



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
"DR. EDUARDO LICEAGA"

**IDENTIFICACIÓN DE *MICOBACTERIUM BOVIS* EN PACIENTES CON
SEROSITIS TUBERCULOSA, EN EL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO,
DURANTE EL PERIODO DEL 2010 AL 2015.**

TESIS DE ESPECIALIDAD

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN NEUMOLOGIA

PRESENTA

DR. PEDRO DANIEL LANDA ALVARADO
Médico Residente de Tercer Año de Neumología

DIRECTOR DE TESIS

DR. ALEJANDRO HERNANDEZ SOLIS
Coordinador de Investigación del servicio de neumología
Sistema Nacional de Investigadores SNI I

CIUDAD DE MEXICO AGOSTO 2017



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.

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO
“DR. EDUARDO LICEAGA”
Distrito Federal

Dr. Carlos Núñez Pérez Redondo
Jefe Servicio de Neumología
Profesor Titular

Dr. Alejandro Hernández Solís
Director de Tesis
Coordinador de Investigación
Sistema Nacional de Investigadores SNI I

Dr. Raúl Cícero Sabido
Asesor de Tesis
Sistema Nacional de Investigadores SNI III

Este trabajo fue realizado en el Servicio de Neumología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, bajo la dirección del Dr. Alejandro Hernández Solís, y el apoyo administrativo del Dr. Carlos Núñez Pérez Redondo, Jefe del Servicio de Neumología.

AGRADECIMIENTO

Santiago y Sofía

La mayor de las palabras será insuficiente para agradecer, la tolerancia, el apoyo, así como la mínima palabra de aliento, el cual es una deuda que tendré el gusto de pagar toda una vida, y termina con un suspiro.

GRACIAS.

KGEA

INDICE

I. RESUMEN	6
II. ANTECEDENTES	8
III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
IV JUSTIFICACIÓN.....	22
V HIPÓTESIS.....	23
VI OBJETIVO GENERAL	23
VII OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
VIII METODOLOGÍA	24
Estudio.....	24
Criterios de selección	24
Cuadro de Variables	25
Consideraciones éticas.....	26
Análisis estadístico	26
IX RESULTADOS.....	27
X DISCUSIÓN	32
XI CONCLUSIONES	33

I. RESUMEN

Introducción. La tuberculosis es una enfermedad reemergente y un problema de salud causado por los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC). Incluye patógenos bien conocidos, como *Mycobacterium Bovis*, la serositis tuberculosa, es una forma extrapulmonar, con mayor auge, la identificación de *M bovis* es de vital importancia por su resistencia a la pirazinamina y su mayor duración al tratamiento

Objetivo. Determinar la prevalencia de las infecciones producidas por *Micobacterium bovis* en serosas de pacientes del Hospital General de México durante el periodo del 2010 al 2015.

Metodología. Estudio descriptivo, retrospectivo, analítico: Las variables demográficas se resumirán con estadística descriptiva, en variables continuas como media y desviación estándar, en variables dicotómicas y ordinales como porcentajes.

Resultados. Se encontró en el estudio durante el periodo de encontraron en 58 casos se confirmó *M. tuberculosis* por cultivo positivo, con un crecimiento de 38 días en promedio, (34 Tb meníngea, 14 Tb pleural, ocho Tb peritoneal y dos casos de Tb pericárdica. Se identificaron de estos casos 12 casos positivos con método de PCR punto fina se determino *Micobacterium tuberculosis* es el mas frecuente con 31% continuando con *Micobacterium bovis* con 20.68%,

Conclusiones. En nuestro hospital la causa mas frecuente de serosistis tuberculosa es por *Micobacterium tuberculosis* hasta en un 30%, sin embargo se observa una alta proporción de casos de *Micobacterium bovis* (20%).

No se observo una mayor tendencia de los casos de serositis por sexo, teniendo una distribución igual del 50%.

La serosa mayormente infectada en nuestro medio por *Micobacterium bovis* en un 75% de los casos fue meníngea

Palabras clave. serositis, *Micobacterium bovis*, México.

SUMMARY

Introduction. Tuberculosis is a reemerging disease and a health problem caused by members of the Mycobacterium tuberculosis (TBM) complex. It includes well-known pathogens such as Mycobacterium Bovis, tuberculous serositis, is an extrapulmonary form, with greater boom, identification of M bovis is of vital importance for its resistance to pyrazinamine and its longer duration to treatment

Objective. To determine the prevalence of infections caused by Micobacterium bovis in serous patients of the General Hospital of Mexico during the period from 2010 to 2015.

Methodology. Descriptive, retrospective, analytical study: The demographic variables will be summarized with descriptive statistics, in continuous variables as mean and standard deviation, in dichotomous and ordinal variables as percentages.

Results. It was found in the study during the finding period in 58 cases, M. tuberculosis was confirmed by positive culture, with an average growth of 38 days (34 Tb meningeal, 14 Tb pleural, 8 Tb peritoneal and 2 cases of Tb pericardium. Twelve positive cases were identified with a PCR method. Thin point was determined. Mycobacterium tuberculosis is the most frequent with 31% continuing with Mycobacterium bovis with 20.68%

Conclusions. In our hospital the most frequent cause of tuberculosis serositis is by Micobacterium tuberculosis up to 30%, however a high proportion of cases of Mycobacterium bovis (20%) are observed.

There was no greater trend in cases of serositis by sex, with a distribution equal to 50%. The serosa mostly infected in our environment by Mycobacterium bovis in 75% of the cases was meningeal

Keywords. Serositis, Micobacteirum bovis, Mexico.

