ez150, USA.

**Life Technologies, USA.

*** ACCESOLAB, S.A de C.V, México.

+ Thermo Scientific. Fermentas.

Se realizó la extracción de ADN de cada una de estas diluciones y se utilizó como template en la prueba de PCR descrita.

Encuesta epidemiológica

Se diseñó un instrumento de medición dirigido a los habitantes del municipio de Tizayuca, Hidalgo, para identificar y evaluar los factores de riesgo de la población para infectarse a través de productos lácteos contaminados con micobacterias del CMTB.

El cuestionario se estructuró con variables capaces de medir los hábitos de consumo de queso y leche, principalmente frecuencia de compra, la cantidad, marca del producto, sitios de compra, y principal consumidor dentro de la familia.

Por medio de la aplicación de un cuestionario piloto en 30 personas se validó la encuesta epidemiológica, y en base a éste se hicieron los ajustes para su aplicación en el resto de las personas a entrevistar. El cuestionario se aplicó por medio de entrevista directa, en el Centro de Salud del municipio y la Escuela Primaria, por intermedio de la Jurisdicción Sanitaria de Tizayuca.

Con base en el teorema del límite central, se consideró aplicarlo en 100 personas residentes de Tizayuca, debido al muestreo no probabilístico por conveniencia.

MODELO DE EVALUACIÓN DE RIESGO

- Identificación del peligro: el principal agente patógeno asociado al peligro es *Mycobacterium bovis*.

- Evaluación del riesgo, que comprende:
 - Evaluación de la difusión: en donde se analizó el proceso biológico necesario para que se encuentre el agente patógeno, el mecanismo de transmisión y la probable contaminación en leche y queso fresco. El cuestionario permitió conocer que los habitantes de Tizayuca consumen quesos frescos artesanales, en su mayoría elaborados con leche proveniente de la cuenca lechera del municipio.
 - Evaluación de la exposición, en este caso los factores involucrados para que los habitantes de Tizayuca se expongan al peligro. El proceso de elaboración es realizado con poca higiene, los quesos se ofrecen a la venta en expendios como tiendas de abarrotes y cremerías, las personas por costumbre adquieren quesos frescos artesanales para su consumo en este tipo de establecimientos. La leche tiene dos vías de venta, la leche de marca que se vende en los expendios y la no pasteurizada que se reparte en bicicleta.
 - Evaluación de las consecuencias: relación entre determinadas condiciones de exposición al agente biológico y sus consecuencias directas e indirectas.
 - Consecuencias directas: transmisión vía digestiva del agente y probable infección de tuberculosis extrapulmonar.

- Consecuencias indirectas: pérdida de la salud, costos en recuperación, diseminación de la enfermedad a poblaciones aledañas.
- Estimación del riesgo: con el programa @risk, se desarrollo un modelo de simulación para la evaluación de riesgo, el cual cuantificó el probable número de quesos de tipo artesanal contaminados con micobacterias del CMTB durante el tiempo que se realizó el estudio (aproximadamente 4 meses), además se considero en otro modelo, aumentar el tiempo del estudio a 12 meses para estimar el número de quesos contaminados; asimismo se calculó el número de sujetos, que con base en el consumo reportado de quesos artesanales, pudieran estar en riesgo de infección por micobacterias del CMTB.

En el programa @risk versión 5.7, se generaron 3 salidas con una simulación de 10,000 iteraciones (número de recálculos).

Para representar la entrada de los quesos contaminados se utilizó la distribución Poisson y para la población la distribución Hipergeométrica.

Sistema de información geográfica

Se utilizó el programa ArcGis versión 9.3 para la visualización de los lugares georeferenciados, utilizando como base la cartografía del Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEGI) los cuales corresponden a diferentes capas de información como: municipios, localidades urbanas, áreas geoestadísticas básicas (AGEB'S) y manzanas.

RESULTADOS

De 623 establecimientos de venta al por menor en el municipio de Tizayuca que tiene registrado el INEGI,⁴³ se visitaron 62 locales considerados como tiendas de abarrotes y cremerías, de ellos, el 43% (27 expendios) ofrecían al consumidor quesos artesanales elaborados con leche de la cuenca y en solo 7 lugares fue posible adquirir leche bronca.

Se adquirieron 50 muestras de queso de 250 gr y 7 L de leche. Un problema que se presentó es que el sistema de venta de leche bronca, no es a través de las tiendas, sino por medio de personas que van casa por casa ofreciéndola, por lo que no fue posible adquirir un mayor número de muestras de leche.

Todas las muestras se procesaron para extracción de ADN, PCR y aislamiento bacteriológico. Ninguna de las muestras fue positiva a PCR; sin embargo, después de 5 semanas de incubación, la muestra de queso con el número de identificación 18 mostró el desarrollo de colonias compatibles con micobacterias. Se realizó un frotis de una de estas colonias y tinción de Ziehl-Neelsen en la cual se observaron bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR), una asada de estas colonias se resembró por duplicado en medio Dubos con OADC y después de una semana de incubación en aerobiosis a 37 °C, uno de los tubos de cultivo se centrifugó a 2000 rpm/10 min y se procedió a hacer extracción de ADN a partir de la pastilla resultante. Este ADN se utilizó como template para la prueba de PCR utilizando los iniciadores T1, T2 y T3. Esta prueba permitió determinar que el aislamiento pertenece al CMTB (figura 2), la

resiembr en el tubo adicional de medio líquido no desarrolló crecimiento después de 3 semanas de incubación por lo que no se realizaron pruebas bioquímicas para tipificar el aislamiento.

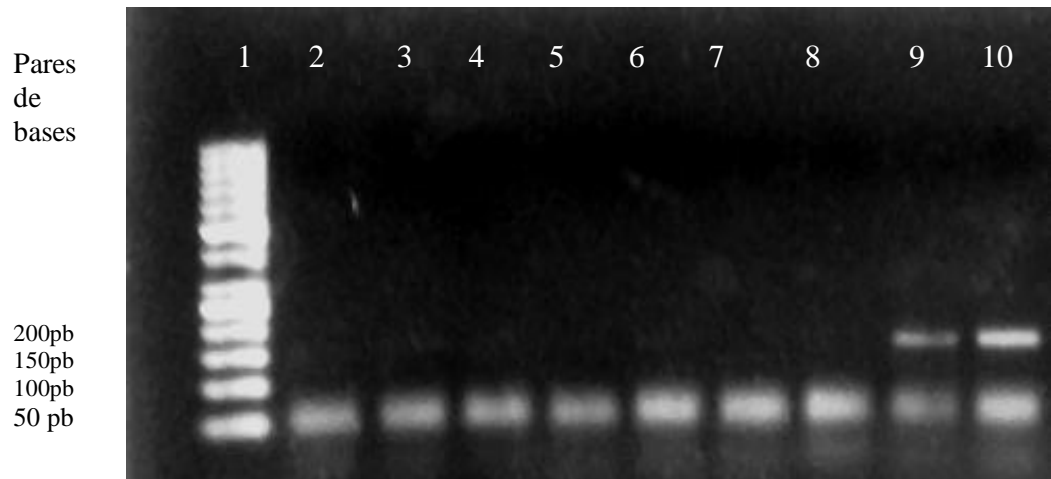


Figura 2. Muestra positiva al Complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

El carril número 1 corresponde al marcador de peso molecular de 50 pares de bases, el número 2 al control negativo, el 9 al PCR positivo de la muestra de queso, el 10 al control positivo, las muestras en los carriles 9 y 10 se encuentran a una distancia de 150 pares de bases.

La concentración del inóculo empleado en la evaluación de la sensibilidad de la prueba de PCR fue cuantificada en 250,000 ufc/mL. Después de realizar las diluciones décuples seriales por triplicado, extraer el ADN y realizar la prueba de PCR y electroforesis, se observó la presencia de amplicones hasta la tercera dilución por lo cual se determinó que la metodología descrita tiene un límite de detección de 250 ufc/mL (figura 3).