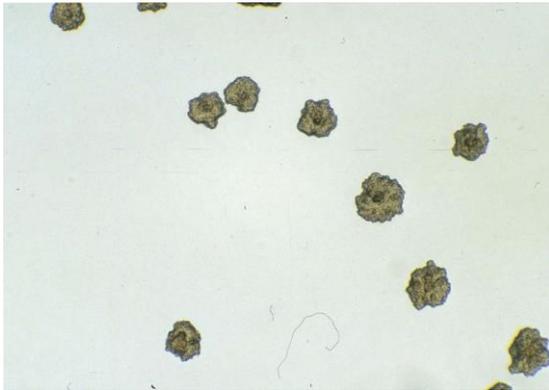
II. ANTECEDENTES

La tuberculosis (TB) es una enfermedad reemergente y un problema de salud causado por los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC). Este grupo de organismos incluye patógenos bien conocidos, como *Mycobacterium Tuberculosis*, *Mycobacterium africanum* y *Mycobacterium Bovis* (incluido *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin* [BCG], la cepa de la vacuna), junto con Otras especies menos comunes. La infección por *M. bovis* se transmite al ganado principalmente a través de la inhalación de aerosoles infecciosos, ya sea un animal tosiendo o estornudando con TB o Partículas de polvo infectadas. La transmisión de aerosoles es efectiva sólo en distancias cortas, y gotas infectadas y las partículas pueden estar constantemente

Species	Human pathogen	Year of description
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Frequent	1883
<i>Mycobacterium bovis</i>	Frequent	1907
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	Rare	NA ^c
<i>Mycobacterium africanum</i>	Frequent	1969
<i>Mycobacterium caprae</i>	Occasional ^p	2003
<i>Mycobacterium microti</i>	Rare	1957
<i>Mycobacterium pinnipedii</i>	No ^p	2003
<i>Mycobacterium mungi</i>	No	2010 ^c
<i>Mycobacterium suricattae</i>	No	2013 ^q
<i>Mycobacterium orygis</i>	Rare	2012 ^c
<i>"Mycobacterium canettii"</i>	Rare	NA ^c

presentes en el aire, puede presentar un riesgo tanto para los animales susceptibles y granjeros. Las infecciones micobacterianas fuera del sistema respiratorio, o TB extrapulmonar, están documentadas pero a menudo no declarado. Se cree que *M. bovis* es responsable de 5 a 10% de todas las

infecciones tuberculosas. En *M. Bovis* es un agente más comúnmente asociado con TB no pulmonar. La proporción global de *M. bovis* es mayor entre los pacientes con enfermedad TB extrapulmonar probablemente porque el patógeno es frecuentemente adquiridos por vía oral, y enfermedad gastrointestinal



M. bovis también puede causar enfermedad extrapulmonar en el espacio pleural, los ganglios linfático, las articulaciones, los ojos, la piel y el sistema nervioso central. Se ha estimado que la afectación musculoesquelética representa 10 a 15% de todos los casos

extrapulmonares.

Al igual que con *M. tuberculosis*, no todos los infectados de *M. bovis* desarrolla TB activa, y los pacientes con VIH y aquellos que utilizan drogas inmunobiológicas son más propensos a infección¹.

En México se registraron en 21881 casos nuevos de tuberculosis en todas sus formas, la mas frecuente con 80.7% casos fueron pulmonar, la meníngea 1.6%. EL 21.2% de los casos se relaciono con diabetes mellitus².

Mundialmente en 2015 hubo 149000 nuevos casos en humanos de Tuberculosis zoonotica, de las cuales se adjudico 13400 muertes³.

Mycobacterium bovis son bacilos Gram positivos de 0.2-0.7 x 1-10 micras, curvados, aerobios estrictos, reservorio en bovinos, con una dosis infectiva minima de < 10 bacilos por inhalación. La transmisión es principalmente por la ingesta de de productos lacteos sin pasteurizar⁴.

La zoonosis causada por *M. bovis* en países desarrollados se considera ahora una enfermedad esporádica. El control de la enfermedad en el ganado y la

pasteurización de los productos lácteos se hicieron extensamente practicados. Sin embargo, hay un aumento en el número de casos de tuberculosis causados por *M. bovis* en algunas regiones de los Estados Unidos de América y ha sido atribuido a poblaciones migrantes de bajos recursos (especialmente de México), y en la mayoría casos, asociados al consumo de productos lácteos no pasteurizados.

La mayoría de los casos humanos de contagio por contacto de animales infectados, que ocurren entre veterinarios, trabajadores del zoológico, cazadores, trabajadores de los mataderos y trabajadores de las explotaciones lecheras (DFW) en los países desarrollados, pero la situación en los países de bajos y medios recursos, donde la enfermedad en el ganado es pobre y la interfaz hombre-ganado es más probable que ocurra, sigue siendo poco documentado. La Organización Mundial de la Salud recomienda la recopilación de datos epidemiológicos sobre Tuberculosis debida a *M. bovis* especialmente en estas regiones.

Las prevalencia de TB bovina es del 1% a nivel mundial. Estimamos el nivel de infección por *M. bovis* entre los 29.000 bovinos de la realización de necropsias y cultivo de micobacterias. *M. bovis* fue confirmado en 154/1561 (9,8%) bovinos. Consideramos que la verdadera frecuencia de infección por *M. bovis* entre los bovinos se aproxima al 34,4%. Tuberculosis fue encontrada entre DFW sólo un caso pudimos vincularnos al lugar de trabajo a través de Spoligotyping. Ambos casos fueron causados por *M. bovis*, que menos del 4% de los casos de tuberculosis pulmonar en la población y contribuye con menos del 2% del total de la carga. Por lo tanto, consideramos que lo más probable es que la prevalencia De la tuberculosis activa en esta población de estudio es mucho mayor que la prevalencia reportada en México 18,1 casos / 100.000 habitantes⁵.

En Túnez, se sabe que este país tiene una prevalencia relativamente alta de casos de TB. Con una nrevalencia de *M. Bovis* (76%) como Agente causal de la linfadenitis tuberculosis en el norte de Túnez evaluando sólo el cultivo de

linfa positiva no de muestras por métodos convencionales clásicos. En el sur de Túnez, la contribución

El estudio actual amplía los reportados por Ghariani et al y también podría demostrar *M. bovis* identificación en el 77.1% de las muestras extrapulmonares en la ocurrencia de la infección por linfadenitis de hecho, *M. tuberculosis* se detectó en el 21,6% de los casos. Sin embargo, *M. bovis*, el agente de TB, puede considerarse una causa potencial de casos humanos, especialmente en los países en desarrollo.

Los productos lácteos, así como la ingestión de leche están disminuyendo constantemente. De hecho, los pequeños rebaños de ganado eran dominantes en el sector privado representando el 70% de ganado vacuno que plantea muchos desafíos para el control y la prevención de la medicina veterinaria. Los datos de un único tubo tetra-plex qPCR ensayo para la detección y diferenciación de especies de MTBC. Como resultado de esta minuciosa evaluación, MTBC ± RD qPCR se demostró ser un ensayo rápido y sensible para detectar simultáneamente la TB y diferenciar miembros del MTBC en muestras extrapulmonares⁶.

La mayoría de los rebaños de ganado en América Latina se encuentran en zonas donde aún se informan casos de tuberculosis. Los datos indican que la importancia de la infección por *M. bovis* como causa de TB en humanos continúa siendo menor que por *M. tuberculosis* en los países estudiados; no se han observado incrementos en la tasa de infección por *M. bovis* en los últimos años. No obstante, en varios países se confirmaron casos de TB provocados por esta micobacteria en humanos. Las principales medidas para el control, eliminación y posible erradicación de esta infección en humanos continúan siendo la higienización de los alimentos, la pasteurización de la leche, el control sanitario, la vigilancia epidemiológica y el tratamiento adecuado de los pacientes⁷.

Se ha determinado con anterioridad que los miembros del complejo *M. tuberculosis* no intercambian material genético entre sí y que la escasa

variabilidad genética observada es más bien consecuencia de una expansión clonal, un hecho confirmado por la regionalización de algunos genotipos. Esto apoya la conclusión de que los genotipos (espoligotipos) de *M. bovis* obtenidos de seres humanos en el presente estudio son consecuencia de infecciones obtenidas del ganado localizado en la misma región, lo cual se sustenta por la similitud de algunos de los patrones observados entre ambas especies. La mayor parte de los informes sobre cálculos de infección con *M. bovis* en personas se efectúa con base en el número de aislamientos; en este estudio de 20 aislados, ocho mostraron un patrón consistente con *M. bovis*, lo que sugiere que alrededor de 40% de los casos de TB podría atribuirse a la micobacteria del ganado; estudios previos han notificado hallazgos similares, en los cuales la presencia de *M. bovis* en pacientes con problemas respiratorios crónicos fue de 31% para la misma región, además de que se detectaron tres casos de infección concurrente de *M. bovis* y *M. tuberculosis*. En países con alta prevalencia de *M. bovis* en ganado se han obtenido resultados similares; en Malawi, un análisis de cultivos de muestras humanas de esputo reveló 42.8% de cepas de *M. bovis*; en Egipto, 9 (45%) de 20 pacientes seleccionados al azar con peritonitis estuvieron infectados con *M. bovis*. En México, los informes oficiales indican que cerca de 30% de la leche que se produce en el país se vende en la forma de leche cruda, una parte de la cual se destina a la producción de queso fresco, el cual se expende en mercados populares. Este producto se ha relacionado con un brote de TB en niños de origen mexicano en Nueva York y se ha confirmado el aislamiento de *M. bovis* a partir de dicho producto. De igual manera, estudios conducidos en el sur de Estados Unidos de América han encontrado que la mayor parte de los casos de tuberculosis por *M. bovis* ocurre en personas de origen hispano, sobre todo de procedencia mexicana, y señalan el contacto con explotaciones animales y la ingestión de leche cruda y queso fresco como los factores causantes. Una situación similar se reconoció en un estudio en Denver, Colorado. Los resultados del presente protocolo, aunados a estos informes, son una clara indicación del elevado riesgo que la tuberculosis bovina representa para la salud pública, por lo que es necesario que se destinen

mayores recursos y se hagan los esfuerzos necesarios para que se erradique la tuberculosis del ganado en México⁸.

La detección de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de esputo en sospechosos de tuberculosis pulmonar (TB) ha sido significativamente mejorado por el Xpert MTB / RIF. Este sistema automatizado emplea PCR en tiempo real y sondas para determinar la presencia de ADN complejo de *M. tuberculosis*, así como el gen *rpoB* y mutaciones que confieren resistencia a la rifampicina, con rapidez y exactitud. Se encontró una precisión diagnóstica con muestras de biopsia pleural, seguido de valores de ADA del líquido pleural de mayores 50 U / litro, esputo con baciloscopia, cultivo de líquido pleural y análisis de Xpert MTB. La sensibilidad relativamente baja del ensayo de Xpert MTB contrasta con los informes recientes de regiones con una prevalencia baja de TB. Uso del ensayo Xpert MTB en muestras de líquido pleural es factible pero tiene una sensibilidad vinculado a un cultivo líquido pleural positivo. Hay una indicación por su alta especificidad, que debe ser verificada con estudios más amplios, incluyendo más pacientes con derrame pleural debido a otras causas que TB pleural⁹.

El protocolo basado en la detección del antígeno micobacteriano de 65 kD y por lo tanto que podría haber contenido una cantidad relativamente número de micobacterias, también contenía un porcentaje de neutrófilos. Las muestras que fueron siempre positivo con el protocolo basado en el detección de la secuencia de inserción I S6110. Más neutrófilos que la muestras fueron intermitentemente positivo o siempre negativo. Las cuatro muestras que contenían menos del 1% de neutrófilos siempre fueron negativas cuando se presencia de ADN micobacteriano. Estos resultados son compatibles con la posibilidad de que un número de neutrófilos presentes en una muestra puede reflejar el número de *Micobacterias* presentes, una constatación que podría explicarse la quimiotaxis de los neutrófilos hacia productos liberado por las micobacterias extracelulares. La variabilidad sustancial en el número de neutrófilos (Y micobacterias) presentes en estos fluidos podrían reflejar

variaciones en el tiempo entre el inicio del derrame tuberculoso y la diferencias en la patogénesis de tuberculosis en estos pacientes

Si los neutrófilos presentes en los derrames activamente fagocitar las Micobacterias en el líquido pleural, el aislamiento de neutrófilos de estas muestras de fluidos podría medios convenientes de enriquecer la proporción de ADN micobacteriano presente en una muestra. Esto puede ser particularmente útil para muestras que contienen pocos neutrófilos. Como el procedimiento de amplificación está limitado de cantidad de ADN total que se puede evaluar, enriquecimiento de células que contienen Micobacterias antes de que la extracción de ADN pudiera mejorar, la sensibilidad de la prueba para estas dificultades de la muestras.