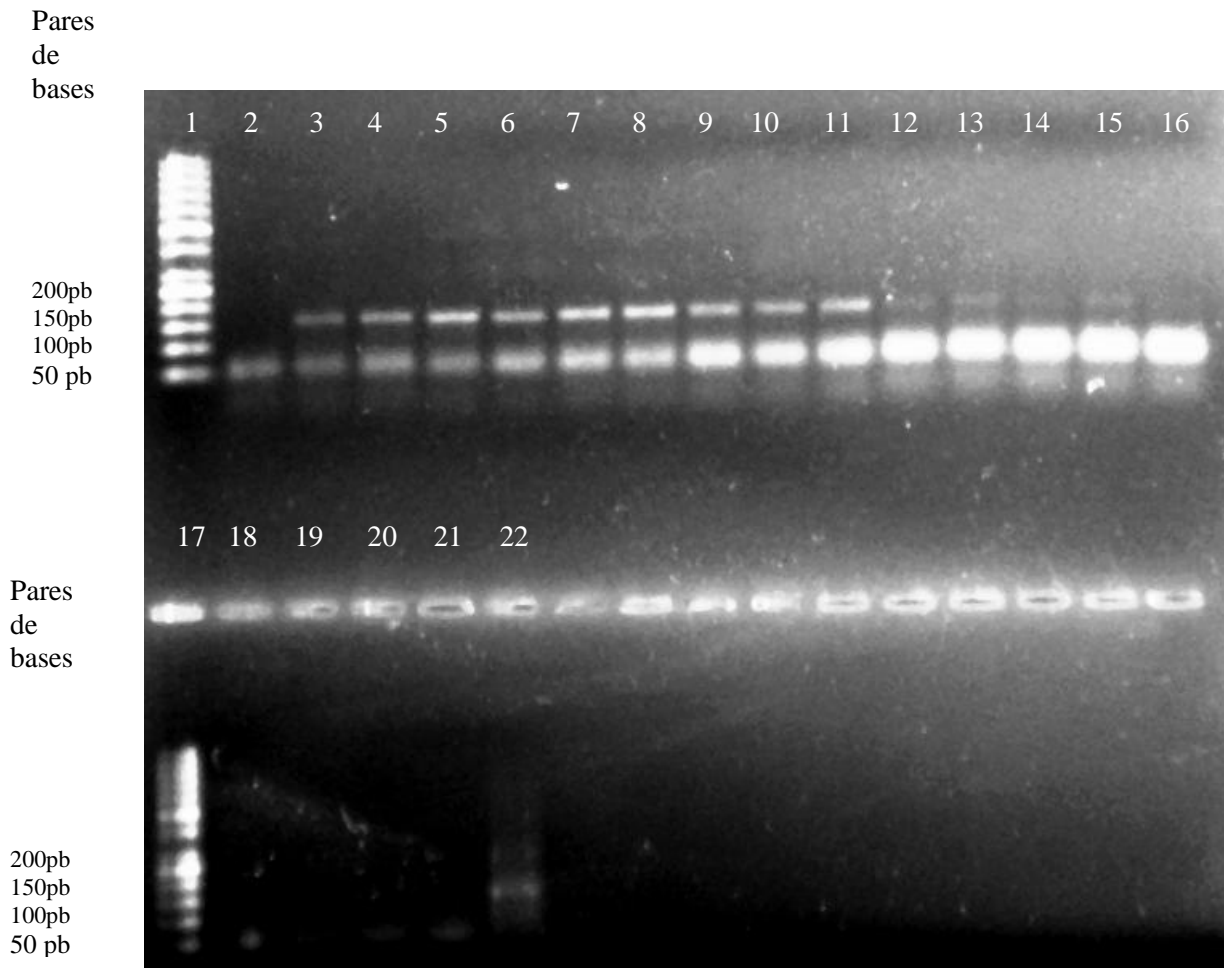


Figura 3. Sensibilidad de la prueba de PCR. En el primer carril se encuentra el marcador de peso molecular de 50 pares de bases, el segundo es el control negativo, el carril 3 al 5 corresponden a la 1ª dilución, los carriles 6 a 8 a la 2ª dilución, del 9 al 11 a la 3ª dilución, el carril número 22 corresponde al control positivo.

Encuesta

Se aplicó el cuestionario a 100 personas que residen en el municipio de Tizayuca, Hidalgo, de los cuales el 87% fueron mujeres y el 13% fueron hombres, la media de edad fue de 36.15 años con una desviación estándar de 11.4 (Prueba de Shapiro Wilks $p > 0.09$) con un rango de edad de 16 a 62 años (figura 4). El percentil 25% de los entrevistados fue de 16 a 28 años, la mediana de 37 años y en el percentil 75%, la edad fue de 43.5 a 62 años.

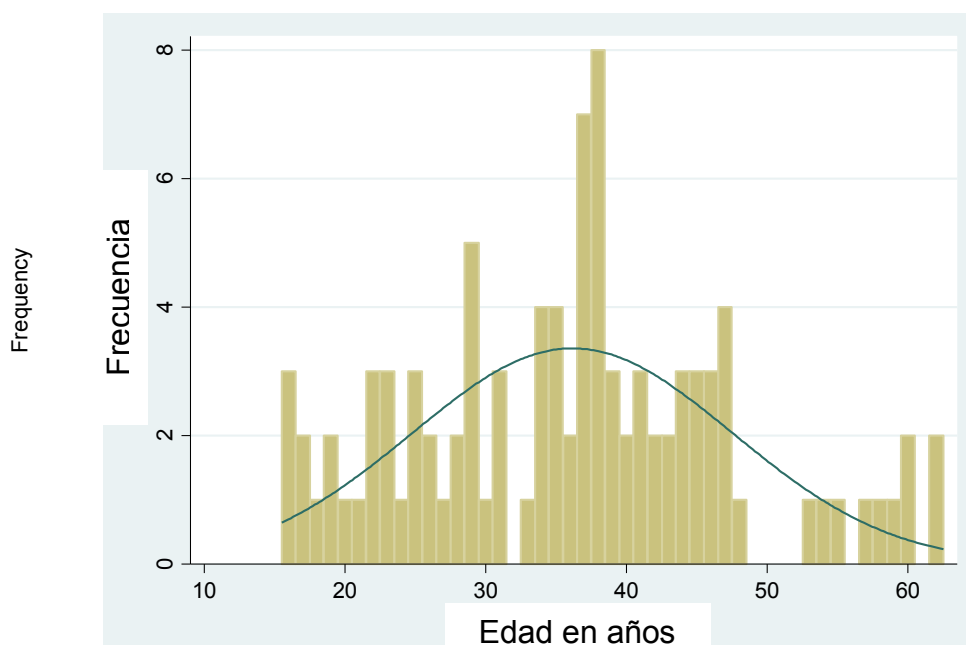


Figura 4. Distribución de la edad de las personas entrevistadas en Tizayuca Hidalgo, de noviembre 9 a diciembre 6 de 2011.

El 77% de las entrevistas fueron realizadas en el Centro de Salud Tizayuca, el 14% en la Escuela Primaria “Cuauhtémoc” y el 9% en el Laboratorio Santa María de la ciudad de Tizayuca Hidalgo.

El 97% de las personas entrevistadas indicaron que compran leche de vaca para su consumo familiar. Las marcas comerciales que principalmente se adquieren por estas familias se pueden observar en el cuadro 2.

Cuadro 2. Distribución de marcas comerciales que adquieren las personas entrevistadas en Tizayuca Hidalgo, de noviembre 9 a diciembre 6 de 2011.

Marca Comercial	Frecuencia	%	% Acumulado
Alpura	9	9.28	9.28
Lala	17	17.53	26.80
Santa Clara	4	4.12	30.93
Liconsa/Conasupo	34	35.05	65.93
Leche bronca	12	13.40	79.38
Fórmula láctea	18	18.56	97.94
Leche en polvo	2	2.06	100.00

El 66% de los entrevistados consumen leche fluida de las principales marcas existentes en el mercado, el 13.4% la adquiere sin hervir o pasteurizar (bronca), y el 20.6% compra fórmula láctea o leche en polvo.

Cuadro 3. Principales sitios de compra de leche de las personas entrevistadas en Tizayuca Hidalgo, de noviembre 9 a diciembre 6 de 2011.

Sitio de Compra	Frecuencia	%	% Acumulado
Tienda de abarrotes	68	70.10	70.10
Cremería	2	2.06	72.16
Supermercado	16	16.49	88.66
Lechero	11	11.34	100.00

Se observa que el 70.1% de las personas entrevistadas adquieren la leche en tienda de abarrotes, es importante recalcar que 31 personas compran en los expendios de la Liconsa. El 16.5% la adquieren en los supermercados, el 11.3% la compran al lechero (botero) y el 2.06% restante en las cremerías (cuadro 3).

Parte de la entrevista tuvo como objetivo conocer la frecuencia o periodicidad de compra de la leche, por los residentes en el municipio (cuadro 4).

Cuadro 4. Periodicidad de compra de leche de las personas entrevistadas en Tizayuca Hidalgo, de noviembre 9 a diciembre 6 de 2011.