La amplificación del elemento de inserción IS6110 permitió la detección de ADN micobacteriano en nueve de 15 pacientes con derrame tuberculoso. Promover estudios están claramente justificados para definir de esta prueba en la evaluación de los pacientes¹⁰.

El uso del ensayo Xpert en las muestras de líquido pleural es factible pero tiene baja sensibilidad y es vinculado a un cultivo líquido pleural positivo. Hay una indicación por su alta especificidad, que debe ser verificada con estudios más amplios¹¹.

Se estima que el sistema nervioso central (SNC) está involucrado en el 5-10% de los casos extrapulmonares de infección por micobacterias, representando el 1,3% del número total de el diagnóstico de la tuberculosis del SNC es desafiante, sobre todo porque los síntomas iniciales pueden ser idénticos a meningitis bacteriana o viral. Como resultado, la mayoría de los pacientes reciben múltiples tratamientos incorrectos, puede mejorar los síntomas temporales, pero alarga el tiempo para el diagnóstico y empeora el pronóstico.

La mayoría de las complicaciones de la tuberculosis del SNC puede atribuirse al resultado directo de un retraso en el diagnóstico, con un riesgo estimado de 3.7 de un resultado fatal cuando el tratamiento se inicia después de 5 días del inicio de los síntomas. Más importante aún, *M. bovis* se asoció con un pronóstico peor, incluyendo la presencia de tuberculomas, la necesidad de neurocirugía y una mayor frecuencia de secuelas neurológicas. La asociación de un peor pronóstico subraya la importancia de clasificar más a fondo la subespecie en todos los pacientes con un cultivo positivo para *M. tuberculosis*, especialmente en pacientes que no hay mejoría a pesar del tratamiento. Existe la posibilidad de que estas especies difieran en sus mecanismos de la respuesta inmune o que la patogénesis es diferente.

Las manifestaciones neurológicas de infección por *M. tuberculosis* ocurrieron O simultánea al inicio de la enfermedad sistémica. La determinación Adenosina desaminasa en LCR fue un método más sensible para el diagnóstico precoz de PCR para *M. tuberculosis*.

El aislamiento de la subespecie de *M. bovis* se asoció con peor pronóstico. Iniciar el tratamiento empírico con antibióticos para la sospecha de meningitis bacteriana fue la causa principal del retraso en el inicio del tratamiento antituberculoso y, en consecuencia, para un mal resultado¹².

La enfermedad causada por *M. bovis* o *M. tuberculosis* es considerada clínicamente y radiológicamente indistinguibles entre sí. Sin embargo, *M. bovis* es naturalmente Resistente a la pirazinamida, componente esencial del tratamiento de primera línea anti-tuberculosis. Por lo tanto, la pronta identificación del agente causal puede tener importantes implicaciones para los resultados de los pacientes.

Los informes recientes subrayan la importancia de la epidemiología de la enfermedad de *M. bovis*. Edad, coinfección por VIH y otras condiciones inmunosupresoras. Son algunos de los factores asociados asociados. Denota, una conexión con México (país de nacimiento, contacto con los miembros de la

familia o Productos lácteos no pasteurizados) ha sido el factor de riesgo en la investigación llevada a cabo en estados

Se ha encontrado una mayor proporción de *M. bovis* en estudios similares basados en hospitales. Anteriormente informamos se informa una tendencia al levantamiento en la proporción de *M. bovis* aislados a través del tiempo. Esto puede atribuirse a una proporción más alta de inmunosuprimidos población, junto con el mal control de *M bovis* en la región, especialmente entre las explotaciones lecheras y los productos al por menor.

Los casos de *M. bovis* fueron significativamente en pacientes más jóvenes; esto fue cierto para todas las presentaciones clínicas incluso después con las comorbilidades que pueden presentarse en poblaciones más jóvenes como las enfermedades como neoplasias malignas hematológicas. Sin embargo, también es posible que el consumo no pasteurizado de productos lácteos puede ser más frecuente a edades más tempranas; además hay un creciente numero de pacientes que reciben glucocorticoides en el año previo al diagnóstico de TB; Los glucocorticoides modifican la respuesta celular, un componente para la contención de la infección tuberculosa, y han sido previamente descritos como un factor de riesgo para la enfermedad reactivación. En conclusión, la edad más temprana, el uso de glucocorticoides y la asociación extrapulmonar se relacionaron con la enfermedad de *M. bovis*. entre los pacientes de un hospital de atención terciaria, mientras que el nivel socioeconómico se asoció con *M. tuberculosis* enfermedad en este mismo grupo. Estas diferencias demuestran que, aunque se consideran micobacterias muy estrechamente relacionadas son especies con presentaciones clínicas indistinguibles, los médicos deben ser conscientes de la posibilidad de que *M. bovis* la presencia de estas características en contextos similares, especialmente porque puede ser necesario ajustar la longitud del tratamiento en la ausencia de actividad pirazinamida. Sin embargo, estudios en la población general con un seguimiento adecuado son necesarios para generalizar estos hallazgos y definir los factores asociados para la enfermedad de *M. bovis*¹³.

Según lo recomendado por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos, a *M. bovis* por lo general consiste en rifampicina, isoniazida y etambutol. La duración del tratamiento se ha extendido a 9 meses debido a la exclusión de la pirazinamida, ya que todas las cepas de *M. bovis* son resistentes a ella. En las últimas dos décadas, mientras que varias revisiones han investigado la epidemiología de *M. bovis* en los seres humanos. De las limitaciones, la más importante de las cuales es que sólo tres estudios podrían ser Identificado para esta revisión, lo que refleja la rareza de esta condición, al menos en los lugares donde la prueba de *M. bovis* se realiza rutinariamente. Las diferencias en el régimen y la duración de los mismos, permite sólo una simple comparación de las tasas. Fluoroquinolonas se utilizaron en un solo estudio (MAJOOR et al) y sólo para un pequeño número de pacientes, lo que nos impide estimar los resultados con estos agentes. La gran proporción de pacientes tratados por enfermedad extrapulmonar significó que se evaluara la terminación del tratamiento, en lugar de curar, se midió en la mayoría de los pacientes; Esto puede haber resultado en un Sobreestimación de la tasa de éxito del tratamiento. Una limitación adicional fue que algunos pacientes eran resistentes a los fármacos, lo que podría haber dado lugar a mayores tasas de fracaso y mortalidad. La coinfección por VIH también ha contribuido a las mayores tasas de mortalidad, agravando las limitaciones en la interpretación de tratamiento con diferentes regímenes de tratamiento.