Periodicidad de compra	Frecuencia	%	% Acumulado
Diario	29	30.85	30.85
Una vez por semana	13	13.83	44.68
2 veces por semana	25	26.60	71.28
3 veces por semana	22	23.40	94.68
4 veces por semana	5	5.32	100.00

En cuanto a la periodicidad de compra se observa que el 30.85% de las personas entrevistadas compran leche diariamente, el 26.60% lo hace 2 veces

por semana, el 23.4% compran la leche cada tercer día, 13.83% compran una vez por semana y 5.3% 4 veces a la semana.

La cantidad de litros comprados por estas familias se muestra en el siguiente cuadro.

Cuadro 5. Cantidad de litros de leche adquiridos por las personas entrevistadas en Tizayuca Hidalgo, de noviembre 9 a diciembre 6 de 2011.

Litros de leche	Frecuencia	%	% Acumulado
0.5	1	1.06	1.06
1	19	20.21	21.28
2	24	25.53	46.81
3	9	9.57	56.38
4	22	23.40	79.79
5	1	1.06	80.85
6	3	3.19	84.04
8	10	10.64	94.68
12	5	5.32	100.00

Como se observa en el cuadro anterior, el 25.53% de las personas entrevistadas compran 2 litros de leche, el 23.40% 4 litros, el 20.21% compran un litro por día, el resto compra entre 0.5 y 12 litros.

Al relacionar la frecuencia de compra y la cantidad de litros adquiridos por los entrevistados (cuadros 4 y 5), observamos que diariamente 13 personas compran 2 litros de leche, 7 personas compran 1 litro diario, por el contrario solamente 2 veces a la semana 9 personas compran 4 litros y 7 familias compran 8 litros.

Las familias adquieren la leche en un 91% para el consumo de los hijos, el resto indicaron que es para consumo familiar. También es importante

mencionar que en 13 familias hay adultos mayores (más de 60 años de edad) que consumen la leche que se compra, 6 cuentan con 1 adulto mayor, otras 6 con 2 adultos mayores en la familia y 1 familia con 3 adultos mayores.

CONSUMO DE QUESO

En cuanto a las familias que adquieren queso para su consumo, el 53% compran del tipo Oaxaca, el 46% quesos frescos como panela, canasto, blanco, o rancharo, y 1% de otro tipo como queso doble crema.

El 26% de las personas compran queso de marca “La Villita”, los quesos sin marca (en su mayoría de elaboración casera) también representan el 26% de la compra, un 24% de las personas adquieren queso marca “Chilchota”, el 23% de otras marcas (Ciervo, Nochebuena, entre otros), sin embargo, las personas no recordaban el nombre pero afirmaban que si tenía marca (Cuadro 6).

Cuadro 6. Principales marcas de queso adquiridas por la población de Tizayuca, Hgo., de noviembre 9 a diciembre 6 de 2011.

Marca Comercial	Frecuencia	%	% Acumulado
Chilchota	24	24.00	24.00
Duranguense	1	1.00	25.00
La Villita	26	26.00	51.00
Otras marcas	23	23.00	74.00
Caseros	26	26.00	100.00

La mayoría de las personas entrevistadas (58%) compran 250 gr de queso para el consumo de su familia, el 32% 500 gr y el resto otra cantidad (desde 100 gr a un kg).

Con respecto a la frecuencia de compra, el 36% lo hace una vez por semana, el 30% 2 veces por semana, 11% lo hace quincenalmente, 10% mensualmente, y 5% diario o 4 veces por semana.

Un 52% de los entrevistados indicaron que toda la familia consume el queso que compran, un 43% indicó que los hijos son los que consumen este producto con más frecuencia, 4% lo consumen adultos mayores.

El sitio preferido de compra fue en un 47% la tienda de abarrotes, seguido por la cremería en un 27%, un 12% lo compra en el supermercado, un 5% lo compra dentro de la cuenca lechera o con personas particulares, el resto lo compra en tianguis o mercados.

Una parte muy importante de la entrevista, fue el preguntarles si sabían que por consumir leche bronca o quesos frescos pueden contraer enfermedades, el 51% respondió que no lo sabía y el 49% si sabe que puede contraer alguna enfermedad.

A las personas que respondieron afirmativamente se les preguntó si conocían que enfermedades que podrían contraer, las respuestas fueron muy variadas pero un 15% no supo responder la pregunta e indicó que no se acordaba aunque sabían que la leche hay que hervirla, 13% respondió que podía enfermarse de tuberculosis por ingerir este tipo de productos, el 10% dijo que se podían contraer enfermedades del tipo gastrointestinal (parásitos, amibas,

etc.), 4% respondió que se podía enfermarse por brucelosis y tuberculosis, el resto tuvo respuestas distintas.

MODELO DE EVALUACIÓN DE RIESGO

Árbol de escenarios

Permite describir el riesgo que tiene una persona de infectarse por micobacterias del CMTB al consumir quesos contaminados. Los escenarios denotan la posible evolución de un sistema de riesgos hacia un estado futuro, representados por cuadros, los rombos representan la probabilidad de que pueda ocurrir un evento, cada rama del árbol indica la secuencia de eventos que pueden conducir al riesgo final.

Los primeros 3 cuadros (figura 5) corresponden a situaciones que anteceden a esta investigación, pero que es necesario incluir por el peso que tienen en los eventos estudiados. A partir del cuarto cuadro se inicia el presente estudio, al encontrar un queso contaminado con micobacterias pertenecientes al CMTB, lo cual implica un riesgo, ya que las personas que llegasen a consumir quesos artesanales contaminados podrían infectarse de tuberculosis por la vía digestiva, considerado este último el riesgo final.

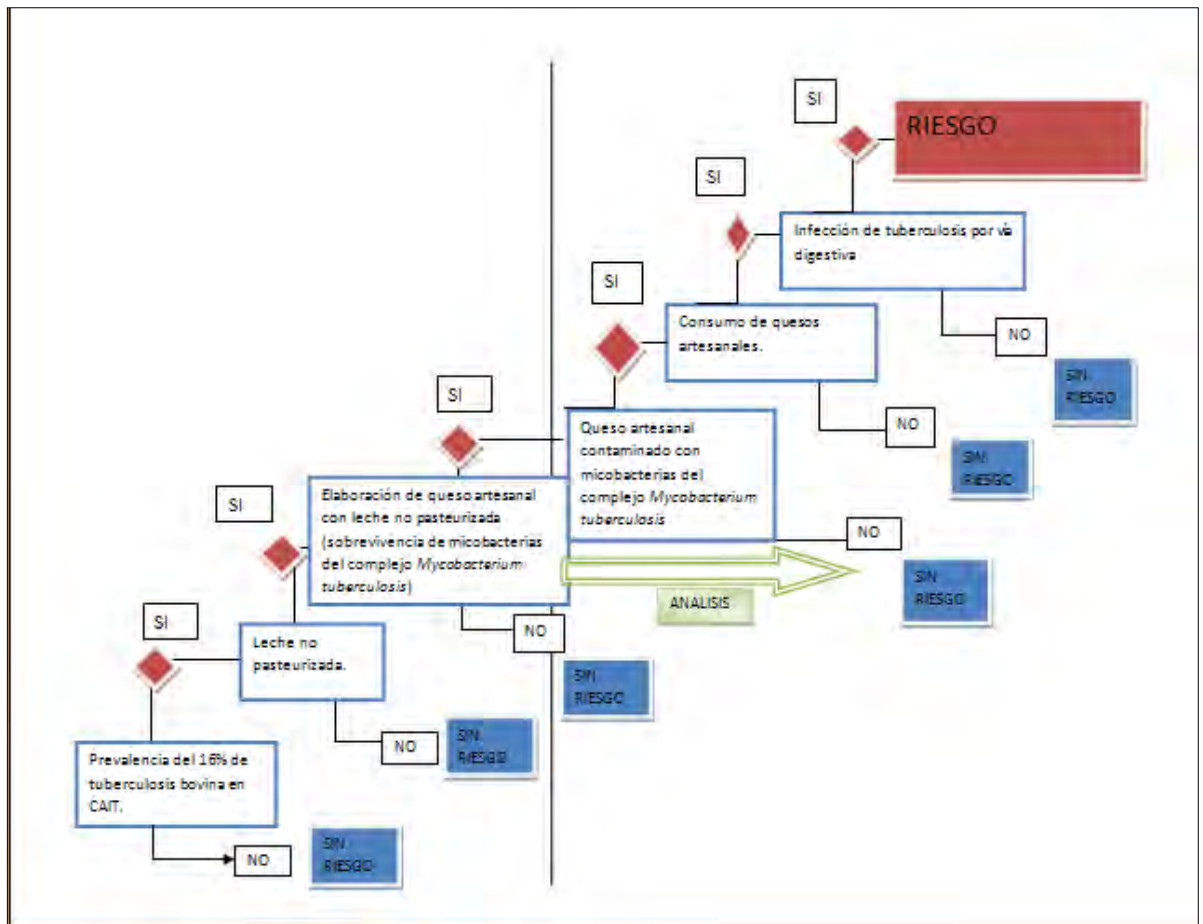


Figura 5. Árbol de escenarios.