En resumen, hay muy pocas pruebas que respalden las recomendaciones actuales para el tratamiento para enfermedad de *M. bovis*. Sin embargo, estos datos limitados sugieren que los regímenes de isoniazida-rifampicina actualmente utilizados o isoniazida-rifampicina-etambutol son adecuados, aunque el beneficio obtenido por la adición de etambutol a Isoniazida-rifampicina no está claro. No hubo datos suficientes para apoyar una duración más corta del tratamiento de <9 meses. Aunque sería mejor recibir mejores pruebas para informar las recomendaciones de tratamiento para *M. bovis*, la mayor prioridad en la investigación sería corregir la escasez de datos

epidemiológicos para definir la importancia de *M. bovis* como causa de la enfermedad humana¹⁴.

El aislamiento y el cultivo de *M. bovis* sólo pueden realizarse en un laboratorio de bioseguridad porque es un agente zoonótico peligroso. Algunos laboratorios del país realizan este diagnóstico bacteriológico, pero no hay consenso acerca de la mejor combinación de descontaminante-medio para utilizar en muestras brasileñas. Se sabe que el tipo de descontaminante y la elección de los medios utilizados afecta el éxito del aislamiento primario. La combinación de medio y descontaminante debe considerarse en el aislamiento primario de *M. bovis*. En resumen, hemos demostrado que el uso de H₂SO₄ 5% con Middlebrook 7H11 formulado con OADC suplemento "B" de incubación de hasta seis Semanas resultó en la mayor probabilidad de aislar con éxito *M. bovis* de lesiones bovina sugestivas en el menor tiempo posible. Sin embargo, cuando los recursos son limitados, se pueden considerar algunos criterios para elegir la combinación descontaminante-medio. Si el criterio de elección es el número de muestras positivas detectadas, es posible optar por medios de cultivo más baratos como medio SB o B83 después de la descontaminación de las muestras con H₂SO₄, NaOH o HPC. Si es más importante un diagnóstico más rápido de lo que es necesario optar por el medio 7H11B después Descontaminación con H₂SO₄ o NaOH, que fueron las combinaciones que proporcionaron mayor precocidad de aislamiento. Si el número de colonias recuperadas tiene alguna importancia para el diagnóstico, especialmente cuando se sospecha una concentración baja de bacilos en la muestra, entonces el medio Middlebrook7H11B después de la descontaminación de la muestra con H₂SO₄ al 5% (concentración final) podría ser la elección¹⁵.

La identificación molecular de aislados del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) procedentes de la provincia de Kermanshah, Irán, que fueron sometidos al Laboratorio en el Instituto de Investigación de Vacunas y Sueros Razi (Teherán, Irán). Identificar el género *Mycobacterium*, todos los aislamientos fueron sometidos a 16S rRNA reacción en cadena de la

polimerasa (PCR), y posteriormente se utilizó PCR-IS6110 para confirmar que los aislados pertenecían al complejo de MTB. Por último, la tipificación de la región de diferencia (RD) se utilizó para identificar las especies en el complejo. Los resultados de 16S rRNA y IS6110 PCR análisis mostró la presencia de 543-bp y 245-bp Bandas, respectivamente. Además, 146 pb, 172 pb, 235 pb y 369 pb en RD1, RD4, RD9 y RD12, respectivamente, se observaron durante el Rtyping. Por lo tanto, en base a los resultados, todos los aislados fueron Identificado como MTB. Cabe señalar que la mayoría de los casos de tuberculosis se identifican base de la detección de bacilos ácido-rápido, y la terapia antibiótica se inicia inmediatamente después. Además, cabe señalar que algunos de estos casos positivos de ácido a ser del género Mycobacterium, y por lo tanto, los antibióticos prescritos podrían amenazar a los pacientes. Sin embargo, Mycobacterium bovis, que es un complejo de MTB y es resistente a la pirazinamida, requiere una identificación exacta de la cepa. Basándose en los hallazgos, los aislados individuales deberían identificarse mediante métodos de tipificación RD, lo que podría discriminar claramente de cada uno¹⁶.

El análisis proteómico para comparar las alteraciones de la proteína celular total inducida por infecciones virulentas de M. bovis. como el adaptador lisosómico LAMTOR2 podría ser un objetivo potencial para el tráfico de endosomas de M. bovis. El MTHFD2, VPS26A, y TBC1D9B las proteínas exclusivamente inducidas por infecciones virulentas de M. bovis revelan nuevos biomarcadores, que son también críticos en el ganado, la transmisión humana y el diagnóstico de TB. Aunque nuestras pruebas no tienen pruebas inmediatas para elucidar el mecanismo de cómo M. bovis interactúa con el huésped, representan la prueba de concepto de que el virulento M. bovis Inducirá células humanas con un proteoma característico. Entre estos patógenos micobacterianos comunes, seguiremos con la necesidad de explorar molecularmente el patógeno huésped-paisaje, Identificar moléculas con función anti-TB, y determinar la significancia tratar clínicamente con base en la

percepción obtenida de interacciones patógeno-huésped tanto a nivel global como a otro nivel¹⁷.

III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En infecciones por Micobacterias la etiología mas frecuente es el complejo micobacterium tuberculosis, cada vez se agregan mas especies a este complejo. Las infecciones extrapulmonares como las serositis, son paucibacilares, con un comportamiento clínico diferente, por lo que dificultan su diagnostico. *Micobacterium bovis* produce una zoonosis creciente en el mundo que afecta a los humanos cada vez mas, por lo que su identificación, conlleva una importancia epidemiológica, lo que podría generar estrategias de prevención y manejo.

IV JUSTIFICACIÓN

Se desconocen actualmente los datos epidemiológicos en el hospital general de México sobre *Micobacterium bovis* como causa etiológica de serositis de origen tuberculoso.

V HIPÓTESIS

Este es un transversal por lo que no se cuenta con una hipótesis.

VI OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de las infecciones producidas por *Micobacterium bovis* en serosas de pacientes del Hospital General de México durante el periodo del 2010 al 2015.

VII OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la tasa de infecciones por *Micobacterium bovis*, por tipo de serosa (meníngea, pleural, peritoneal, y sinovial)
2. Determinar la tasa de infecciones por *Micobacterium bovis*, por genero.

VIII METODOLOGÍA

Estudio

- **Estudio descriptivo, retrospectivo, analítico:** Las variables demográficas se resumirán con estadística descriptiva, en variables continuas como media y desviación estándar, en variables dicotómicas y ordinales como porcentajes.
- **Tamaño de la muestra:** Se tomara como universo todos los expedientes de pacientes los cuales tengan diagnostico de infecciones por micobacterium diagnosticados en el Hospital General de México durante el periodo del 2010 al 2015.

Criterios de selección

1. De inclusión

- Pacientes adultos, mayores de 18 años
- De cualquier género
- Con diagnóstico de serositis tuberculosa
- Expedientes los cuales se le haya realizado PCR spoliotipos para determinación de *Micobacterium bovis*

2. De no inclusión

- Expedientes de pacientes los cuales se hay descartado el diagnostico de serositis tuberculosa.

3. De eliminación

- Expedientes incompletos o mal llenados.

Cuadro de Variables

OBJETIVO GENERAL: Identificación de <i>Micobacterium bovis</i> en serositis tuberculosa en pacientes del Hospital General de México, durante el periodo del 2010 al 2015					
Variable	Tipo de variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicador
Infección por <i>Micobacterium bovis</i> ,	Cualitativa Dicotómica	Proceso infeccioso producido por la cepa de <i>Micobacterium bovis</i> en serositis tuberculosa, identificada por el método de PCR por spoligotipos	Todas las muestras que resulten positivas por PCR	Presencia de la micobacteria	Si No

La identificación de PCR pos spoligotipos se realizó de la siguiente manera:

Un ml de cada muestra se concentró por centrifugación a 9200 rpm durante 10 min, el sedimento se resuspendió en 200 µl de regulador TE 1X (1mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA). La extracción de DNA se realizó utilizando el estuche QIAamp® DNA Blood Mini kit (Qiagen Inc., Valencia, CA) donde se adicionaron 30 µl de proteinasa K (20mg/ml) y 200 µl de regulador AL e incubaron a 60°C durante 30 min en la etapa de lisis, la elución del DNA se hizo con 60 µl de regulador AE. La PCR fue desarrollada en el InDRE para un producto de amplificación 140 pb correspondiente a la secuencia de inserción *IS6110* característica del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Los iniciadores empleados fueron IS6110F (5'-GGATCCGCCAGCCCAGGATCCTGCG-3') y IS6110R (5'-AGGTGCGGACCACCAGCACCTAACC-3'). La mezcla de reacción se hizo en un volumen de 50 µl, la cual contenía 10mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl₂, 50 mM, KCl (pH 8.3), 1 U Taq polimerase, 2 mM de una mezcla de dNTP (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania), 0.2 mM de cada iniciador y 3 µl de DNA. Las condiciones de reacción fueron: 1 ciclo de 1 min a

94°C, seguido de 45 ciclos de 15 s a 94°C, 50 s a 70°C y un ciclo de 7 min a 72°C.

Consideraciones éticas

Ninguna en particular ya que se trabaja con expedientes clínicos.

Análisis estadístico

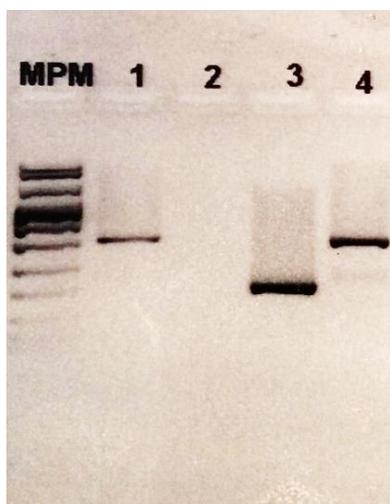
Se utilizará el programa SPSS para el análisis estadístico. Se realizará estadística descriptiva con frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas nominales; para las variables cuantitativas se utilizará la media, desviación estándar, mínimo y máximo..

IX RESULTADOS

Se encontró en el estudio durante el periodo de encontraron en 58 casos se confirmó *M. tuberculosis* por cultivo positivo, con un crecimiento de 38 días en promedio, (34 Tb meníngea, 14 Tb pleural, ocho Tb peritoneal y dos casos de Tb pericárdica) (tabla 1).

Tabla 1. Serosa afectada

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido Ascitis	8	13.79	13.79	13.79
LCR	34	58.62	58.62	72.41
Líquido Pleural	14	24.13	24.13	96.54
Pericardica	2	3.46	13.46	100
Total	58	100.0	100.0	



Se identificaron de estos casos 12 casos positivos con método de PCR punto final para *Micobacterium bovis*, basado en la presencia de RD1 y Ext-RD9 y la ausencia de RD4, RD9 y RD12 marcadores, resultando en Un 100% de concordancia entre ambos métodos.

Figure.1: 2.5% Agarose gel

Linea MPM: Molecular weight marker V (ROCHE)

Linea 1: Positive control H37 Rv

Linea 2: Negative control of PCR

Linea 3: *M. tuberculosis* 338 bp

Linea 4: *M. bovis* 208 bp

(Figura 2). de los cuales se encontró una distribución del 50% tanto en hombres como mujeres.