Los resultados del modelo de riesgos fueron los siguientes:

Número de quesos contaminados con micobacterias del CMTB en 4 meses

Mediante la distribución Poisson se representó la entrada de los quesos contaminados que podemos encontrar en 4 meses, después de la simulación encontramos un máximo de 4 quesos y un mínimo de 0, sin embargo, el 90% de probabilidad se establece entre 0 y 1 queso artesanal contaminado.

QUESOS CONTAMINADOS EN 4 MESES



Figura 6. Densidad de probabilidad para los quesos artesanales en 4 meses.

En la figura anterior, se muestran los resultados de la probabilidad acumulada producto del proceso iterativo utilizado por el programa, se hacen recálculos 10,000 veces (número de iteraciones). Puesto que los valores están separados por una desviación (0.5) los valores son homogéneos, tiene un sesgo de 1.99 esto es hacia el lado derecho, ya que lambda es pequeña, la curtosis es de 6.92.

En este tipo de distribución la media es igual a lambda y a la varianza, lo que se cumple en este ejercicio. La media, varianza y lambda son iguales a 0.25.

Número de quesos contaminados con micobacterias del CMTB en 12 meses

Si se extiende el tiempo de muestreo a 12 meses usando la misma distribución se encontrarían un máximo de 6 quesos contaminados y un mínimo de 0, el 90% de probabilidad se establece entre 0 y 2 quesos artesanales contaminados.



Figura 7. Densidad de probabilidad para los quesos artesanales en 12 meses.

Las medidas de dispersión fueron: desviación estándar de 0.86, varianza 0.75, sesgo 1.15, curtosis 4.34. En comparación con el muestreo de 4 meses, las observaciones se encuentran a 2 desviaciones estándar de distancia, el sesgo o asimetría es mayor ya que el límite máximo aumentó a 6 quesos contaminados, por lo cual se observa una cola más larga hacia la derecha.

Comparación del tiempo de muestreo (4 y 12 meses).



Figura 8. Densidad de probabilidad comparando los 2 tiempos de muestreo.

Al comparar los 2 muestreos, el primero de 4 meses y el siguiente de 12, se encontró que existe un 90% de probabilidad de encontrar de 0 a 1 quesos contaminados, en 12 meses se tiene una probabilidad de 35.4% de encontrar de 0 a 1 quesos contaminados, teniendo 17.3% de probabilidad para encontrar más de uno. En otras palabras, la probabilidad de encontrar más de un queso infectado es de 95% en 4 meses, y 51.8% en 12 meses.

Número de personas infectadas según su consumo de queso

Con la información obtenida de las encuestas aplicadas a la población, se determinó que el consumo de quesos artesanales es del 26% en la población de Tizayuca. Con este dato y la información del INEGI, se obtuvo una estimación del consumo aproximado por colonias para determinar el impacto

de desarrollar tuberculosis extrapulmonar en la población del municipio de Tizayuca.

Utilizando la distribución Hipergeométrica se encontraron que de 3 a 11 personas que consuman queso artesanal, podrían infectarse con micobacterias del CMTB con un 90% de probabilidad, y un 5% de encontrar hasta 16 personas.

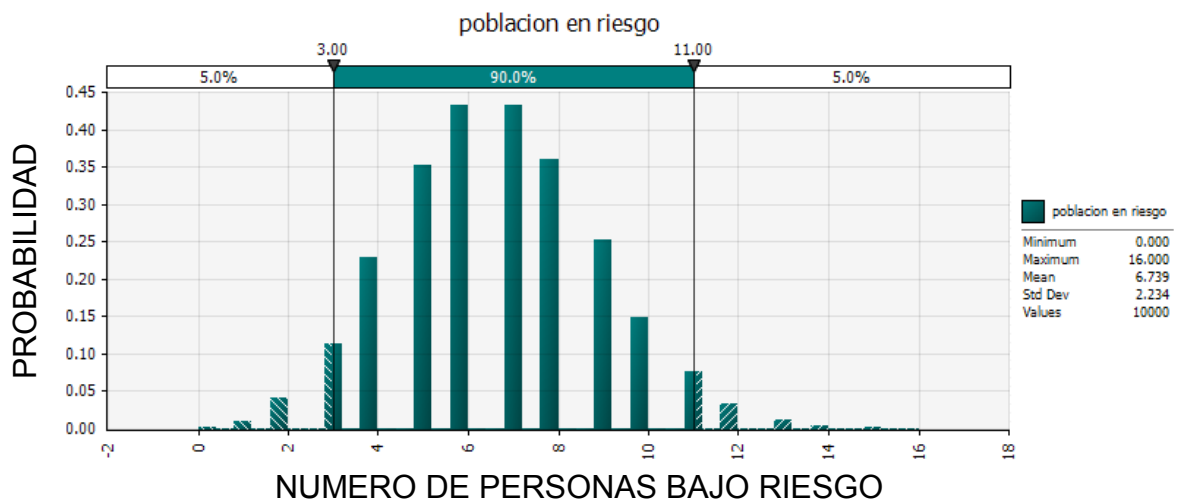


Figura 9. Densidad de probabilidad del número de personas infectadas según su consumo de queso.

Se observa en la gráfica de densidad de probabilidad, las personas que según su consumo de queso artesanal (26% de la población encuestada consume esta tipo de queso) podrían resultar infectadas por micobacterias del CMTB.

Las medidas de dispersión fueron las siguientes: la desviación estándar de 2.23, la varianza de 4.99, sesgo de 0.21, la asimetría se observa en las colas tanto izquierda y derecha, la curtosis fue de 2.96. Cabe señalar que el modelo

presentado es del tipo teórico, sin embargo esta técnica no sustituye al juicio personal.

SISTEMA DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA

Los mapas desarrollados en el programa ArcGis ArcMap 9.3.1 fueron los siguientes:

En este mapa (figura 10), se observa cada uno de los 62 locales visitados (con un punto) entre tiendas de abarrotes y cremerías, de ellos, la mayoría de ellos se ubican en la localidad de Tizayuca (área metropolitana del municipio), los restantes en las localidades de Tepojaco y Huitzila.

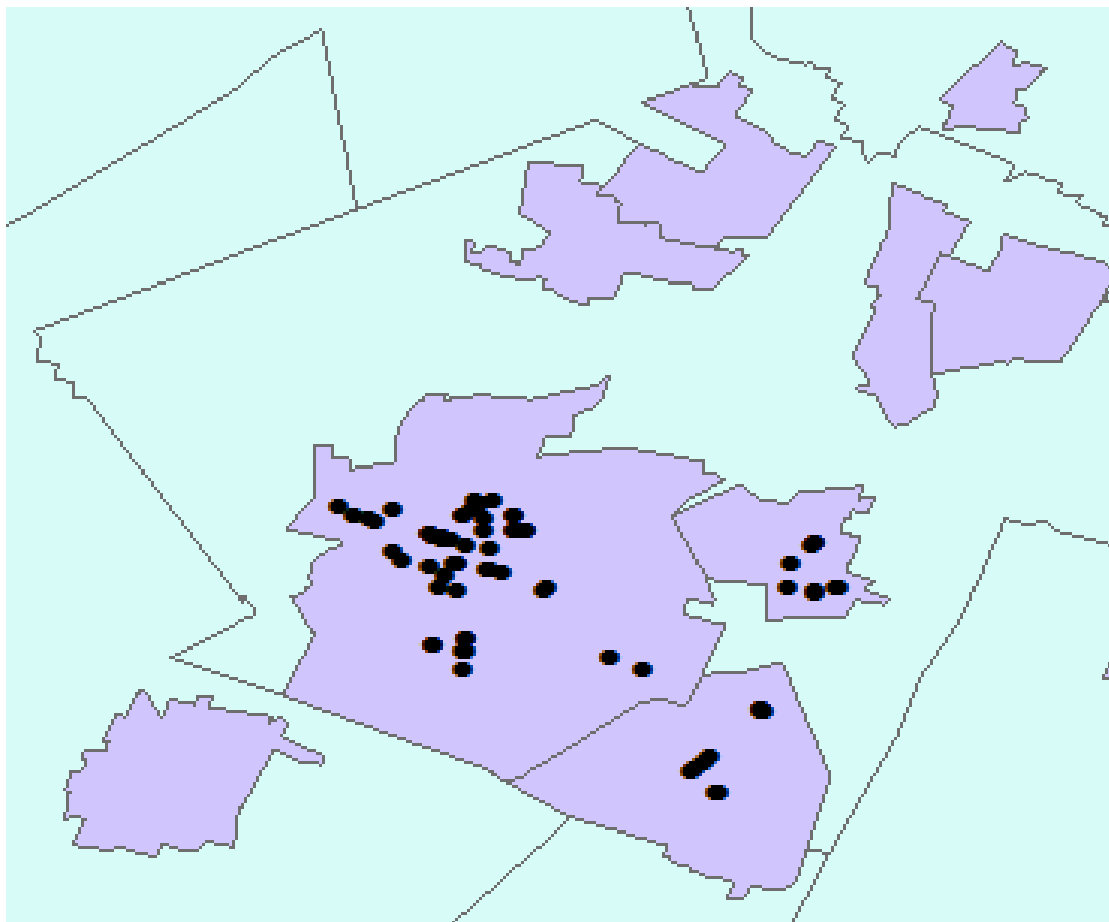


Figura 10. Mapa de la Ciudad de Tizayuca y localidades urbanas aledañas.