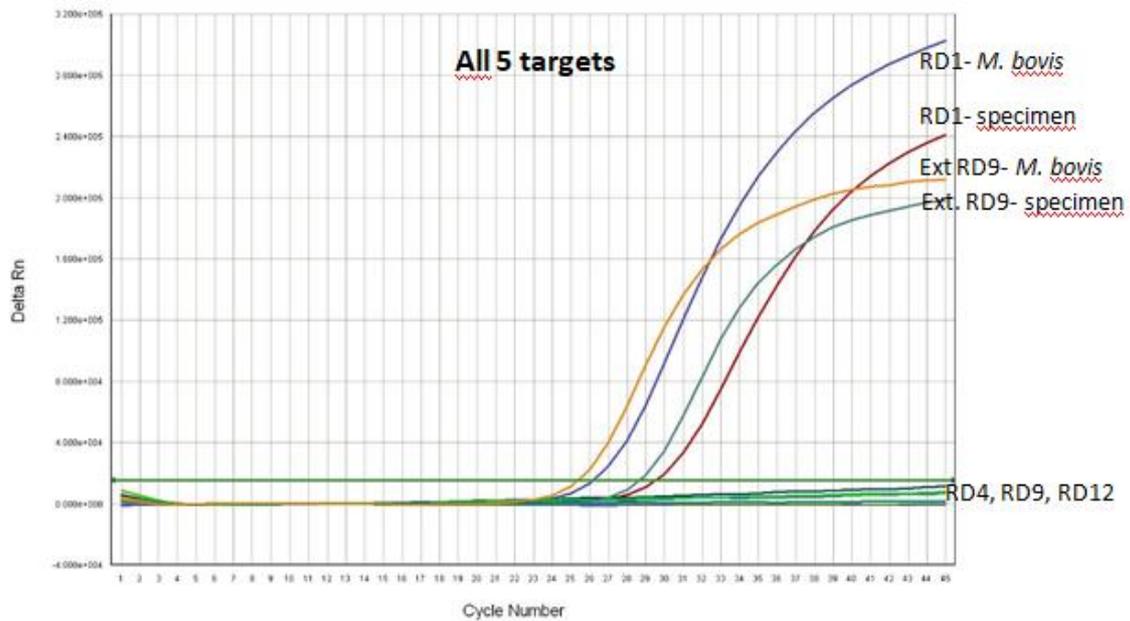


FIG. 2. Amplification plots depicting five molecular markers (RD1, RD4, RD9, RD12 and Ext. RD9) used in differentiation of species of MTBC by real-time PCR.

Tabla 2. Distribución por sexo con *Micobacterium bovis*

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	F	6	50.0	50.0	50.0
	M	6	50.0	50.0	100.0
	Total	12	100.0	100.0	

Dentro de las micobacterias encontradas se determino *Micobacterium tuberculosis* es el mas frecuente con 31% continuando con *Micobacterium bovis* con 20.68%, otro gran porcentaje de los casos no se realizo identificación (31.03%) de la cepa o no se realizo (17.24%).
Tabla 3, grafico 2

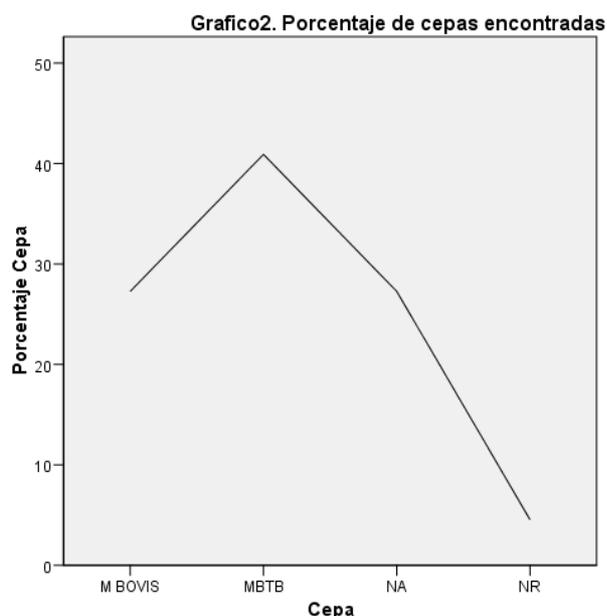


Tabla 3. Cepas encontradas en serosas

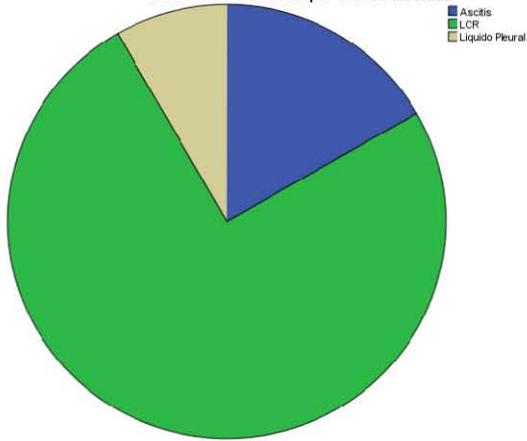
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	M BOVIS	12	20.68	20.68	20.68
	MBTB	18	31.03	31.03	51.71
	NA	18	31.03	31.03	82.74
	NR	10	17.24	17.24	100.0
	Total	58	100.0	100.0	

En cuanto a la serosa afectada se determino que le sitio con mayor frecuencia para micobacterium bovis fue en meninges, encontrando en 9 ocasiones, ascitis 2 y liquido pleural tan solo un caso (tabla 4).

Tabla 4. *Micobacterium bovis* encontrada por tipo de serosa

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	Ascitis	2	16.7	16.7	16.7
	LCR	9	75.0	75.0	91.7
	Liquido Pleural	1	8.3	8.3	100.0
	Total	12	100.0	100.0	

Grafico 1. Distribucion por serosa afectada



X DISCUSIÓN

La serositis tuberculosa es una infección extrapulmonar provocada por Micobacterias, lo cual si bien los reportes indican una prevalencia de TB bovina es del 1% a nivel mundial. Estimamos el nivel de infección por *M. bovis* entre los 29.000 bovinos de la realización de necropsias y cultivo de micobacterias. *M. bovis* fue confirmado en 154/1561 (9,8%) bovinos. Consideramos que la verdadera frecuencia de infección por *M. bovis* entre los bovinos se aproxima al 34,4%. Tuberculosis fue encontrada entre DFW sólo un caso pudimos vincularnos al lugar de trabajo a través de Spoligotyping. Ambos casos fueron causados por *M. bovis*, que menos del 4% de los casos de tuberculosis pulmonar en la población y contribuye con menos del 2% del total de la carga. Por lo tanto, consideramos que lo más probable es que la prevalencia De la tuberculosis activa en esta población de estudio es mucho mayor que la prevalencia reportada en México 18,1 casos / 100.000 habitantes¹⁸.

En nuestro estudio se encontró que la serosa mas afectada es la meníngea lo cual coincide con otra serie mexicana en se estima que el sistema nervioso central (SNC) está involucrado en el 5-10% de los casos extrapulmonares de infección por micobacterias, representando el 1,3%, por cual queda un tanto mas debajo de nuestro hallazgo el cual fue de un 75% del total afectadas.

Otro hallazgo importante es la frecuencia con la cual se identifico a la especie de *Micobacterium bovis* siendo este de un 20% lo cual sobrepasa lo reportado. La importancia de su identificación radica en la gravedad que provoca esta especie ya que es causante de secuelas neurológicas, y mayor mortalidad.

Asi bien en la literatura mundial, aun no se cuenta con una estandarización adecuada del tratamiento para *M. bovis*. por lo que la creación de nuevos métodos mas rápidos, son el primer paso para posteriormente lograr un adecuado manejo, evitando mayores resistencias, y con adecuado apego al tratamiento.

XI CONCLUSIONES

En nuestro hospital la causa mas frecuente de serosistis tuberculosa es por *Micobacterium tuberculosis* hasta en un 30%, sin embargo se observa una alta proporción de casos de *Micobacterium bovis* (20%).

No se observo una mayor tendencia de los casos de serositis por sexo, teniendo una distribución igual del 50%.

La serosa mayormente infectada en nuestro medio por *Micobacterium bovis* en un 75% de los casos fue meníngea, siendo raro el caso de afeccion en pleura.

Se requiere de métodos mas sensibles y específicos para la identificación de las cepas del complejo micobacterium tuberculosis.

XII BIBLIOGRAFIA

- ¹ Esteban, J., & Alonso-Rodríguez, N. (2011). Mycobacterium bovis and other uncommon members of the Mycobacterium tuberculosis complex. In *Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections, Sixth Edition* (pp. 607-617). American Society of Microbiology.
- ² Plataforma Única de Información/SUIVE/DGE/SS 2014. *DGIS/CUBOS 201
- ³ Olea-Popelka, F., Muwonge, A., Perera, A., Dean, A. S., Mumford, E., Erlacher-Vindel, E., ... & Raviglione, M. (2017). Zoonotic tuberculosis in human beings caused by Mycobacterium bovis—a call for action. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(1), e21-e25.
- ⁴ Mycobacterium bovis, BDataBio instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo, 2014
- ⁵ Torres-Gonzalez, P., Soberanis-Ramos, O., Martinez-Gamboa, A., Chavez-Mazari, B., Barrios-Herrera, M. T., Torres-Rojas, M., ... & de Leon-Garduño, A. P. (2013). Prevalence of latent and active tuberculosis among dairy farm workers exposed to cattle infected by Mycobacterium bovis. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(4), e2177.
- ⁶ Gopinath, K., & Singh, S. (2009). Multiplex PCR assay for simultaneous detection and differentiation of Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium avium complexes and other Mycobacterial species directly from clinical specimens. *Journal of applied microbiology*, 107(2), 425-435.
- ⁷ Kantor IN, Ambroggi M, Poggi S, Morcillo N, Da Silva Telles MA, Osorio Ribeiro M, et al. Human *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. *Tuberculosis* 2008.
- ⁸ Pérez-Guerrero, L., Milián-Suazo, F., Arriaga-Díaz, C., Romero-Torres, C., & Escartín-Chávez, M. (2008). Epidemiología molecular de las tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro, México. *salud pública de méxico*, 50(4), 286-291.
- ⁹ Raizada, N., Sachdeva, K. S., Swaminathan, S., Kulsange, S., Khaparde, S. D., Nair, S. A., ... & Umadevi, K. R. (2015). Piloting upfront xpert MTB/RIF testing on various specimens under programmatic conditions for diagnosis of TB & DR-TB in paediatric population. *PloS one*, 10(10), e0140375.
- ¹⁰ de Lassence, A., Lecossier, D., Pierre, C., Cadranet, J., Stern, M., & Hance, A. J. (1992). Detection of mycobacterial DNA in pleural fluid from patients with tuberculous pleurisy by means of the polymerase chain reaction: comparison of two protocols. *Thorax*, 47(4), 265-269.

-
- ¹¹ Friedrich, S. O., von Groote-Bidlingmaier, F., & Diacon, A. H. (2011). Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pleural tuberculosis. *Journal of clinical microbiology*, 49(12), 4341-4342.
- ¹² González-Duarte, A., de León, A. P., & Osornio, J. S. (2011). Importance of differentiating *Mycobacterium bovis* in tuberculous meningitis. *Neurology international*, 3(3).
- ¹³ Torres-Gonzalez, P., Cervera-Hernandez, M. E., Martinez-Gamboa, A., Garcia-Garcia, L., Cruz-Hervert, L. P., Bobadilla-del Valle, M., ... & Sifuentes-Osornio, J. (2016). Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: a retrospective comparison with *Mycobacterium tuberculosis* in a Mexican tertiary care centre, 2000–2015. *BMC infectious diseases*, 16(1), 657.
- ¹⁴ Lan, Z., Bastos, M., & Menzies, D. (2016). Treatment of human disease due to *Mycobacterium bovis*: a systematic review. *European Respiratory Journal*, 48(5), 1500-1503.
- ¹⁵ Issa, M. D. A., Soares Filho, P. M., Fonseca Júnior, A. A., Hodon, M. A., Santos, L. C. D., Reis, J. K. P. D., & Cerqueira Leite, R. (2017). Comparative study of *Mycobacterium bovis* primary isolation methods. *brazilian journal of microbiology*, 48(1), 139-144.
- ¹⁶ Moghaddam, R., Mosavari, N., & Mahalati, A. H. (2016). Molecular identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from Kermanshah Province, Iran. *International journal of mycobacteriology*, 5, S203.
- ¹⁷ Li, P., Wang, R., Dong, W., Hu, L., Zong, B., Zhang, Y., ... & Chen, H. (2017). Comparative Proteomics Analysis of Human Macrophages Infected with Virulent *Mycobacterium bovis*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7.
- ¹⁸ Torres-Gonzalez, P., Soberanis-Ramos, O., Martinez-Gamboa, A., Chavez-Mazari, B., Barrios-Herrera, M. T., Torres-Rojas, M., ... & de Leon-Garduño, A. P. (2013). Prevalence of latent and active tuberculosis among dairy farm workers exposed to cattle infected by *Mycobacterium bovis*. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(4), e2177.