En el lugar donde se obtuvo la muestra positiva a micobacterias del CMTB, se elaboró un buffer concéntrico de 5 anillos de 20 metros de distancia entre cada uno que suman 100 metros en total (figura 11).

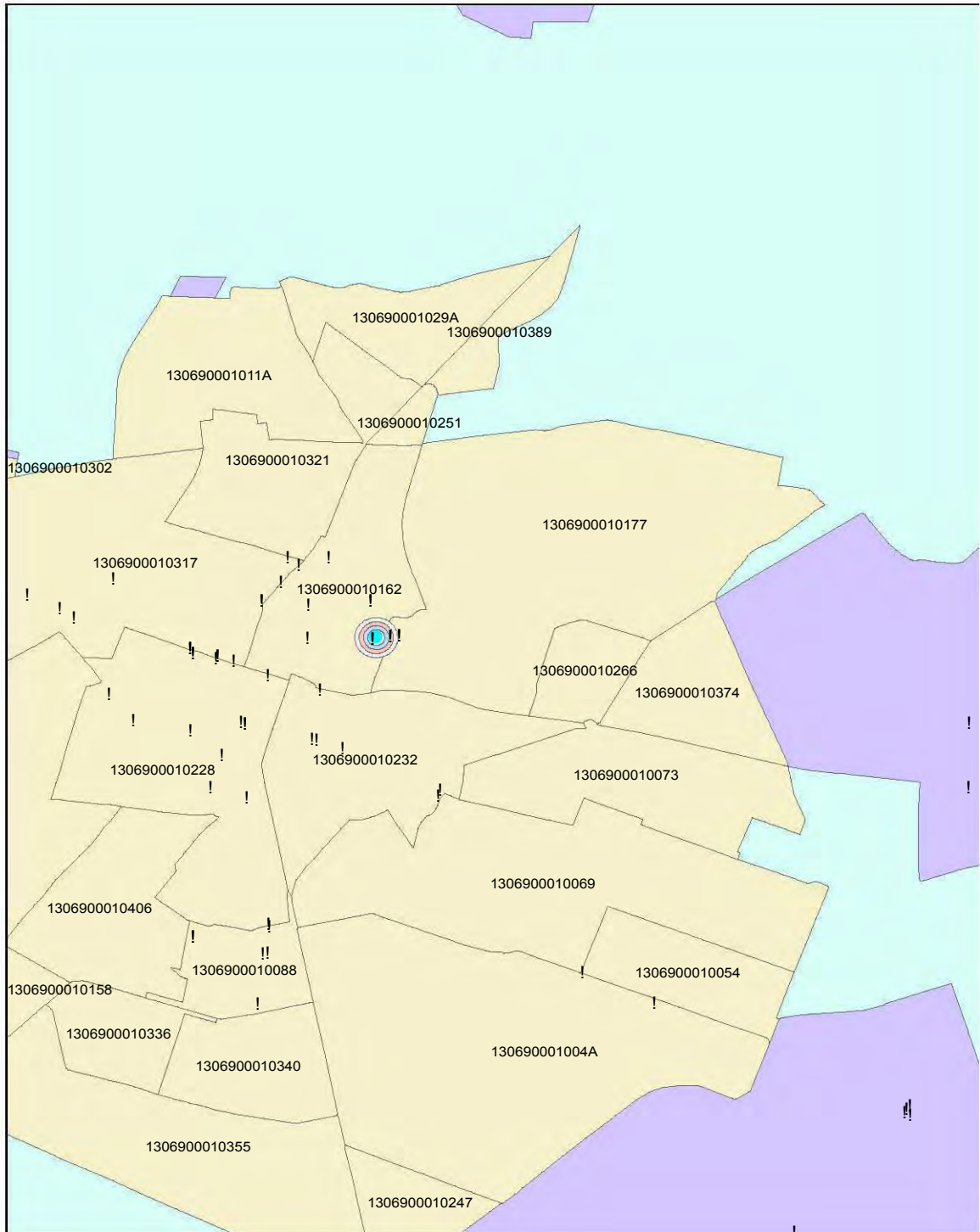


Figura 11. Ubicación del lugar de compra de la muestra positiva al aislamiento bacteriológico.

Se puede observar que el anillo final del buffer (100 metros) abarca 2 AGEB's las cuales tienen una población total de 5,752 personas.

La población estimada se multiplicó por el 26% correspondiente a las personas en riesgo de consumir quesos artesanales, lo que implica un resultado de 1,496 personas que estarían expuestos a consumir quesos contaminados (figura 12).

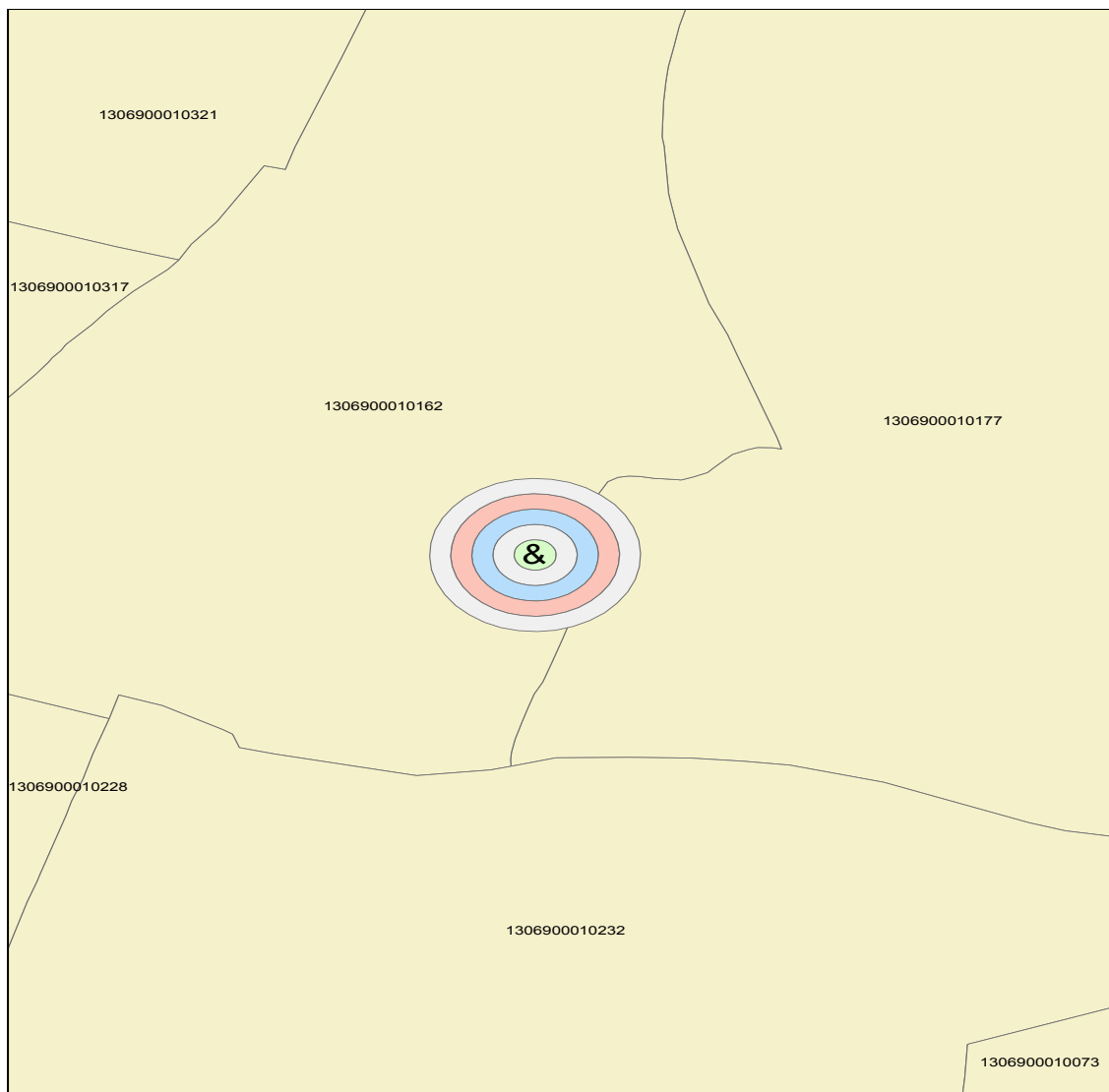


Figura 12. Acercamiento al lugar de compra de la muestra positiva al aislamiento bacteriológico, los anillos del buffer implican una distancia de 100 metros de circunferencia.

En este mapa se observa las manzanas donde los habitantes pudieran llegar a consumir quesos contaminados, considerando la cercanía con el lugar de la muestra positiva. La población total de las 6 manzanas que logra alcanzar el buffer es de 730 personas esto multiplicado por 26% (consumo de quesos artesanales en la población), resultan 189 habitantes que estarían en riesgo de consumir quesos contaminados (figura 13).

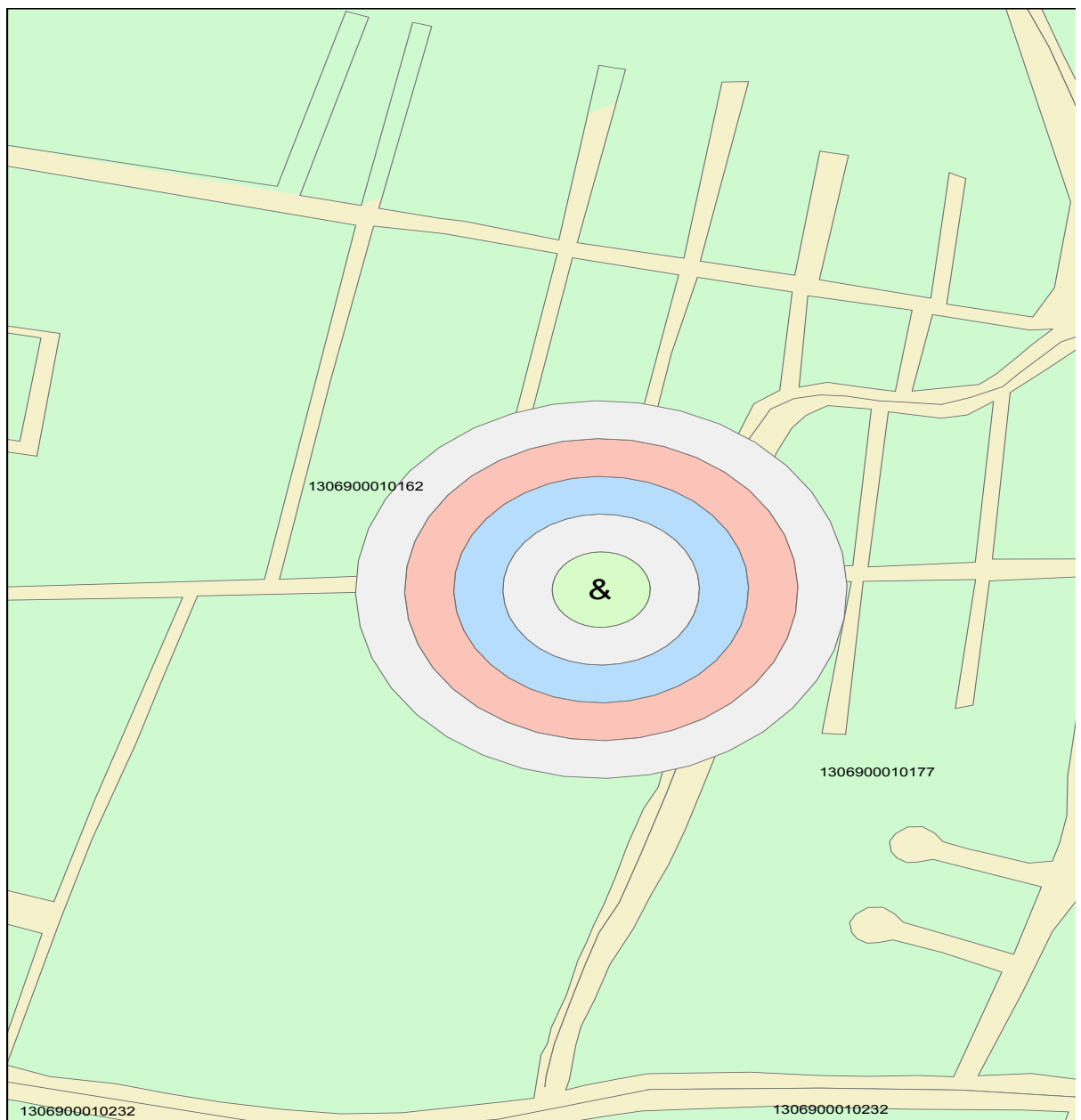


Figura 13. Manzanas en el municipio de Tizayuca, cercanas al punto de compra de la muestra positiva al aislamiento bacteriológico.

DISCUSIÓN

Investigaciones epidemiológicas realizadas anteriormente indican que el consumo de productos lácteos sin pasteurizar, incluyendo quesos frescos originarios de México pueden haber originado casos de tuberculosis humana por *M. bovis* en los Estados Unidos (EUA).^{44-48.}

Dichos estudios señalan que un factor de riesgo es el origen, considerando a la población hispana mexicana, ya que en sus viajes a México compran o consumen quesos frescos artesanales. El estudio realizado por Harris y colaboradores⁴⁹ reporta que de 203 muestras de queso fresco originario de México, 10 aislamientos fueron positivos al género *Mycobacterium*, de los que 9 fueron caracterizados como *M. fortuitum* y uno solo perteneciente a *M. bovis*. La cepa del queso aislada en este estudio es muy similar a nivel de espoligotipos a 3 cepas de la especie bovina, recuperadas de ganado que entra a EUA proveniente de México.⁴⁹

En otros estudios realizados en los EUA, en casos pediátricos hospitalarios, las características más frecuentes en los niños han sido: presentar tuberculosis extrapulmonar, ser hispanos o de ascendencia hispana, los padres informaron haber estado en México y haber consumido quesos frescos del país.^{45-48.}

Winter y colaboradores⁴⁷ en la ciudad de Nueva York del 2001 al 2004, encontraron 35 casos por *M. bovis* de un total de 4,524 pacientes con TB, 12 de ellos menores de 15 años. Hlavsa sugiere que la transmisión ha sido

reciente y probablemente por la ingestión de productos lácteos contaminados y no pasteurizados.⁴⁸

En la ciudad de San Diego California, EUA, en un periodo de 6 años (1994-2000) se reportaron 129 casos de tuberculosis por *M. bovis*, 39% en niños, teniendo un 53% de pacientes con presentación extrapulmonar.⁴⁵

Dankner et al.⁴⁶ en la misma ciudad pero entre 1980 a 1997, encontró 34% de casos de tuberculosis pediátrica por *M. bovis* procedentes de 180 cultivos, 55.2% de los pacientes mostraron la presentación extrapulmonar y un 96.2% fue mayor de 12 meses.⁴⁶

Los hábitos y costumbres de los padres de los pacientes de origen hispano se relacionan con la infección por productos contaminados, ya que el 82.6% de ellos indicaron haber consumido queso producido en México.⁴⁸

En este estudio el número de muestras fue menor al trabajo citado por Harris, ya que se obtuvo 1/50 (2%) de muestras con cultivo positivo a micobacterias del CMTB. Es importante considerar que el producto fue elaborado con leche que proviene de establos donde la prevalencia de tuberculosis bovina es del 16.5%¹⁸ y aunado a la poca higiene con la que se producen los quesos en esta zona, la micobacteria tuvo la oportunidad de sobrevivir, representando un riesgo importante para la población ya que como se muestra en el modelo

espacial, el lugar donde se adquirió el queso está situado en el centro del municipio, sitio de reunión para las familias de Tizayuca.

También es importante destacar que el método de muestreo que se utilizó genera desventajas o limitantes para el estudio en cuestión, ya que al ser por conveniencia o de selección intencionada presenta sesgos, no se puede cuantificar la “representatividad” de la muestra ya que el investigador es quien la determina de un modo subjetivo, además de que no representa la variabilidad de la población, por esto quedará subestimada.

Esta técnica de muestreo se utilizó porque se realizó una primera prospección de la población y porque no existía un marco de referencia de ésta.⁵⁰

Utilizando el modelo de evaluación de riesgos, nos permite estimar que en un término de 4 meses hay un 90% de probabilidad de que un queso artesanal este contaminado con micobacterias del CMTB y si el periodo se aumenta a un año, podrían ser dos.

En este estudio no fue posible obtener información de los casos de tuberculosis humana en el municipio de Tizayuca, a nivel estatal se registran aproximadamente 150 casos al año. Un problema es que cuando la baciloscopia resulta positiva se inicia tratamiento y no se llevan muestras para aislamiento y cultivo, por lo que no es posible determinar que micobacteria del CMTB causó la enfermedad. Sin embargo, el modelo estimó que la población que podría presentar TB extrapulmonar, con un 90% de probabilidad, podrían

ser de 3 a 11 personas. Situación que indica una magnitud importante considerando los trabajos citados anteriormente.

Cabe señalar, que un alto porcentaje de las familias compran quesos caseros, los cuales son ingeridos por niños, lo que representa un factor de riesgo para ellos, de acuerdo con los estudios citados anteriormente.

CONCLUSIONES

El problema de salud pública que conlleva la tuberculosis por *M. bovis* en México se encuentra escasamente descrito, ya sea porque no se llega a conocer el agente causal de la enfermedad, por fallas en el diagnóstico, o por faltas en la notificación por parte de las autoridades del sector salud.

La presencia de un aislamiento positivo al CMTB representa un hallazgo importante, ya que se confirma que hay poca higiene en la elaboración de quesos artesanales en este municipio y un riesgo a la salud pública.

El modelo de evaluación de riesgos permitió estimar la magnitud de la infección por consumo de productos lácteos contaminados por micobacterias del CMTB.

Si bien el riesgo es pequeño, por el volumen de las muestras procesadas, no hay que subestimarlos, ya que este estudio podría ser la base para elaborar otros más detallados que incluyan un mayor número de muestras y que relacionen aspectos como hábitos y costumbres de la población, prevalencia de la Tb extrapulmonar, y grupos de edad en que se presenta con mayor frecuencia.

La modelización espacial representa un importante instrumento para conocer la posible diseminación de la enfermedad y la población sujeta a riesgo, también podría haberse utilizado para la rastreabilidad para encontrar el lugar exacto donde se pudo haber contaminado el queso.

Otorgarle un nivel de certidumbre a la posible contaminación de quesos artesanales y el consecuente riesgo para la población que los consume, ayuda a visualizar el problema de salud pública de una manera menos subjetiva, aunque debe mencionarse que el análisis no pronostica al 100% que lo presentado sea lo que vaya a suceder, para esto se necesita añadir detalles que permitan tener un mayor alcance en los resultados, y tener en cuenta el juicio personal.

La aportación de la encuesta epidemiológica fue muy relevante ya que por medio de ésta se conoció que un porcentaje amplio de la población encuestada (26%) compra quesos frescos artesanales que pueden constituir un riesgo para la población. Sería interesante relacionar la prevalencia de la tuberculosis extrapulmonar en la población de Tizayuca con sus hábitos de consumo de productos lácteos.

Por otra parte, los resultados de este estudio resaltan la importancia de la pasteurización de la leche y la elaboración de subproductos lácteos con leche pasteurizada. Esta medida es esencial para evitar la transmisión de la tuberculosis y muchas otras infecciones hacia la población humana.

Es importante la participación de los productores en las campañas zoonosanitarias para disminuir la prevalencia de tuberculosis bovina en el CAITSA, así como también la intervención de instituciones gubernamentales del sector salud para llevar a cabo campañas de educación encaminadas a conocer y evaluar los hábitos de consumo de productos lácteos que conlleven un riesgo para la población del municipio.

REFERENCIAS

1. ARANAZ A, LIÉBANA E, MATEOS A, DOMÍNGUEZ L, NOVOA C, PICKERING X. Patología del Aparato Respiratorio de los Bóvidos . Formación Continuada en Veterinaria. "Tuberculosis respiratoria en bovidos". España: Pulso Ediciones, 1996.
2. AYELE WY, NEILL SD, ZINSSTAG J, WEISS MG, PAVLIK I. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004; 8(8):924-937.
3. BIET F, BOSCHIROLI ML, THOREL MF, GUILLOTEAU LA. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). *Vet Res.* 2005; 36(3):411-436.
4. HERRERA-LEÓN L, POZUELO-DÍAZ R, MOLINA MT, VALVERDE CA, SAIZ VP, JIMÉNEZ PM Aplicación de métodos moleculares para la identificación de las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009;27(9):496–502.
5. ARANAZ A, LIÉBANA E, GÓMEZ-MOMPASO E, GALÁN CJ, COUSINS D, ORTEGA A. *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* subsp. nov: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain .*Int J Syst Bacteriol.*1999; 49: 1263-1273
6. ANDREWS AH, BLOWEY RW, BOYD H, EDDY RG. *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle.* USA: Blackwell Publishing, 2004.
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for speciation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. 2nd ed. Switzerland (Geneva): WHO, 1996.

8. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. Manual sobre animales terrestres. Francia (París): OIE,2004.
9. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Laboratory Methods in Veterinary Mycobacteriology for the isolation and identification of Mycobacteria. United States of América (Iowa): USDA, 1993.
10. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-056-ZOO-1995, Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria. Publicada en DOF 22 de febrero de 1999.
11. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*). PUBLICADA EN DOF 8 DE MARZO 1996.
12. TALBOT AE, WILLIAMS LD, FROTHINGHAM R. PCR Identification of *Mycobacterium bovis* BCG. J Clin Microbiol. 1997; 35 (3): 566-569.
13. FERNÁNDEZ CF. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004; 22(6):355-60.
14. RAMÍREZ CI, SANTILLÁN FM, ARELLANO RB, MORALES AF, TENORIO GV. Detección de secuencias nucleotídicas de *Mycobacterium bovis* a partir de adn de moco nasal de caprinos inoculados experimentalmente. Vet. Méx. 2006: 37 (2) 191-196.
15. POLLOCK JM, NEILL SD. Review *Mycobacterium bovis* Infection and Tuberculosis in Cattle. Vet J 2002; 163 115-127.

16. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA. Actualización en tuberculosis bovina. Argentina (Buenos Aires): SENASA, 2000.
17. GARRO C. MORRIS W. DELGADO F. GARBACCIO S. Tuberculosis bovina en terneros. Vet Arg 28 (276): 2011.
18. THOEN C, LOBUE P, KANTOR I. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. Vet Microbiol 2005; 112 334-345.
19. DORAN P, CARSON J, COSTELLO E AND MORE SJ. An outbreak of tuberculosis affecting cattle and people on an Irish dairy farm, following the consumption of raw milk. Ir Vet Journal. 2009; 62 (6): 390-397.
20. ABDALA A, TARABLA H. Tuberculosis bovina a que nos enfrentamos. Revista Argentina del Tórax. 2007, 15 (8) 13-15.
21. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES AGRÍCOLAS Y PECUARIAS. Situación de la tuberculosis bovina en México, 1990 – 2004. México (Querétaro): INIFAP.
22. SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN. Plan Estratégico de la Campaña Nacional contra la Tuberculosis bovina en México 2008-2012. (D.F): SAGARPA, 2008.
23. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA. Dirección de Campañas Zoonosológicas, Situación Actual de la campaña contra la Tuberculosis Bovina NOM 031-ZOO-1995. [Citado 2011 Jun 9] Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx/?id=1396>

24. MILIAN F, SÁNCHEZ ML, TOLEDO P, RAMÍREZ C, SANTILLÁN FM.
Descriptive Study of Human and Bovine Tuberculosis in Querétaro, México
Rev Latinoam Microbiol 2000; 42 13-19.
25. WORLD HEALTH ORGANIZATION [homepage on the internet].
Programmes and Projects, How many TB cases and deaths are there?:
[cited 2011 Sept 22]. Available from:
http://www.who.int/gho/tb/epidemic/cases_deaths/en/index.html
26. SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NEUMOLOGÍA Y CIRUGÍA TORÁCICA.
[página de internet]. Biblioteca Profesional SEPAR. Normativas [citado
2011 Oct 21]. Disponible en: <http://www.separ.es/biblioteca-1/Biblioteca-para-Profesionales/normativas>.
27. HARRIES AD, DYE C. Tuberculosis, Centennial review. Ann Trop Med
Parasitol. 2006; 100 (5-6): 415-431.
28. GRANGE JM. *Mycobacterium bovis* infection in human beings.
Tuberculosis. 2001;81(1-2):71-77.
29. COSIVI O, GRANGE JM, DABORN CJ, RAVIGLIONE MC, FUJIKURA T,
COUSINS D, ET AL. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in
developing countries. Emerg Infect Dis. 1998; 4(1):59-70.
30. VILLAREAL GJ, AGUILAR VG, LUÉVANO AG. El impacto socioeconómico
de la ganadería lechera en la región lagunera. Revista Mexicana de
Agronegocios 1998, 3 2-24.
31. CUEVAS RV, ESPINOSA GJ, FLORES MA, SANTILLÁN RF, IZQUIERDO
VA, JOLALPA BJ, ET AL. Diagnóstico de la cadena productiva de leche de
vaca en el estado de Hidalgo. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.
2007; 45(1):25-40

32. SECRETARIA DE SALUD. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información [página de internet]. Boletín de Epidemiología. 2010. [Citado 2011 May 15]Disponible en: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/boletin/2010imagen/plantilla/indice-2010.htm>
33. SMITH I. ¿Cuál es la carga económica, social y sanitaria de la tuberculosis?. En: Frieden RT editor. Tuberculosis: Detección de casos, tratamiento y vigilancia. Preguntas y respuestas. Washington D.C: OPS, 2006: 267-271.
34. ORTEGA RJ. El Sistema de Información Geográfica (SIG) y su aplicación en epidemiología veterinaria (tesis de licenciatura). México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2010.
35. LONDOÑO AL, HORFAN AD, ARROYAVE ZJ, LONGAS GD. Sistemas de Información Geográfica (SIG) y Teoría de Percolación Aplicados al Estudio de Fenómenos de Propagación en Epidemiología. Revista Avances en Sistemas e Informática. 2007; 26 (1) 23-32.
36. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. Aplicación de SIG en epidemiología de Fiebre Aftosa en la Argentina. Italia (Roma): FAO, 2005.
37. FERNÁNDEZ-COPPEL IA. Localizaciones Geográficas, las coordenadas geográficas y la proyección UTM (Universal Transversa Mercator). España: Universidad de Valladolid, 2001.
38. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. Análisis de riesgo: Guía Práctica. Francia (París): OIE, 2006.

39. TORRES MX. Modelo de análisis de riesgo de la tuberculosis bovina en establos del complejo agropecuario e industrial de Tizayuca, Hidalgo. (tesis de maestría). México. Universidad Nacional Autónoma de México, 2011.
40. UNIVERSIDAD DE CHILE, FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS. [Página de internet]. Monografías de Medicina Veterinaria. Análisis de riesgo en salud animal: Una herramienta para la toma de decisiones. [Citado 2012 Mayo 24]. Disponible en: <http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/5021/4905>
41. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Francia (París): OIE, 2011.
42. KHARE S, FITCH TA, SANTOS LR, ROMANO J, FITCH RA, ZHANG S. Rapid and Sensitive Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Bovine Milk and Feces by a Combination of Immunomagnetic Bead Separation-Conventional PCR and Real-Time PCR. J Clin Microbiol. 2004; 42 (3):1075-1081.
43. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA. Cuaderno estadístico, Tizayuca Hidalgo. México (Hidalgo): INEGI, 2006.
44. LOBUE PA, BETANCOURT W, COWAN L. Identification of a familial cluster of pulmonary *Mycobacterium bovis* disease. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8 (9): 1142-1146.
45. BESSER RE, PAKIZ B, SCHULTE JM, ALVARADO S, ZELL ER, KENYON TA, ET AL. Risk factors for positive mantoux tuberculin skin tests in

- children in San Diego, California: evidence for boosting and possible foodborne transmission. *Pediatrics*. 2001; 108(2):305-310.
46. DANKNER MW, DAVIS CE. *Mycobacterium bovis* as a Significant Cause of Tuberculosis in Children Residing along the United States Mexico Border in the Baja California Region. *Pediatrics*. 2000;105(6):1-5.
47. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Morbidity and Mortality Weekly Report. Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*-New York City. Centers for Disease Control and Prevention. 2005; 54(24):605-608.
48. HLAVSA CM, MOONAN KP, COWAN SL, NAVIN RT, KAMMERER SJ, MORLOCK PG, ET AL. Human tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in the United States, 1995–2005. *CID*. 2008;47(5):168-175.
49. HARRIS NB, PAYEUR J, BRAVO D, OSORIO R, STUBER T, FARRELL D, ET AL. Recovery of *Mycobacterium bovis* from soft fresh cheese originating in Mexico. *Appl Environ Microbiol*. 2007; 73(3):1025-1028.
50. CASAL J, MATEU E. Tipos de muestreo. *Rev. Epidem. Med. Prev*. 2003;1:3-7

ANEXO 1

Cuestionario epidemiológico



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRICOLAS Y
PECUARIAS

Nota: En los espacios sombreados y en letras cursivas se señalan las instrucciones para el entrevistador.

Presentación: Me llamo (nombre del entrevistador) y estamos trabajando en un proyecto de Investigación para varios Institutos y Universidades del país. Actualmente estamos realizando un estudio sobre los hábitos de la población de Tizayuca, Hidalgo, en cuanto al consumo de leche y queso. Solicitamos su colaboración para contestar un cuestionario. Toda la información que nos proporcione será de carácter confidencial y será usada para fines de investigación.

CUESTIONARIO SOBRE HÁBITOS DE CONSUMO DE LECHE Y QUESO EN LA POBLACIÓN DE TIZAYUCA, HGO.

O. IDENTIFICACION DEL CUESTIONARIO

0.1 Folio del cuestionario	Número de folio: _____
0.2 Fecha de la entrevista	Fecha: /__ / __ / __ / __ / __ / __ / __ / __ / __ / __ / Día Mes Año
0.3 Lugar donde se realiza la entrevista	1. CSA 3. Otro: _____ 2. IMSS

1. DATOS GENERALES DEL ENTREVISTADO

1.1 ¿Cómo se llama?	_____ Apellido Paterno Apellido Materno Nombre (s)		
1.2 ¿Cuántos años tiene?	/__ / __ / __ /	1.3 Género del Entrevistado	0. Mujer 1. Hombre
1.4 ¿Podría decirnos la calle, colonia y municipio donde usted vive?	_____ Calle Colonia _____ Municipio o Localidad Estado		

2. CONSUMO DE LECHE

2.1 ¿Compra leche de vaca para el consumo familiar?	0. NO 1. SI
2.2 ¿De qué marca?	1. Alpura 4. LICONSA/CONASUPO 2. Lala 5. Leche bronca 3. Santa Clara 6. Otra: _____
2.3 ¿En qué sitios la compra?	1. Tienda 3. Supermercado 2. Cremería (Bodega/Soriana)

	4. Lechero/Botero
2.4 ¿Con qué frecuencia compra la leche?	1. Diario 2. _____ veces por semana
2.5 ¿Qué cantidad de leche compra?	_____ Litros de leche
2.6 ¿Quién consume principalmente la leche que compra?	1. Hijos..... Número de hijos _____ Edades _____ 2. Adultos mayores.....Número _____ 3. Otros: _____

3. CONSUMO DE QUESO

3.1 ¿Compra queso para el consumo familiar?	0. NO	1. SI
3.2 ¿Qué tipo de quesos compra?	1. Fresco (panela, canasto, blanco, rancho) 2. Oaxaca 3. Otro tipo: _____	
3.3 ¿De qué marca?	1. Chilchota 2. Duranguense 3. La Villita	4. Duranguense 5. Sello de Oro 6. Otra marca _____
3.4 ¿Qué cantidad de queso compra?	1. ¼ kilo 2. ½ kilo 3. Otra cantidad: _____	
3.5 ¿Con qué frecuencia compra queso?	1. Diario 2. _____ Veces por semana 3. Quincenalmente 4. Mensualmente	
3.6 ¿Quién consume principalmente el queso que compra?	1. Hijos..... Número de hijos _____ Edades _____ 2. Adultos mayores.....Número _____ 3. Otros _____	
3.7 ¿En qué sitios compra el queso?	1. Tianguis 2. Mercado 3. Cremería 4. Tienda de abarrotes 5. Supermercados (Aurrera/ Soriana) 6. Otro: _____	

4. PROMOCIÓN A LA SALUD

4.1 ¿Sabía que por consumir leche bronca o quesos frescos puede contraer enfermedades?	0. NO	1. SI
4.2 ¿Sabe cuáles enfermedades?		
4.3 OBSERVACIONES:		

GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN