

CIET

www.ciet.org
building the community voice into planning

Thesis
TH-MX-en-06

Mexico

*Epidemiología molecular de la tuberculosis pulmonar:
Factores de riesgo asociados a transmisión reciente de
Mycobacterium tuberculosis en Guerrero, México*

Elizabeth Nava Aguilera

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Índice de cuadros	vi
Índice de figuras	x
Índice de anexos	xii
Abreviaturas utilizadas	xiv
RESUMEN	1
CAPITULO I. REVISIÓN DE LA LITERATURA	
Panorama epidemiológico de la tuberculosis	13
Mecanismo de transmisión	21
Infección exógena y reactivación endógena	22
Factores asociados a transmisión reciente	24
Migración	25
Grupo étnico	32
Factores relacionados con el ambiente	36
Factores relacionados con el huésped	38
Grupos de alto riesgo	41
Personas sin hogar	43
Antecedentes de estancia en prisión	44
Patologías asociadas	44
Drogresistencia	45
Contacto con enfermos de tuberculosis	46
Antecedente de tuberculosis	46
Diagnóstico de tuberculosis pulmonar	47
Métodos de tipificación molecular	49
RFLP	50
DRE-PCR	51
Spoligotyping	51
Planteamiento del problema	52
Justificación	55
Preguntas de investigación	56

OBJETIVOS DEL PROYECTO	57
CAPITULO II. REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS	
Factores de riesgos asociados a transmisión reciente de tuberculosis	
Resumen	58
Antecedentes	59
Métodos	
Estrategia de búsqueda	60
Criterios de selección de los estudios	61
Resultado medido (outcome) y definición	61
Obtención y análisis de los datos	62
Análisis de la heterogeneidad de los estudios	63
Análisis de sensibilidad	63
Identificación del sesgo de publicación	63
Resultados	64
Discusión y conclusiones	83
Referencias	87
CAPITULO III. MATERIAL Y MÉTODOS	
Área y población de estudio	93
Encuestadores y encuesta	94
Recolección de las muestras de esputo	96
Procesamiento de las muestras	
Baciloscopia	96
Cultivo	97
Procesamiento de los aislamientos de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
Extracción del DNA	97
DRE-PCR	97
Spoligotyping	98
Captura de la información	99
Análisis estadístico	100
Entrega de resultados	101
Consideraciones éticas	102
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	

Factores de riesgo asociados a tos crónica	103
Caracterización molecular de aislamientos de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	109
Datos demográficos, epidemiológicos y características clínicas de los pacientes	
Datos demográficos	109
Lugar de origen y migración	111
Ocupación del paciente de TB	112
Características de la vivienda	113
Consumo de alcohol	114
Características clínicas	115
Patrones de DNA de los aislamientos de <i>M. tuberculosis</i> analizados por DRE-PCR y spoligotyping	116
Comparación de los métodos de tipificación utilizados para evaluación de la sensibilidad, especificidad y poder discriminatorio	
Descripción de los conglomerados identificados por spoligotyping	123
Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa en conglomerado	125
Factores de riesgo para la transmisión de cepas en conglomerado	
Migración	130
Grupo étnico	130
Área de residencia	135
Tiempo de residencia en su comunidad de origen	139
Factores relacionados con la pobreza y transmisión de cepas en conglomerado	
Hacinamiento	139
Número de personas que duermen con el caso	142
Número de cuartos en la vivienda	143
Analfabetismo	145
Desempleo	147
Tipo de vivienda	148
Tenencia de la casa	149
Factores relacionados con el huésped y transmisión de cepas en conglomerado	
Sexo del paciente	150
Consumo de alcohol	154
Estado civil	155

Edad actual del caso	157
Enfermedad concomitante	158
Antecedente de contacto con casos de tuberculosis	159
Antecedente de esposo/a con tuberculosis	159
Análisis multivariado de factores asociados a cepas en conglomerado	159
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	
Factores de riesgo asociados a tos crónica	162
Caracterización molecular de los aislamientos de <i>M. tuberculosis</i> DRE-PCR y spoligotyping	165
Comparación de los métodos de tipificación utilizados para evaluación de la sensibilidad, especificidad y poder discriminatorio	171
Descripción de los conglomerados identificados por spoligotyping	172
Factores de riesgo para la transmisión de cepas en conglomerado	173
Limitaciones del estudio	181
Conclusiones y contribución al conocimiento	184
REFERENCIAS	191

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Características de los estudios incluidos en el meta-análisis sobre factores de riesgo para transmisión reciente de tuberculosis	66
2. Validación de estudios sobre factores de riesgo para transmisión reciente de tuberculosis de acuerdo con los criterios de Newcastle-Ottawa	67
3. Meta-análisis de estudios sobre factores de riesgo para transmisión reciente de TB	68
4. Datos demográficos de tosedores crónicos, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero	103
5. Distribución de tosedores crónicos y casos de tuberculosis pulmonar diagnosticados, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero	104
6. Distribución de personas con tuberculosis anterior y tratamiento por región, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero	105
7. Distribución de personas que visitaron o trabajaron en Acapulco, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero	106
8. Análisis bivariado de los factores asociados a tos crónica, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero	107
9. Factores de riesgo asociados a tos crónica, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero	108
10. Datos demográficos de los casos de tuberculosis pulmonar del municipio Acapulco	110
11. Datos sobre movimientos migratorios de los casos de TB pulmonar	111
12. Características sobre la ocupación del caso de TB pulmonar	112
13. Características de la vivienda, encuesta a casos de TBP en el municipio de Acapulco	113
14. Datos sobre hábitos de consumo de alcohol de los casos de TB pulmonar	114
15. Características clínicas de los casos de TB pulmonar	115
16. Número de patrones y conglomerados obtenidos según el método de tipificación utilizado	116
17. Número y tamaño de cada conglomerado obtenido por spoligotyping	119
18. Representación esquemática de los patrones de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> detectados por spoligotyping, de 267 aislamientos de Guerrero	120
19. Sensibilidad y especificidad de la técnica de DRE-PCR considerando el método de spoligotipificación como prueba de referencia	122
20. Índice de discriminación por método de tipificación de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	123
21. Características de los conglomerados más grandes detectados por spoligotyping	124

22. Distribución de los patrones únicos o en conglomerado por grupo étnico	130
23. Distribución de los conglomerados detectados por spoligotyping según el grupo étnico	131
24. Frecuencia de los conglomerados y genotipos únicos por grupo indígena	132
25. Análisis de estratificación secuencial de grupo étnico asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 3-5 comparando con otros conglomerados	133
26. Análisis de estratificación secuencial de grupo étnico asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único	134
27. Análisis de estratificación secuencial de grupo étnico asociado a transmisión cepa Manila comparando con genotipo único	134
28. Análisis de estratificación secuencial de área de residencia asociado a cepas en conglomerado comparando con genotipo único	136
29. Análisis de estratificación secuencial de área de residencia asociada a cepa Manila frente a otros conglomerados	137
30. Análisis simultáneo área de residencia asociada a cepa Manila	138
31. Análisis de estratificación secuencial del número de personas por hogar asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único	140
32. Análisis de estratificación secuencial del número de personas por hogar asociado a transmisión de cepa de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único	141
33. Análisis de estratificación secuencial del número de personas por hogar asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único	142
34. Análisis de estratificación secuencial del número de cuartos por hogar asociado a transmisión de cepas en conglomerado frente a genotipo único	143
35. Análisis de estratificación secuencial del número de cuartos por hogar asociado a transmisión de una cepa de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único	144
36. Análisis de estratificación secuencial del número de cuartos por hogar asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único	144
37. Análisis de estratificación secuencial de escolaridad asociada con cepas en conglomerado frente a genotipo único	145
38. Análisis de estratificación secuencial de escolaridad asociado a transmisión de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único	146
39. Análisis de estratificación secuencial de escolaridad asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único	146
40. Análisis de estratificación secuencial de empleo asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único	147
41. Análisis de estratificación secuencial de empleo asociado a transmisión de cepa Manila comparando con otros conglomerados	148
42. Análisis de estratificación secuencial del material de la casa asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único	148

43. Análisis de estratificación secuencial del material de la casa asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único	149
44. Asociación del sexo del paciente y transmisión de cepas de los conglomerados uno a tres comparando con los otros conglomerados	151
45. Asociación de sexo del paciente y transmisión de cepas del conglomerado tres frente a los conglomerados cuatro y cinco	152
46. Análisis de estratificación secuencial de sexo asociado a cepa en conglomerado frente a genotipo único	152
47. Análisis de estratificación secuencial de sexo asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único	153
48. Análisis de estratificación secuencial de estado civil asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único	155
49. Análisis de estratificación secuencial de estado civil asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único	156
50. Análisis de estratificación secuencial de estado civil asociado a transmisión de la cepa Manila comparando con genotipo único	156
51. Análisis de estratificación secuencial de edad del caso asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único	157
52. Análisis de estratificación secuencial de la edad actual del caso de tuberculosis asociada a transmisión de cepa Manila comparando con otros conglomerados	158
53. Modelo de regresión logística incluyendo variables de alto nivel asociadas a transmisión de cepa del genotipo Manila entre los casos de TB pulmonar	161

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Países con mayor incidencia de tuberculosis (≥ 10 por 100 000 habitantes) en la Región de las Américas . . .	14
2. Morbilidad y mortalidad de tuberculosis pulmonar, México 1990-2005	15
3. Morbilidad por tuberculosis pulmonar, estado de Guerrero y México, 1995-2005	17
4. Incidencia nacional y estatal de tuberculosis respiratoria por grupo de edad y sexo, 2004	18
5. Morbilidad por tuberculosis respiratoria según grupo de edad y sexo, Guerrero, 2005	19
6. Mortalidad por tuberculosis en mayores de 15 años, Guerrero 1994-2004	20
7. Flujo de la revisión de artículos identificados e incluidos	65
8. Odds ratio de etnicidad asociado a transmisión reciente de TB	69
9. Odds ratio de pacientes nativos del país asociado a transmisión reciente de tuberculosis	71
10. Odds ratio de área de residencia asociada a transmisión reciente de tuberculosis	72
11. Odds ratio de uso de drogas asociado a transmisión reciente de TB	73
12. Odds ratio de personas sin hogar asociado a transmisión reciente de tuberculosis	74
13. Odds ratio de pacientes con antecedentes de estancia en prisión asociado a transmisión reciente de tuberculosis	75
14. Odds ratio de consumo excesivo de alcohol asociado a transmisión reciente de tuberculosis	76
15. Odds ratio de infección de VIH/SIDA asociado a transmisión reciente de tuberculosis	77
16. Odds ratio de la edad del paciente asociada a transmisión reciente de tuberculosis	78
17. Odds ratio de sexo del paciente asociado a transmisión reciente de tuberculosis	79
18. Odds ratio de baciloscopia del paciente asociado a transmisión reciente de tuberculosis	80
19. Odds ratio de cepa drogorresistente asociada a transmisión reciente de TB	81
20. Odds ratio de tuberculosis previa asociada a transmisión reciente de tuberculosis	82
21. Patrones obtenidos por DRE-PCR de los aislamientos de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> obtenidos de 17 enfermos por tuberculosis pulmonar	117
22. Patrones de spoligotyping de los aislamientos de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> obtenidos de 42 enfermos por tuberculosis pulmonar	118

23. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa de genotipo único comparado con las cepas en conglomerado	125
24. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado uno comparado con el resto de las cepas	126
25. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado dos comparado con el resto de las cepas	127
26. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado tres comparado con el resto de las cepas	128
27. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado cuatro comparado con el resto de las cepas	129

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Encuesta a casos de tuberculosis pulmonar	202
2. Formato para la recolección de información del expediente clínico	206
3. Encuesta a hogares para la búsqueda activa de tosedores crónicos en colonias de Acapulco con población indígena	209
4. Encuesta a hogares para la búsqueda de tosedores crónicos en la región de la Costa Chica	211
5. Encuesta a hogares para la búsqueda de tosedores crónicos en la región de La Montaña	213
6. Encuesta a hogares para la búsqueda de tosedores crónicos en la región de la Zona Centro	215
7. Encuesta a hogares para la búsqueda de tosedores crónicos en la región de la Zona Norte	218
8. Equipo y material para realizar la baciloscopia	220
9. Preparación de colorantes y reactivos para la técnica de Ziehl-Neelsen	222
10. Técnica de Ziehl-Neelsen, tinción del extendido	223
11. Formato para el registro de la lectura de las baciloscopias en 100 campos microscópicos	225
12. Reporte de resultados de la baciloscopia	226
13. Equipo y material para la descontaminación de las muestras de esputo	227
14. Reactivos para la descontaminación álcali-ácido (método de Petroff)	229
15. Descontaminación de las muestras de esputo mediante el método de Petroff	230
16. Procedimiento para la siembra (cultivo)	232
17. Preparación del medio de Lowenstein Jensen	234
18. Preparación de la muestra, extracción del DNA	238
19. Preparación de la mezcla de PCR y los tubos de reacción	240
20. Adición y amplificación de la muestra	243
21. Análisis del producto	244
22. Formato para el registro de muestras analizadas por DRE-PCR	248
23. Método de spoligotyping	249
24. Plantilla de códigos, encuesta a casos de tuberculosis pulmonar	252
25. Plantilla de códigos, información del expediente clínico	275
26. Plantilla de códigos, búsqueda activa de tosedores crónicos en colonias de Acapulco con población indígena	287

27. Plantilla de códigos, búsqueda activa de tosedores crónicos en <i>las Regiones de Costa Chica, La Montaña, Zona Centro y Zona Norte del estado de Guerrero</i>	303
28. Formato de entrega de resultados de la baciloscopia	321
29. Carta de Consentimiento	322

Abreviaturas utilizadas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BAAR	Bacilo ácido alcohol resistente
BACTEC	Técnica radiométrica para cultivo de micobacterias
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
BK	Baciloscopia
CAAPS	Clínica Avanzada de Atención Primaria a la Salud
CIET	Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales
dNTP	Dinucleótido
DR	Directa repetida
DRE-PCR	Doble elemento repetitivo-reacción en cadena de la polimerasa
EDTA	Etilendiaminotetra-acetato
EPHP	Eritrean Public Health Programme
gl	Grados de libertad
IC	Intervalo de confianza
IDHG	Índice discriminatorio de Hunter-Gaston
INF- γ	Interferón- γ
IS6110	Secuencia de inserción 6110
MgCl ₂	Cloruro de magnesio
mL	Mililitros
mM	Milimolar
Na ₂ HPO ₄ *2H ₂ O	Fosfato de sodio dibásico
NOM	Norma Oficial Mexicana
NRAMP1	Proteína del macrófago asociada a resistencia natural
°C	Grado Celsius
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds ratio
ORns	Odds ratio no sesgado
ORp	Odds ratio ponderado
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa

PGRS	Secuencia repetitiva polimórfica rica en guanina-citosina
pH	Concentración de hidrogeniones
pM	Picomolar
pmol	Picomol
RFLP	Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción del ADN genómico
SDS	Sulfato duodecil de sodio
SSA	Secretaría de Salud
TAES	Tratamiento acortado estrictamente supervisado
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TB	Tuberculosis
TBP	Tuberculosis pulmonar
U	Unidades
X ²	Cai cuadrada
X ² mh	Cai cuadrada de Mantel-Haenszel
X ² het	Cai cuadrada de heterogeneidad
Xmh	Cai de Mantel-Haenszel
\bar{x}	Promedio
μl	Microlitros
μM	Micromolar

RESUMEN

Antecedentes: A nivel mundial la tuberculosis es la principal causa de mortalidad por enfermedad infecciosa en adultos, aproximadamente la tercera parte de la población está infectada con el bacilo de la tuberculosis, por año ocurren 8.9 millones de casos nuevos y aproximadamente 2 millones de muertes. Es considerada un problema prioritario de salud pública que impide el desarrollo social y económico. El 80% de los casos se presentan en los países en desarrollo, donde estos enfermos viven en condiciones de pobreza y con frecuencia padecen enfermedades concomitantes. La tuberculosis está emergiendo asociada a la epidemia de Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)/ Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), a la aparición de cepas multirresistentes y al deterioro de los programas de control.

En la región de las Américas la tendencia cambia de acuerdo con el nivel de desarrollo de los países, la calidad de los sistemas de atención en salud, la cobertura y las acciones de control. México se ubica en el décimo octavo lugar entre los países con menor incidencia y mortalidad por tuberculosis en América Latina y El Caribe. A pesar de ello la prevención y el control de esta enfermedad representa un verdadero reto para la salud pública. Durante el 2005 se registraron 15 249 casos de tuberculosis pulmonar que corresponde a una morbilidad de 14.33 por 100 mil habitantes. La mortalidad por tuberculosis en el país ha descendido considerablemente en los últimos años (7.7 a 2.46 muertes por 100 mil habitantes en 1990 y 2004, respectivamente), durante el 2004 se registraron 2 600 muertes, siendo la segunda causa de muerte ocasionada por un solo agente etiológico, únicamente superada por el VIH/SIDA. No obstante, existe una gran heterogeneidad en la morbilidad de este padecimiento en los Estados del país, con tasas que van desde 2.7 hasta 44.37 por 100 mil habitantes.

El estado de Guerrero ocupó el segundo lugar en morbilidad por tuberculosis pulmonar en el país, con una cifra de 1 127 casos y una tasa de 34.56 por 100 mil habitantes, muy superior a la media nacional (14.33). Durante el año 2004, las jurisdicciones sanitarias más afectadas fueron Acapulco (588 casos TBP), Costa Chica (177 casos), Costa grande (130 casos) y Norte (86 casos).

La tuberculosis es causada por *Mycobacterium tuberculosis* y con menor frecuencia por *M. bovis* y *M. africanum*. Afecta principalmente los pulmones, generalmente, el contagio es directo de persona a persona a través de las gotas de saliva, considerándose ésta como la mayor ruta de diseminación. Los determinantes claves de infección son los contactos y la fuente de infección: un caso índice con baciloscopia positiva puede infectar al 30% de los contactos, mientras que un caso con baciloscopia negativa y cultivo positivo puede infectar a menos del 10% de los contactos.

El desarrollo de tuberculosis activa puede deberse a reactivación endógena o infección reciente por *M. tuberculosis*. El progreso de esta enfermedad depende de varios factores entre los cuales está el sistema inmunológico del huésped. En el caso de reactivación endógena, cuando el sistema inmunológico del paciente se debilita, ocurre la reactivación de la infección latente; en los pacientes con infección por VIH aumenta el riesgo de desarrollar tuberculosis. No obstante, la edad de la persona es otro determinante en el desarrollo de la enfermedad, presentándose mayor riesgo durante la infancia, cuando se es adulto joven (15-25 años de edad) y en la senectud.

En los últimos años la utilización de técnicas de biología molecular en estudios de epidemiología de tuberculosis permiten diferenciar si el desarrollo de tuberculosis es como consecuencia de reactivación de la infección pasada o por transmisión reciente. Generalmente, se acepta que los casos de TB que presentan cepas de *M. tuberculosis* con idéntico patrón de la secuencia de inserción IS6110 aislado de dos o más personas (cepas o patrón en conglomerado) representan infección exógena reciente, mientras que aquellos infectados con cepas cuyos patrones no son observados en otros aislamientos clínicos (patrones únicos) son considerados para representar enfermos por reactivación endógena. No obstante, se deben tomar algunas previsiones al interpretar cepas en conglomerado, porque pueden variar dependiendo de las características del huésped y la población estudiada. Además, el tamaño y la duración del estudio pueden subestimar la estimación de transmisión reciente. En áreas rurales, los genotipos similares no necesariamente pueden ser un indicador de infección reciente, mientras que en comunidades con poca movilidad poblacional algunas cepas de *M. tuberculosis* pueden permanecer estables y el mismo genotipo puede ser encontrado entre pacientes que nunca han estado en contacto.

La incidencia de tuberculosis en los países desarrollados y no desarrollados cada vez se incrementa más, sobre todo en la población más desfavorecida de las grandes ciudades, donde también se concentran otros factores de riesgo para esta enfermedad, como la migración, el hacinamiento, bajo nivel socioeconómico, consumo de alcohol, abuso de drogas, infección por VIH y el aumento de personas sin hogar. En los últimos años varios estudios han combinado el uso de datos epidemiológicos convencionales con los de tipificación molecular de *M. tuberculosis* para identificar factores asociados a transmisión reciente. La magnitud del problema pone en evidencia que las propuestas globales de prevención y control de esta enfermedad no son suficientes, por lo tanto, para elaborar estrategias específicas que contribuyan a disminuir la transmisión de *M. tuberculosis*, se requiere identificar a nivel local los grupos de mayor riesgo debido a que pueden cambiar de una comunidad a otra.

Objetivo: Identificar las cepas circulantes de *M. tuberculosis* y los factores de riesgo asociados a transmisión reciente de tuberculosis pulmonar en el municipio de Acapulco.

Material y métodos: Se realizó un estudio en dos fases: en la primera se localizaron y encuestaron 300 casos de tuberculosis pulmonar, y en la segunda, se efectuó búsqueda activa de tosedores crónicos. Para la primera fase se consideró una muestra consecutiva de casos de tuberculosis pulmonar (TBP) diagnosticados por baciloscopia durante febrero del 2001 a septiembre del 2002 en el municipio de Acapulco, Guerrero. Se aplicó una encuesta a cada uno de los casos de TBP para obtener datos epidemiológicos, demográficos y características clínicas actuales.

En la segunda fase se hizo un estudio con base-poblacional, se aplicó una encuesta a hogares en 26 comunidades con población indígena de cinco regiones del estado de Guerrero (Acapulco, Zona Norte, Zona Centro, La Montaña y la Costa Chica) para la obtención de datos epidemiológicos sobre factores de riesgo de tos crónica. Se incluyeron las comunidades de donde provenían los casos de tuberculosis pulmonar identificados en el municipio de Acapulco; excepto en la Zona Norte, donde se seleccionaron al azar dos comunidades con población indígena debido a que en la primera fase del estudio no se localizó ningún caso de esa Región. La población incluida fueron las personas mayores de 14 años que presentaron tos con expectoración de dos semanas o más de evolución. Se localizaron casa por casa en cada una de las comunidades seleccionadas. Los encuestadores que participaron fueron investigadores del CIET y personas de la comunidad. En la mayoría de las comunidades fue necesaria la participación de traductores para la aplicación de la encuesta. Posteriormente, durante la encuesta a hogares, se recolectó una muestra de esputo de cada tosedor crónico mayor de 14 años de edad, las cuales fueron procesadas mediante baciloscopia en la misma comunidad para entregar los resultados al día siguiente.

Procesamiento de las muestras: Entre los pacientes de tuberculosis detectados durante todo el estudio, se recolectaron 665 muestras de expectoración con baciloscopia positiva, las cuales se descontaminaron mediante el método Petroff con hidróxido de sodio. Se sembró 0.5 mL de la muestra en medio de cultivo Lowenstein-Jensen y se incubaron a 37 °C durante ocho semanas. Los aislamientos obtenidos, se analizaron con la técnica de doble elemento repetitivo- reacción en cadena de la polimerasa (DRE-PCR) y spoligotyping para identificar las huellas digitales, así como la clasificación de los patrones en conglomerado.

Consideraciones éticas: Previo a la realización de la encuesta de los casos de TBP se obtuvo consentimiento informado por escrito y la obtención de los datos fue confidencial. En el momento de la encuesta se encontraron casos que habían abandonado el tratamiento, en esta situación se habló con el paciente y la familia para hacer una baciloscopia de control, además se motivó a que continuara con el tratamiento antifímico. Este trabajo se realizó en coordinación con la SSA lo cual permitió que los casos

diagnosticados por el CIET recibieran el tratamiento antifímico de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, que utiliza la estrategia de tratamiento acertado estrictamente supervisado (TAES).

Análisis: La captura y el análisis de los datos se realizó con el programa Epi-Info. Se relacionaron los datos epidemiológicos y de biología molecular para buscar los factores asociados con la transmisión de cepas en conglomerado, mediante el formato de tablas de contingencia 2x2, contrastando los expuestos y no expuestos contra la variable resultado: cepa en conglomerado y cepa con patrón único. Esto permitió estimar el Odds Ratio (OR); el nivel de confianza de los resultados obtenidos se valoró con la prueba de significancia estadística de Mantel-Haenszel (χ_{mh}). Los factores estudiados se analizaron en forma secuencial para buscar los distractores y modificadores de efecto de las asociaciones. En el análisis multivariado se incluyeron los factores que fueron distractores y modificadores de efecto.

Resultados

Se encuestaron 6 242 personas mayores de 14 años en 2 072 hogares de cinco regiones con población indígena del estado de Guerrero. El promedio de personas por hogar fue de 6.2 (desviación estándar 2.95, rango 1-20). El 54.7% (3 414/6 242) fue del sexo femenino, y el promedio de edad fue de 35 años (desviación estándar 17.1, rango 15-97). Respecto al grupo étnico no se incluyó una muestra proporcional sobre representación de grupos indígenas; el 46.6% (2 908 /6 242) era náhuatl, 25.2 % (1 576 /6 242) mestizo, 18.8 % (1 175 /6 242) mixteco, 7.1 % (442 /6 242) amuzgo y 1.6 % (100 /6 242) tlapaneco.

Factores de riesgo asociados a tos crónica

Se identificaron por búsqueda activa a 649 (10.4%) tosedores crónicos entre las 6 242 personas encuestadas, de los cuales solamente el 65% (421/649) entregó muestra de esputo. De las 421 muestras analizadas se identificaron 10 personas (2.4%) con baciloscopia positiva. Siete de los 10 casos nuevos tuvieron baciloscopia positiva grado tres, el resto fue baciloscopia positiva grado uno. Todos los casos de tuberculosis diagnosticados fueron personas indígenas y pertenecían a los grupos mixteco, náhuatl y amuzgo. En el análisis multivariado los factores asociados de forma independiente a tos crónica fueron tener antecedentes de tuberculosis, ser mayor de 29 años, residir en la región de la Costa Chica o Acapulco, antecedente de conocer a algún enfermo de tuberculosis, y no tener empleo o ser ama de casa, empleada doméstica, vendedor ambulante o ayudante.

Caracterización molecular de aislamientos de M. tuberculosis en el municipio de Acapulco

En los 254 aislamientos tipificados por DRE-PCR se identificaron 116 patrones, de los cuales 91 presentaron un patrón único, los 163 (64.2%) aislamientos restantes estuvieron agrupados en 25 conglomerados. El tamaño de los conglomerados varió de 2 a 40

pacientes. Mientras que por espoligotipación se analizaron 267 aislamientos e identificaron 85 genotipos distintos. De éstos, 59 presentaron un patrón único, los 208 (77.9%) aislamientos restantes estuvieron agrupados en 26 conglomerados que fueron compartidos entre dos pacientes. El tamaño de los conglomerados varió de 2 a 70 pacientes. El conglomerado de 70 pacientes incluyó el 33.6% (70/208) de los aislamientos en conglomerado; el patrón del espoligotipo es igual al previamente reportado como Familia Manila de *M. tuberculosis*. Asumiendo que un conglomerado típico de n personas incluye un caso índice con TB por reactivación endógena y $n-1$ pacientes con tuberculosis adquirida recientemente, estimamos que el 68% (208-26) de los 267 casos fue debido a infección reciente que progresó a enfermedad activa.

Factores de riesgo para la transmisión de cepas en conglomerado entre los casos TB

Entre los 300 pacientes con tuberculosis pulmonar de 120 colonias del municipio de Acapulco, Guerrero, la proporción de personas que migraron a Acapulco y que posteriormente desarrollaron la enfermedad fue 49.1 (144/293). Entre la población estudiada, 190 (63.3%) fueron del sexo masculino y el promedio de edad fue 41.0 años (desviación estándar 15.5, rango 15-86). El 8.1% (24/296) de los enfermos de tuberculosis era indígena, entre los cuales 16/23 tenían una cepa en conglomerado; para los mestizos la proporción fue de 78.4% (189/241). Las cepas de los conglomerados 1 y 2 entre los mestizos fue del 50% (95/189) y únicamente 6/19 indígenas. Sin embargo, los conglomerados 3, 4 y 5 se presentaron en 9/19 indígenas, mientras que en los mestizos fue del 19% (36/189), $p=0.0103$. Respecto a la asociación entre los conglomerados 3-5 y grupo étnico, un caso de TB pulmonar que era indígena tuvo casi cuatro veces el riesgo de tener una cepa de los conglomerados 3-5 comparado con un mestizo (OR 3.8, IC95% 1.30-11.2). La migración y área no explicó esta asociación, aunque fue más fuerte entre los que migraron y entre habitantes del área rural.

Análisis multivariado de factores asociados a cepas en conglomerado: En un primer modelo de regresión logística con variables combinadas se consideró la variable resultado cepa en conglomerado vs genotipo único; los factores asociados a cepas en conglomerado fueron haber migrado al municipio de Acapulco y vivir en condiciones de hacinamiento (OR 7.2; IC95% 1.36-37.7), ser residente en el área rural y haber vivido menos de 17 años en su comunidad de origen (OR 0.22; IC95% 0.08-0.58). Los factores que salieron del modelo fueron los siguientes: migrante y residente de área urbana, nativo y residente del área rural, indígena sin empleo, mestizo con empleo, mestizo con estudios, indígena sin estudios, mujer en vivienda hacinada, hombre en vivienda sin hacinamiento, analfabeta en vivienda hacinada, esposo con TB y paciente sin enfermedad asociada, joven residente en área urbana, viejo residente en área rural, joven soltero, mayor de 29 años y casado, migrante con empleo, nativo sin empleo, consumo de alcohol y residente de área urbana, consumo de alcohol y residente de área rural, sin casa y analfabeta, con casa y con estudios,

Es posible que la alta frecuencia de cepas agrupadas y las condiciones de hacinamiento en que se encuentran los migrantes favorezcan la reinfección exógena con una nueva cepa. Sin embargo, los residentes del área rural con menor tiempo de residencia en la comunidad de origen pueden haber adquirido la tuberculosis por reactivación de una infección pasada.

Posteriormente, en un segundo modelo de regresión logística se consideró el outcome cepa Manila vs otro genotipo, para identificar los factores específicos a este conglomerado. Los factores independientes asociados a transmisión de cepas del genotipo Manila fueron haber migrado al municipio de Acapulco y residir actualmente en el área urbana (OR 1.95; IC95% 1.01-3.76), ser nativo de Acapulco y residente en el área rural (OR 2.62; IC95% 1.23-5.59), y ser mujer menor de 30 años edad (OR 2.77; IC95% 1.12-6.82). Fueron excluidos del modelo ser migrante viviendo en hacinamiento, indígena sin empleo, mestizo con empleo, mestizo con estudios, indígena sin estudios, mujer en vivienda hacinada, hombre en vivienda sin hacinamiento, analfabeta en vivienda hacinada, esposo con TB y paciente sin enfermedad asociada, joven residente en área urbana, viejo residente en área rural, joven soltero, mayor de 29 años y casado, migrante con empleo, nativo sin empleo, consumo de alcohol y residente de área urbana, consumo de alcohol y residente de área rural, sin casa y analfabeta, con casa y con estudios.

Conclusiones: El análisis epidemiológico de los factores de riesgos asociados a tos crónica en cinco regiones del estado de Guerrero aporta información relevante para futuras estrategias de prevención y control de la tuberculosis. La caracterización de los tosedores crónicos confirma en nuestra entidad cuales son los grupos con más riesgo, incluyendo a personas con antecedentes de tuberculosis (este factor presentó mayor fuerza de asociación, es probable que este grupo permanezca en riesgo para esta enfermedad), a mayores de 29 años de edad, haber tenido contacto con algún enfermo de TB y personas con bajo nivel socioeconómico. En algunas regiones como Acapulco y la Costa Chica se debe incrementar aún más la búsqueda de tosedores crónicos, el diagnóstico temprano e inicio de tratamiento de casos de TB, para lograr impacto en la disminución de la transmisión de tuberculosis pulmonar.

La tipificación molecular de los aislamientos de *M. tuberculosis* reveló una alta proporción de pacientes con cepas en conglomerado (77.9%) y de transmisión reciente de tuberculosis en el municipio de Acapulco durante el periodo estudiado (68%). En nuestro estudio la contribución de transmisión reciente con base en conglomerado está sustentada en la gran diversidad de genotipos entre la población estudiada, las características del área estudiada, tal como la alta prevalencia de TB y la gran movilidad de la población, así como en la carga bacilar de los casos y duración de los síntomas. El conglomerado más grande, correspondiente a la cepa Manila, fue responsable de la cuarta parte de los casos registrados durante el periodo de estudio, mostrando el impacto de la diseminación de una cepa en la salud pública.

Se identificaron los factores de riesgo para la transmisión reciente de TB y para la transmisión de la cepa Manila en el municipio de Acapulco. El análisis epidemiológico sugiere que varios factores de riesgos están asociados a cepa en conglomerado; estos factores están relacionados principalmente con la pobreza, conductas de riesgo y con el huésped; incluyendo migración, hacinamiento, grupo

étnico, bajo nivel socioeconómico, edad joven, sexo masculino, consumo de alcohol, estado civil soltero y residencia urbana. El análisis multivariado sugiere que migración y hacinamiento fueron los factores de riesgo asociados independientemente con transmisión reciente. Otros factores asociados fueron área rural y residir menos tiempo en su comunidad; no obstante, estos últimos fueron factores de menos riesgo.

Respecto a la cepa Manila, los factores de riesgos asociados a la transmisión de esta cepa fueron migración reciente al área urbana, nativos del área rural, así como ser mujer joven. Posiblemente, las condiciones socioeconómicas de estos grupos, la susceptibilidad de las mujeres y la mayor transmisibilidad de la cepa del genotipo Manila en relación con las demás cepas circulantes contribuyeron a incrementar el riesgo de infección reciente por la cepa Manila.

Las implicaciones de estos resultados sugieren que el control de la tuberculosis en Guerrero podría mejorarse con la elaboración de estrategias específicas para el incremento en la búsqueda de tosedores, diagnóstico temprano y tratamiento de los casos, con el fin de disminuir la transmisión de esta enfermedad; haciendo énfasis en los grupos vulnerables como son los migrantes e indígenas, y en grupos con alto riesgo de infección reciente y genotipo Manila. Las estrategias de educación sobre tuberculosis y el estudio de contacto necesitan ser adaptadas a las características de los diferentes grupos de población. En grupos marginados, como el de los alcohólicos, la disminución de la transmisión reciente de tuberculosis podría lograrse mediante la participación de redes comunitarias de apoyo para la localización de personas en riesgo de desarrollar esta enfermedad.

Nosotros proponemos la realización de investigaciones sobre los factores de virulencia de la cepa Manila y análisis de drogasensibilidad, así como otros estudios que evalúen los factores de riesgos asociados a esta cepa, además de evaluar en toda la entidad durante un periodo más largo la dinámica de transmisión de tuberculosis.

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LA LITERATURA

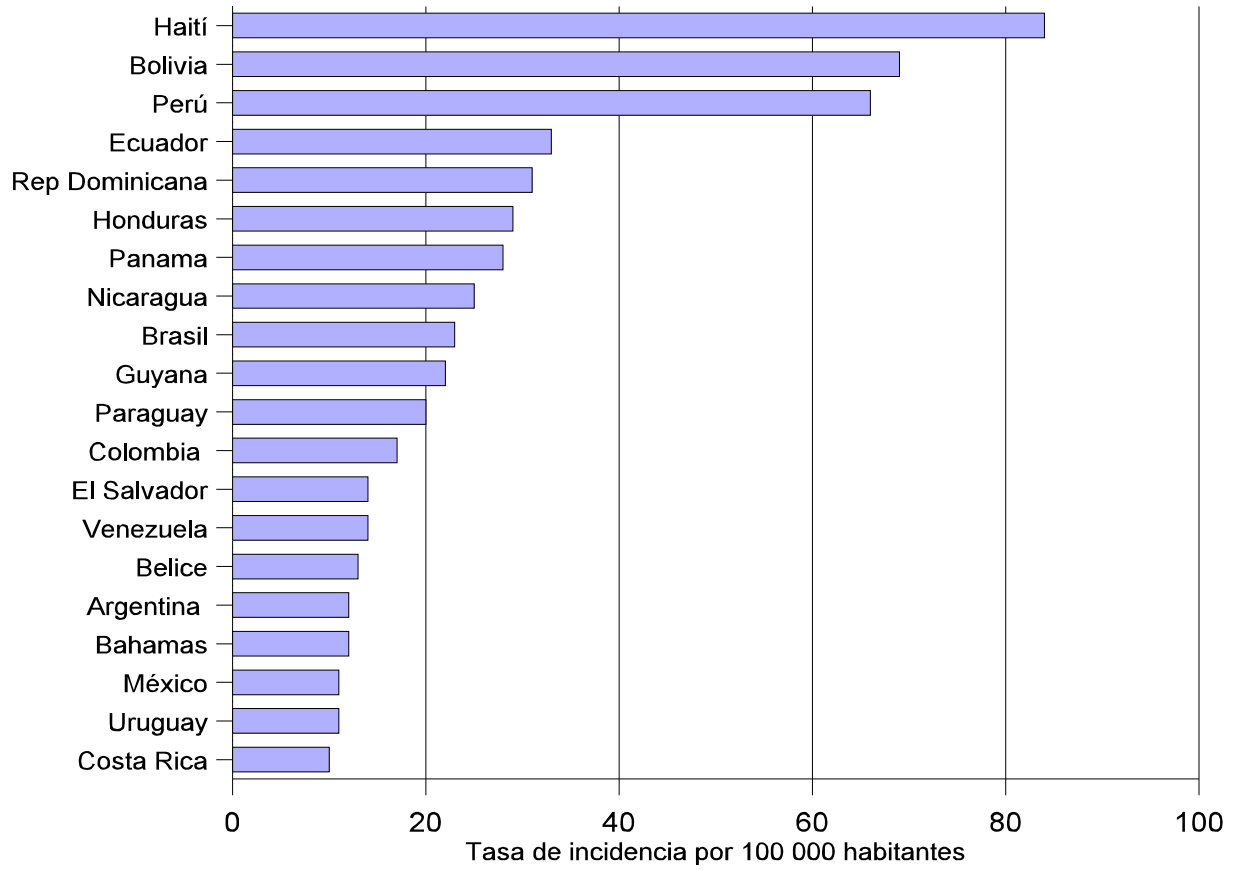
Panorama epidemiológico de la tuberculosis

La tuberculosis (TB) continúa siendo un problema de salud pública que impide el desarrollo social y económico. Esta enfermedad fue declarada emergencia mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1993, dado que la tercera parte de la población (1.8 billones de personas) está infectada por *Mycobacterium tuberculosis* y es la principal causa de mortalidad por enfermedad infecciosa en adultos. De acuerdo con las estimaciones, para la década de los 90's anualmente existían 8 millones de casos nuevos y 3 millones de muertes, la tasa de incidencia acumulativa de 1990 a 1999 fue de 88 millones de casos. Sin embargo, la incidencia por este padecimiento sigue incrementándose, en el 2004 hubo 8.9 millones de casos nuevos (140/100 000 habitantes) y 14.6 millones de casos prevalentes (229/100 000), mientras que la mortalidad está disminuyendo, 1.7 millones de personas (27/ 100 000) murieron por tuberculosis. El 80% de los casos incidentes se presentan en 22 países, de los cuales 15 pertenecen a la región de Africa, donde estos enfermos viven en condiciones de pobreza y con frecuencia padecen enfermedades concomitantes (WHO report 2006). La tuberculosis está emergiendo asociada a la epidemia del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)/ Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), a la aparición de cepas multirresistentes y al deterioro de los programas de control (Sepkowitz KA et al., 1995).

En la región de las Américas la tendencia cambia según el nivel de desarrollo de los países, la calidad de los sistemas de atención en salud, la cobertura y las acciones de control. Durante el 2004 en esta región se registraron 363 mil casos nuevos de tuberculosis (41/100 000), de los cuales 126 289 fueron casos nuevos por tuberculosis pulmonar con baciloscopia positiva; para una tasa de incidencia estimada de 14/100 000. Para ese mismo año se registraron 33 581 casos de tuberculosis extrapulmonar. Los países con mayor incidencia de TBP fueron Haití, Bolivia, Perú, Ecuador, República Dominicana, Honduras, Panamá, Nicaragua, Brazil, entre otros (Figura 1).

México se ubica en el décimo octavo lugar entre los países con menor incidencia y mortalidad por tuberculosis en América Latina y El Caribe. A pesar de ello la prevención y el control de esta enfermedad representa un verdadero reto para la salud pública.

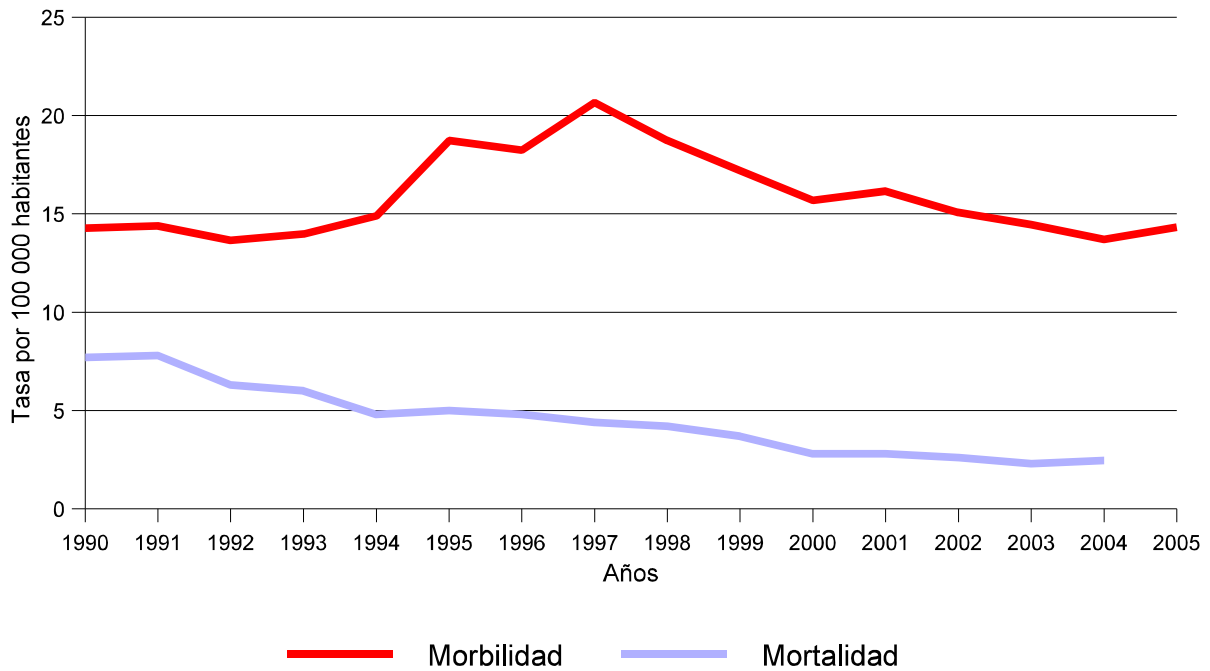
Figura 1. Países con mayor incidencia de tuberculosis (≥ 10 por 100 000 habitantes) en la Región de las Américas.



Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2006.

La incidencia de TB pulmonar aumentó de 14.27 por 100 mil habitantes en 1990 a 20.67 en 1997. A partir de entonces se ha presentado una tendencia a la baja hasta situarse en 14.33 casos por cada 100 mil habitantes en el año 2005, lo que representa un descenso del 30.7% a lo largo de ocho años (Figura 2, Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud, Reporte 2005).

Figura 2. Morbilidad y mortalidad de tuberculosis pulmonar, México 1990-2005.



Fuente: Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud

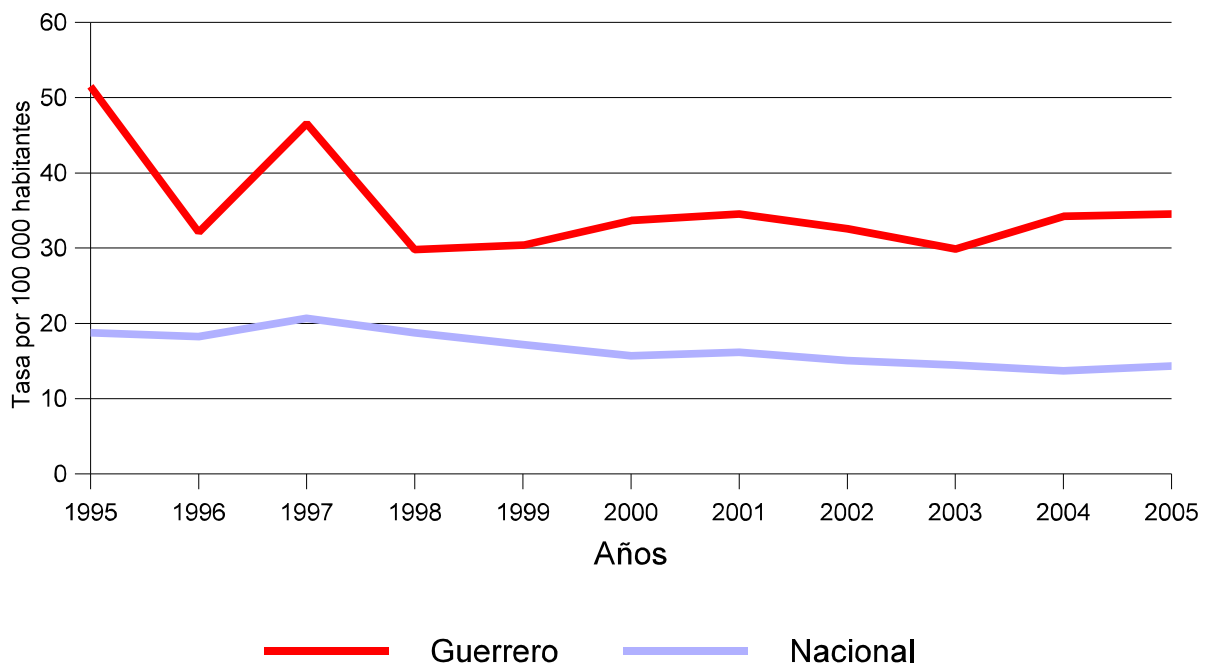
Durante el 2005 se registraron 15 249 casos de TBP que corresponde a una morbilidad de 14.33 por 100 mil habitantes. Las cifras por estado de la República va desde 2.7 hasta 44.37 casos por cada 100 mil habitantes en el estado Tlaxcala y Baja California Norte, respectivamente. Los estados con mayor incidencia fueron Baja California Norte (44.37), Guerrero (34.56), Tamaulipas (33.16), Sonora (31.36), Veracruz (25.59), Sinaloa (25.12), Baja California Sur (22.88), Chiapas (22.71), Tabasco (20.78) y Nuevo León (20.32).

La mortalidad por tuberculosis en el país ha descendido considerablemente en los últimos años (7.7 a 2.46 muertes por 100 mil habitantes en 1990 y 2004, respectivamente), durante el 2004 se registraron 2600 muertes, siendo la segunda causa de muerte ocasionada por un solo agente etiológico, sólo superada por el VIH/SIDA. Los estados que durante el año 2004 reportaron mayor

mortalidad fueron Baja California Norte (7.21), Chiapas (4.88), Nayarit (4.74), Oaxaca (4.3), Nuevo León (3.82), Coahuila (3.74), Sonora (3.71), Guerrero (3.53) y Baja California Sur (3.47), (Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud).

En el estado de Guerrero, la tuberculosis continúa siendo un problema grave de salud pública, congruente con las condiciones socioeconómicas de la mayoría de la población y se teme un repunte importante de este padecimiento, debido a la epidemia de SIDA que, desde 1985, está presente en la entidad (Lasso-Echeverría, 1998). En los últimos cinco años la tendencia de la morbilidad ha sido estable con un promedio de 1076 casos nuevos anualmente (Figura 3). De acuerdo con los registros del 2005 de la Dirección General de Epidemiología, el estado de Guerrero ocupó el segundo lugar en morbilidad por tuberculosis pulmonar en el país, con una cifra de 1127 casos y una tasa de 34.56 por 100,000 habitantes, muy superior a la media nacional que es de 14.33 (SSA, Dirección General de Epidemiología, 2005). Durante el año 2004, las jurisdicciones sanitarias más afectadas fueron Acapulco (588 casos TBP), Costa Chica (177 casos), Costa grande (130 casos) y Norte (86 casos).

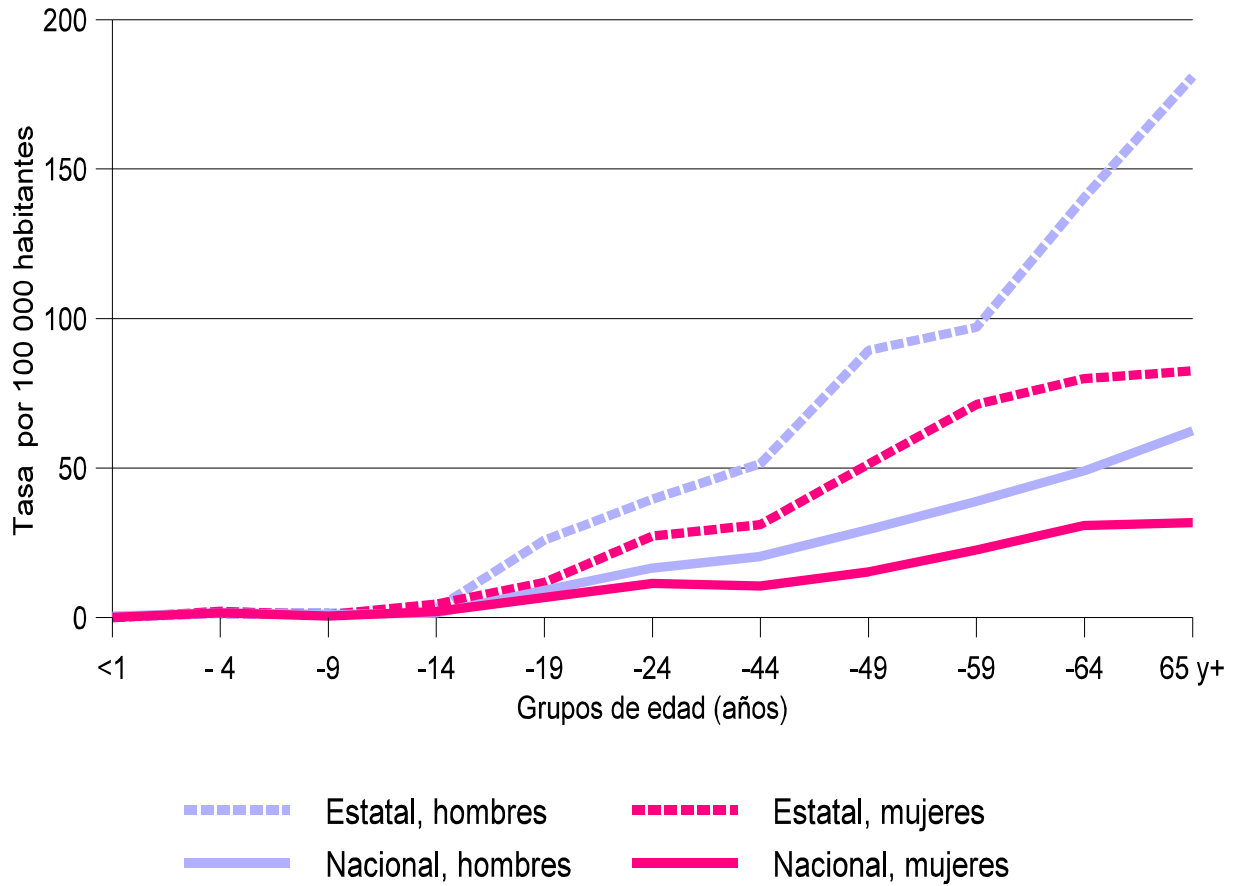
Figura 3. Morbilidad por tuberculosis pulmonar, estado de Guerrero y México, 1995-2005.



Fuente: Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud.

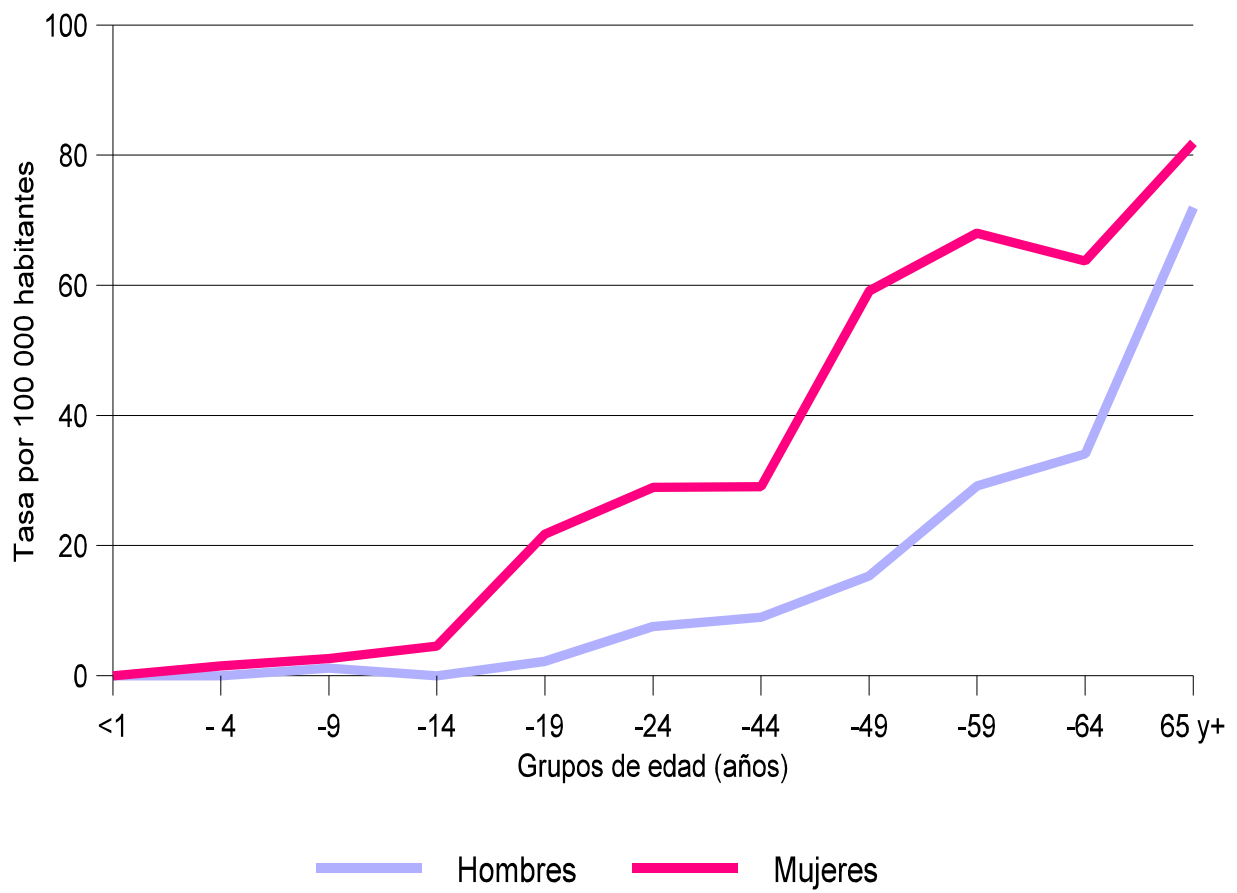
En el 2004, la incidencia de tuberculosis fue mayor entre los hombres tanto a nivel estatal como nacional (Figura 4). Sin embargo, para el siguiente año en el Estado se observó un incremento en el número de casos nuevos entre las mujeres (Figura 5).

Figura 4. Incidencia nacional y estatal de tuberculosis respiratoria por grupo de edad y sexo, 2004.



Fuente: Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud.

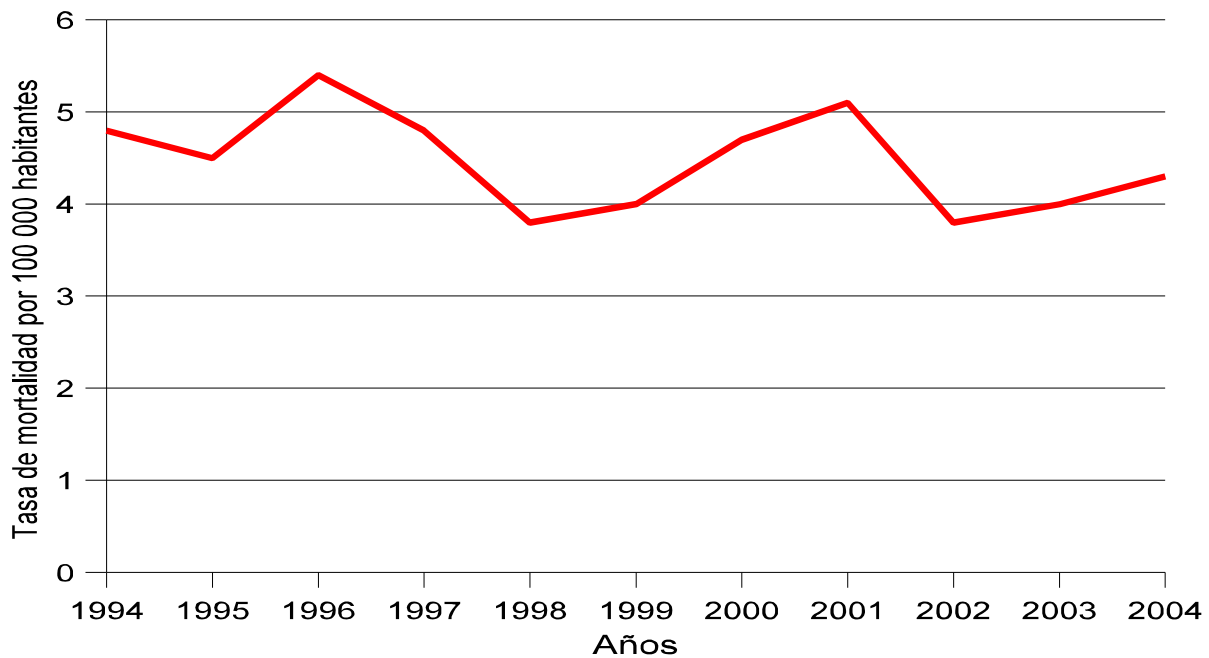
Figura 5. Morbilidad por tuberculosis respiratoria según grupo de edad y sexo, Guerrero, 2005.



Fuente: Dirección General de Epidemiología, Secretaría de Salud.

En Guerrero, la tasa de mortalidad más baja (3.8 por 100 mil habitantes) por TB pulmonar se registró en los años 1998 y 2002. Mientras que la cifra más alta fue en 1996 con 5.4 defunciones por 100 mil habitantes. Durante el año 2004 ocurrieron 123 muertes (4.3 por 100 mil habitantes), las jurisdicciones más afectadas fueron Acapulco, Costa Grande, Costa Chica y Norte (Figura 6).

Figura 6. Mortalidad por tuberculosis en mayores de 15 años, Guerrero 1994-2004.



Fuente: Dirección de Planeación, Departamento de Estadística, SSA-Guerrero.

Mecanismo de transmisión

La TB es una enfermedad de localización principalmente pulmonar que afecta también a otros órganos. Es ocasionada por *Mycobacterium tuberculosis* y con menor frecuencia por *M. bovis* y *M. africanum*. El ser humano es el huésped natural de *M. tuberculosis* (García-García ML et al, 1994). El contagio es persona a persona a través de las gotas de saliva, considerándose ésta como la mayor ruta de diseminación. Una ruta de transmisión menor incluye la ingestión de alimentos contaminados (por ejemplo leche no pasteurizada) o inoculación directa (por ejemplo trabajadores de la salud). Los determinantes claves de infección son los contactos y la fuente de infección: un caso índice con baciloscopia positiva puede infectar al 30% de los contactos, mientras que un caso con baciloscopia negativa y cultivo positivo puede infectar a menos del 10% de los contactos (Sepkowitz KA et al, 1995).

La infección primaria generalmente inicia en los segmentos del pulmón con mayor aireación donde se favorece el depósito de los bacilos inhalados como son el lóbulo inferior, el lóbulo medio, la llingula y el segmento anterior de los lóbulos superiores. El periodo de incubación dura de 4 a 12 semanas desde el momento de la infección hasta que aparecen las primeras lesiones. En la mayoría de los casos ocurre un foco único, aun cuando en una cuarta parte de los casos pueden ocurrir focos múltiples. Los bacilos son fagocitados por macrófagos alveolares, en ese momento la infección puede progresar a enfermedad o ser controlada por el sistema inmune y pasar a un periodo de latencia. En la mayoría de las personas, la respuesta inmune controla la infección y se desarrollan granulomas que entran en un periodo de latencia hasta que ocurra alguna alteración en la inmunidad celular (García-García ML et al, 1994).

Infección exógena y reactivación endógena

El desarrollo de tuberculosis activa puede deberse a reactivación endógena o infección exógena denominada también transmisión reciente (Small PM et al, 1994). El riesgo de desarrollar TB activa es de 1 a 5% en el primer año, posteriormente es 10% en el resto de la vida; excepto en aquellos que presentan co-infección con VIH, el riesgo es de 10% al año. El desarrollo de TB activa depende de varios factores entre los cuales está el sistema inmunológico del huésped. En el caso de reactivación endógena, cuando el sistema inmunológico del paciente se debilita ocurre la reactivación de la infección latente. La persona desarrolla entonces tuberculosis activa y presenta ataque al estado general, pérdida de peso, fatiga, fiebre, sudoración nocturna, generalmente con afección pulmonar con la presencia de síntomas como tos crónica, hemoptisis y dolor pleural. Existen tres periodos donde es más probable que progrese la enfermedad, en la infancia, adulto joven (15-25 años de edad) y en los ancianos (García-García ML et al, 1994).

Actualmente la infección por VIH constituye el principal factor de riesgo de contraer la enfermedad y para la reactivación de la infección latente. La activación de los macrófagos, por el interferón- γ (IFN- γ) liberado por los linfocitos CD4+ activados es la principal respuesta inmune contra el *M. tuberculosis*. A medida que disminuye la población de linfocitos CD4+ en los pacientes con infección por VIH, aumenta el riesgo de desarrollar tuberculosis (McShane H, 2005).

La meta principal de los estudios de epidemiología molecular de tuberculosis ha sido el uso de métodos moleculares para distinguir entre TB por reactivación y transmisión reciente, lo que ha contribuido a incrementar el conocimiento sobre la transmisión de la enfermedad. Anteriormente se consideraba que la mayor parte de los casos de TB se producían por reactivación de una infección latente, sin embargo, en los últimos años con la aplicación de técnicas de biología molecular ha cobrado importancia el papel de la transmisión reciente. Generalmente se acepta que los casos de TB que presentan cepas de *M. tuberculosis* con patrón idéntico de la secuencia de inserción IS6110, aisladas de dos o más personas (cepas o patrón en conglomerado), representan infección exógena reciente; mientras que los infectados con cepas cuyos patrones no son observados en otros aislamientos clínicos (patrones únicos) son considerados para representar enfermos por reactivación endógena (Small PM et al, 1994; van Soolingen D, 2001; Nguyen LN et al, 2004). Sin embargo, algunos autores señalan que se deben tomar algunas precauciones al interpretar casos en conglomerado para estimar la verdadera tasa de transmisión de tuberculosis porque los casos en conglomerado pueden variar dependiendo de las características del huésped y la población estudiada (Murray M, 2002; Murray M and Nardell E, 2002). En áreas rurales, los genotipos similares no necesariamente pueden ser un indicador de infección reciente (Braden CR et al, 1997), en comunidades con poca movilidad poblacional algunas cepas de *M. tuberculosis* pueden permanecer estables y el mismo genotipo puede ser encontrado entre pacientes que nunca han estado en contacto (Hermans PWM et al, 1995; van Soolingen D, 2001). Además, otros factores pueden

ocasionar aumento de genotipos similares tales como la reactivación simultánea (puede ser causada por inmunocompromiso) de una infección con la misma cepas de *M. tuberculosis*, la cual fue adquirida años atrás (coincidencia temporal); el dominio regional de una cepa bacteriana dispersada por largo tiempo (cepa endémica); un cambio por casualidad en la localización de la secuencia de inserción en el mismo sitio, y por error de laboratorio (Glynn JR et al, 1999; Kulaga S et al, 1999).

La reinfección exógena es frecuente en las regiones en las que existe una amplia circulación del bacilo. La disponibilidad de técnicas de biología molecular ha permitido demostrar la ocurrencia de reinfecciones exógenas con desarrollo de tuberculosis en individuos que habían padecido la enfermedad (Sonnenberg P et al, 2001; Lambert ML et al, 2003; Chen-Yuan C et al, 2005).

Factores asociados a transmisión reciente

Diversos estudios han combinado el uso de datos epidemiológicos convencionales con los de tipificación molecular de *M. tuberculosis*. Estas técnicas se han utilizado como herramienta complementaria en la confirmación de la transmisión nosocomial de la TB (Velázquez et al, 1997), en estudios de transmisión de TB en población de alto riesgo, como son personas internadas en instituciones penitenciarias (Chavez et al, 1997), residentes en albergues (Barnes PF et al, 1997), enfermos con SIDA, y en estudios poblacionales de transmisión de TB (Small PM et al; 1994, van Soolingen D et al 1997). Sin embargo, otro objetivo de la epidemiología molecular ha sido la identificación de factores asociados a transmisión reciente.

Existen diferentes factores relacionados a la transmisión de tuberculosis, algunos son factores intrínsecos para la susceptibilidad del huésped que influyen en el balance entre el bacilo tuberculoso y las defensas inmune del huésped, incluye la infección por VIH, tratamiento inmunosupresivo, diabetes, desnutrición y alcoholismo (Reider HL, et al 1989). Mientras que otros factores afectan el riesgo de infección o de enfermar, son extrínsecos a la susceptibilidad del huésped y están relacionados al ambiente, tal como el hacinamiento, residencia urbana y bajo nivel socioeconómico (Comstock GW, 1982); algunos que afectan el riesgo de enfermar después de la infección son consecuencia de la interacción humana con el ambiente. Estos factores son discutidos en la siguiente sección.

Migración

El impacto de la población inmigrante sobre la epidemiología de tuberculosis en la población de una comunidad ha sido percibido como un problema importante de salud pública en los países desarrollados (Burgos MV et al, 2002). Diversos países desarrollados presentan considerables niveles de inmigración, las personas extranjeras contribuyen al incremento de la incidencia de TB y al sostén

de las tasas de TB (MMWR 1993; Orr PH et al, 1990; Stehr-Green JK, 1990); actualmente, de la proporción de casos de TB más del 50% corresponde a los inmigrantes en países europeos incluyendo Dinamarca, Holanda (países bajos), Noruega, Suecia y Suiza (Schwoebel V et al, 1999); así como en norteamérica, Canadá y Estados Unidos (Hernandez-Garduño E et al, 2002; Talbot EA et al, 2000). La inmigración ha contribuido sustancialmente al cambio en la epidemiología de TB en los Estados Unidos, durante la década de los 80s y a principios de los noventa se consideró un factor importante en el resurgimiento de TB.

Sin embargo, múltiples estudios de epidemiología molecular en estos grupos han mostrado que personas inmigrantes tienen más probabilidad de tener aislamientos únicos que en conglomerado, y actualmente existe poca evidencia de que las personas inmigrantes diseminen la TB a los nativos del país (Hopewell PC, 1998; Alland D et al, 1994; Bordin MW et al, 2000). El desarrollo de TB en inmigrantes es más probable que sea como consecuencia de reactivación de una infección previa más que a infección reciente (Small PM et al, 1994). Estos hallazgos han ayudado a quitar el temor de que los inmigrantes sean una fuente infecciosa de transmisión de la enfermedad y a enfocar la atención en la transmisión entre los no migrantes en países desarrollados (Bloom BR, 2002).

Aunque varios estudios han mostrado que el riesgo de TB es mayor en los primeros 3-5 años después de llegar al país huésped (Talbot EA et al, 2000; McKenna MT et al, 1995), otros muestran que si residen por un periodo largo se incrementa con la edad (Zuber PL et al, 1997). Estos resultados son consistentes con la hipótesis ampliamente aceptada de que personas inmigrantes son infectadas en su país de origen y que la enfermedad primaria pueden desarrollarla poco después de inmigrar o que las personas permanecen en riesgo para reactivar la enfermedad por el resto de sus vidas (Murray MB, 2002).

En Dinamarca, durante 1992, se analizaron mediante RFLP el 92% (270) de los aislamientos de *M. tuberculosis*; 155 pacientes eran originarios de este país, nueve eran inmigrantes de Groenlandia y 104 eran inmigrantes de 27 países. La comparación de pacientes daneses con los pacientes extranjeros reveló que la mayoría de los aislamientos importados mostraron patrones de RFLP únicos. Los pacientes daneses tienen mayor riesgo de pertenecer a cadenas de transmisión comparado con los inmigrantes. El posible retraso en el diagnóstico y tratamiento de TB en los pacientes daneses, comparado con los pacientes extranjeros, podrían haber facilitado la transmisión de la enfermedad en la población nativa (Yang ZH et al, 1995).

Bauer y coautores reportaron resultados de un estudio a nivel nacional en Dinamarca en un periodo de cinco años. Incluyeron 1700 pacientes de los cuales 1549 presentaron aislamientos con ≥ 5 copias de IS6110, el 49% estuvo infectado con una cepa en conglomerado (dos o más pacientes con idéntico patrón de RFLP). Entre los inmigrantes (45% de la población estudiada) el 30%

mostró aislamiento en conglomerado, así es que la infección entre los inmigrantes en Dinamarca es más frecuente por reactivación de cepas con la cual ellos fueron previamente infectados en sus países de origen. En comparación, el 57% de la población danesa tuvo una cepa de *M. tuberculosis* en conglomerado. La presencia de inmigrantes en los dos clusters principales de cepas conglomeradas es debido a la transmisión de TB de daneses a inmigrantes, en ambos conglomerados fueron observados un gran número de pacientes nativos antes que los pacientes extranjeros. De acuerdo con sus datos, la transmisión de inmigrantes a daneses no es un problema, ya que se han encontrado pocos casos entre daneses e inmigrantes (Bauer J et al, 1998). En el estudio de transmisión de TB entre los inmigrantes somalíes residentes en Dinamarca, 55% de los casos fueron agrupados. Aunque es posible que algunos de los casos agrupados fueron adquiridos en Somalia, como los autores sugieren, es quizá igualmente plausible que la TB está siendo igualmente transmitida dentro de comunidades inmigrantes en el país huésped. Esto puede ser especialmente entre inmigrantes muy recientes, posiblemente, porque las condiciones socioeconómicas en las cuales se encuentran permite la transmisión de infección en el área (Lillebaek T et al, 2002).

En un estudio realizado en Amsterdam, entre los pacientes extranjeros ser originario de Surinam o Antillas Holandesas fue factor de riesgo para tener TB por transmisión reciente (van Deutekom H et al, 1997). En Italia encontraron que entre los pacientes sin SIDA, los nativos mostraron más riesgo de transmisión reciente de TB (OR 1.44, IC95% 1.08-1.92) (Moro ML et al, 2002). En Londres, Maguire y colaboradores (2002) observaron en un periodo de dos años que el 81% de los pacientes de TB son extranjeros, no obstante, identificaron que ser nativo de Inglaterra estuvo asociado con agrupamiento de cepa, y sugieren que una alta proporción de los extranjeros adquirieron la TB fuera de Inglaterra y pueden formar parte de un conglomerado que no se observa en el estudio. Similarmente, en Noruega encontraron que los pacientes extranjeros tenían menor probabilidad de estar en conglomerado (OR 0.2, IC95% 0.1-0.4) (Heldal E et al, 2003).

En un estudio realizado en el distrito Ciutat Vella de Barcelona, observaron que ser inmigrante “protege” contra infecciones recientes, reflejando el hecho que inmigrantes de zonas de alta prevalencia no incrementan la transmisión de TB en esta área (Solsona J et al, 2001). Sin embargo, en la Isla Gran Canaria de España, con base en la información de los dos clusters más grandes (75 y 49 pacientes por conglomerado) observaron que los migrantes tenían mayor riesgo de desarrollar tuberculosis por transmisión reciente (OR 2.05, IC95% 1.01-4.18). Es relevante, en ese estudio, el impacto de una sola cepa de *M. tuberculosis*, la cual entró por un inmigrante africano en 1993 (Pena MJ et al, 2003). Al parecer esta cepa se diseminó entre la población susceptible, incluyendo personas VIH positivos, usuarios de drogas e inmigrantes (Caminero JA et al, 2001). Estos resultados mostraron la necesidad de incrementar las medidas de control, principalmente en la población inmigrante.

En Canadá, Hernández-Garduño y coautores usaron tipificación molecular para clasificar los aislamientos de *M. tuberculosis* disponibles en Vancouver en un periodo de tres años. Aun cuando encontraron que nacer fuera estuvo fuertemente asociado con la probabilidad de tener un aislamiento único, también reportaron que la mitad de los casos agrupados incluían personas extranjeras (Hernández-Garduño E et al, 2002). Kulaga y coautores reportan en un estudio similar en un período de dos años en Montreal, que los nacidos en Haití tuvieron más riesgo para pertenecer a un conglomerado (Kulaga S et al 2002). A pesar de estas diferencias ambos estudios muestran que aproximadamente el 80% de los casos de TB reportados en estas ciudades ocurren en personas extranjeras. Claramente, este grupo permanece en riesgo para TB y debería ser el blanco de futuras estrategias de control.

En Estados Unidos ha sido bien documentada la dinámica de transmisión de tuberculosis entre personas inmigrantes, debido a que una gran proporción de casos de TB ocurren en personas extranjeras. Sin embargo, en todos los estudios desarrollados en Estados Unidos se observa que la población nativa tiene más riesgo de presentar tuberculosis por transmisión reciente. Small y coautores en el estudio de San Francisco realizado durante 1991 y 1992, tipificaron 473 aislamientos de *M. tuberculosis*, estimaron que al menos el 31% casos fueron por infección reciente. El análisis de riesgo para clustering después de ajustar por edad y sexo muestra que las personas nacidas en Estados Unidos fueron más probables de estar en conglomerado (OR 5.8 IC95% 2.5-13.2). El desarrollo de tuberculosis en inmigrantes es más probable que sea como consecuencia de reactivación de la infección previa más que a infección reciente (Small PM et al, 1994). Similarmente, en el estudio sobre diseminación de *M. tuberculosis* a través del área de la Bahía de San Francisco durante 1992-1993, en el análisis univariado observaron que ser nativo de Estados Unidos fue un factor de riesgo para tener un aislamiento en conglomerado (Bradford WZ et al, 1998).

La migración de personas ya infectadas con *M.tuberculosis* en San Francisco parece ser responsable de la mayoría, si no de todos, los casos de TB en extranjeros en la ciudad. Porque la mayor parte viene de países con alta prevalencia de TB, se observó evidencia más directa en apoyo a la fecha sustentando el argumento que la mayoría de personas extranjeras desarrolló TB por reactivación de la infección adquirida previamente a su llegada a los Estados Unidos (Chin DP et al, 1998). También, en San Francisco durante 1991 a 1996, uno de los factores asociados con la transmisión de tuberculosis fue el lugar de nacimiento. Los nativos de Estados Unidos tuvieron un mayor índice de transmisión (0.59) que los extranjeros (0.21). Los casos de tuberculosis originarios de Estados Unidos generaron más casos secundarios que los inmigrantes (Bordorff MW et al, 2000). Resultados similares se encontraron en Los Ángeles, California, entre los factores más comunes asociados con cepa en conglomerado fueron ser nativo de Estados Unidos (Barnes PF et al, 1997).

La separación epidemiológica entre la población nativa y extranjera es probablemente el resultado de diversos factores. Desde una perspectiva sociocultural, nuevos extranjeros llegando a Estados Unidos quienes tienen en sus países altas tasas de TB, es más probable que vivan con otras personas extranjeras de su comunidad étnica; esto reduce la probabilidad que la TB podría ser transmitida de estos enfermos a otras personas nativas de USA. Biológicamente, personas nacidas en países donde la incidencia de TB es alta es probable que hayan sido infectadas con *M. tuberculosis* previo a su llegada a Estados Unidos (Chin DP et al, 1998).

En un estudio sobre transmisión de TB en Nueva York, realizado en un periodo de tres años, los pacientes extranjeros no presentaron cepas en conglomerado, lo cual implica que son casos importados y no debido a transmisión reciente en esta área (Alland D et al, 1994). Similarmente otro estudio en Nueva York, durante 1992-1994 en seis hospitales a través de la red de vigilancia activa de tuberculosis mostró que los nativos de Estados Unidos tuvieron más riesgo de tener una cepa en conglomerado (Sepkowitz KA et al, 1995). También en Nueva York, Geng y coautores tipificaron 546 aislamientos de *M. tuberculosis* de los cuales cerca de la mitad perteneció a un conglomerado (transmitido recientemente) y el resto fueron patrones únicos (interpretando como enfermedad reactivada). El análisis muestra que las personas nacidas fuera de Estados Unidos fueron menos probables de estar en conglomerado (OR 0.47 IC95% 0.33-0.67). Sin embargo, los pacientes de TB que han estado en Estados Unidos por menos de 10 años y que eran VIH positivo, casi la mitad tuvieron aislamientos agrupados, lo cual sugiere transmisión reciente (Geng E et al, 2002).

En Houston Texas, El Sahly y coautores (2001) estudiaron las diferencias epidemiológicas entre pacientes de TB nativos de Estados Unidos y extranjeros. La proporción de cepas de *M. tuberculosis* en conglomerado (29%) entre los pacientes extranjeros en Houston fue más alta que la reportada en San Francisco (21%), New York City (12.5%) y los Ángeles (26%) (Small PM 1994, Alland D 1994, Barnes PF 1997). Estos resultados sugieren que puede ocurrir más fácilmente la transmisión entre pacientes extranjeros en Houston que en otras áreas grandes metropolitanas de Estados Unidos (El Sahly et al, 2001). Algunos de los factores de riesgo para cepa en conglomerado entre los pacientes extranjeros (personas sin hogar, uso de drogas ilegales y consumo de alcohol) fueron similares en los pacientes nativos de Estados Unidos. Sin embargo, el análisis de regresión logística reveló que ser una persona sin hogar fue un factor predictor de cepa en conglomerado entre los extranjeros. Mientras en los pacientes nativos de Estados Unidos, etnicidad negra, bajo ingreso, alto nivel de escolaridad y personas sin hogar fueron predictores independientes de cepa en conglomerado.

En Maryland, evaluaron la transmisión reciente de tuberculosis, para lo cual tipificaron 1,172 (99%) de los aislamientos de *M. tuberculosis* obtenidos durante cinco años (1996-2000). El análisis muestra que la transmisión de personas extranjeras a los nativos de ese país es poco común, no obstante los extranjeros fueron la fuente infecciosa de todos los casos secundarios en inmigrantes. La

mayoría de la transmisión reciente ocurre entre personas nativas de Estados Unidos, quienes tienen, al menos un factor de riesgo en común, tal como infección de VIH o uso de drogas ilegales. En contraste, la transmisión entre personas extranjeras ocurre exclusivamente en la casa entre personas que no tienen otro riesgo excepto provenir de un país de alta incidencia o tener exposición cercana al caso fuente. Con el incremento del tiempo de residencia los pacientes extranjeros comparten riesgos con los nativos. Respecto a la fuente de contagio de extranjeros a nativos, la enfermedad es principalmente transmitida a personas cuyo riesgo fue haber estado expuesto en su lugar de trabajo o en algún ambiente público como escuela, hospital o iglesia (Cronin WA et al, 2002).

Grupo étnico

Algunas minorías étnicas presentan mayor riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, lo cual subraya la importancia de estrategias de prevención y control en estos grupos susceptibles para interrumpir la transmisión de esta enfermedad. Además de los factores sociales, la genética del huésped y la virulencia de la cepa juegan un papel importante en la transmisión de la enfermedad (Stead WW 2001; Kato-Maeda M et al 2001). La susceptibilidad o resistencia del huésped está regulada por el polimorfismo del genoma humano, existen genes que confieren resistencia innata a enfermedades infecciosas, como se ha considerado al gen *NRAMP1* (Natural resistance associated macrophage protein) se traduce como proteína del macrófago asociada a resistencia natural. El gen *NRAMP1* es sumamente importante en las etapas tempranas y principalmente en la primera fase de respuesta del huésped contra *M. tuberculosis*; por ende, una mutación o delección del gen propicia la permisividad para la infección. Sin embargo, no es el único gen involucrado, se han reportado como factores de susceptibilidad a genes codificadores de receptores de interleucina 12 a nivel linfocitario, a receptores codificadores de interferon gamma a nivel de la membrana del macrófago, y otro gen que codifica a la proteína óxido nítrico sintetasa que al estar mutado se presentan fallas en las funciones bactericidas y bacteriostáticas del macrófago. Resultados preliminares sugieren que las personas indígenas en Canadá (Greenwood CMT et al, 2000), similar a otras personas indígenas (Bellamy R et al, 1998), tienen la delección del gen *NRAMP1*, lo cual los predispone a adquirir tuberculosis activa. En el estudio de epidemiología molecular de tuberculosis realizado en Londres observaron que el grupo étnico afroamericano presentó mayor proporción de cepas en conglomerado (54%) e identificaron que este grupo tuvo más riesgo de desarrollar TB por infección reciente (OR 2.19, IC95% 1.15-4.16) (Maguire H et al, 2002).

En Vancouver, en un estudio de tuberculosis con base poblacional para determinar los factores asociados a pertenecer a conglomerado, encontraron que el predictor más importante para tener una cepa en conglomerado fue ser indígena canadiense (OR 6.0, IC95% 3.0-11.7). Entre los indígenas jóvenes el riesgo se incrementó a casi ocho veces, lo cual sugiere que este grupo juega un papel importante en la transmisión de tuberculosis en esa región; en los indígenas ancianos no se estimó el riesgo porque sólo hubo

cuatro pacientes (Hernandez-Garduño E et al, 2002). Esto es compatible con que los indígenas de Canadá tienen la delección del gen *NRAMP1*, el cual los predispone a adquirir tuberculosis activa (Greenwood CMT et al, 2000). Similarmente, en Manitoba, Blackwood y coautores reportaron que los indígenas canadienses tuvieron más riesgo de presentar un aislamiento en conglomerado (OR 4.11, IC95% 2.16-7.8). También encontraron una cepa dominante (FP1), la cual estuvo presente en el 75% de los indígenas. El estudio de contacto reveló una considerable transmisión entre familiares y amigos, es muy probable que estaba en curso la propagación de un brote en esta subpoblación. La presencia de un alto porcentaje de casos de TB pulmonar con baciloscopia positiva entre los pacientes con la cepa FP1, sugiere que en este subgrupo puede ser transmitido más eficientemente que en otros subgrupos. Diversos factores potenciales pueden contribuir a incrementar el riesgo en esta subpoblación incluido pobreza, hacinamiento, densa red social, retraso en el diagnóstico y tratamiento, incremento de susceptibilidad a la infección debido al pobre nivel de salud, y el incremento en la prevalencia de abuso de sustancias prohibidas. La razón para la dominancia de la cepa FP1 permanece desconocida, aunque se piensa que fue la primera en introducirse a Manitoba, esta cepa en particular puede ser más virulenta que otras introducidas a la población (Blackwood KS et al, 2003).

En Estados Unidos diversas investigaciones han mostrado que ser de una minoría étnica, principalmente afroamericana, es un factor de riesgo para transmisión reciente de TB. En San Francisco, California, Small y coautores observaron diferencias entre los pacientes jóvenes y viejos en el análisis multivariado de los factores de riesgo para cepa en conglomerado. Los factores de riesgo independientes en los pacientes menores de 60 años de edad fueron ser afroamericano (OR 2.3, IC95% 1.1-4.5) y latinoamericano (OR 3.3, IC95% 1.2-8.6); en contraste, en los pacientes de 60 años o más, de origen asiático estuvo asociado con menor probabilidad de pertenecer a un conglomerado (OR 0.1, IC95% 0.02-1.0). Es probable que muchos pacientes de mayor edad con infección latente desarrollen la enfermedad por reactivación (Small PM et al, 1994). En el área de la Bahía de San Francisco, a través del análisis univariado, Bradford y colaboradores detectaron que el grupo afroamericano tuvo más riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 1.96, $p = 0.043$). Sin embargo, el análisis multivariado mostró asociación con personas de origen asiático (OR 3.43, IC95% 1.59-7.42). Es probable que una alta proporción de pacientes asiáticos desarrollan tuberculosis como resultado de una reactivación de la infección adquirida en tiempo y lugares distantes (Bradford WZ et al, 1998). Bendorff y colaboradores reportaron que en San Francisco, los pacientes de TB afroamericanos tuvieron un índice de transmisión elevado; esta relación no se explicó por la positividad del esputo, por la infección de VIH o por la mayor susceptibilidad a la progresión de la enfermedad. Esto sugiere que los afroamericanos jóvenes son un grupo de alto riesgo para la transmisión de TB. Es probable que los afroamericanos tengan menor acceso a los servicios de salud que otros grupos étnicos, lo cual podría explicar el incremento en el índice de transmisión (Bendorff MW et al, 2000).

En un estudio realizado en Nueva York identificaron que una alta proporción de aislamientos en conglomerado pertenecían a pacientes afroamericano (40.2% vs 26.3%, $p = 0.042$) (Sepkowitz et al, 1995). Similarmente, Freiden y coautores (1996), en Nueva York observaron que los pacientes africano-americanos tienen mayor riesgo de tener cepa en conglomerado comparado con los de otras poblaciones (OR 2.1, $p = 0.003$). Mientras que Bishai y coautores (1998), en Baltimore, observaron que en un grupo de pacientes con genotipo idéntico pero sin relación epidemiológica, fueron predominantemente afroamericanos (86%). En Houston, Texas, entre los pacientes nativos de Estados Unidos, uno de los factores más predictivos para transmisión reciente fue ser afroamericano (OR 1.49, IC95% 1.0-2.22) (El Sahly et al, 2001). De igual forma, en Maryland, Cronin y colaboradores (2002) reportaron que los pacientes de TB afroamericanos tuvieron mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad por infección reciente. En Alabama realizaron un estudio con base poblacional para identificar los factores asociados a transmisión reciente de tuberculosis. Entre las cepas que mostraron patrones de RFLP con ≤ 6 bandas, se encontró una fuerte asociación en relación al grupo afroamericano y cepa en conglomerado (OR 1.7, IC95% 1.2-2.2). La asociación del grupo afroamericano y transmisión reciente de TB enfatiza la disparidad con relación a otros grupos sobre el contagio de la enfermedad y la transmisión de TB (Kempf MC et al, 2005), como ha sido mostrado por Bordorff y coautores (2000).

Factores relacionados con el ambiente

Actualmente la tuberculosis y su resurgimiento se considera un fenómeno predominantemente urbano. En las zonas desfavorecidas de las grandes ciudades la incidencia de TB puede deberse en gran medida a la transmisión reciente de *M. tuberculosis*. Una combinación de factores sociales y biológicos han sido postulados para explicar esta situación. En muchas ciudades se ha incrementado el número de personas con VIH y la prevalencia de TB drogoresistente como consecuencia del deterioro socioeconómico y del sistema de salud (Brudney K and Dobkin J, 1991). No obstante, la proporción de casos de TB por transmisión reciente es menor cuando el estudio se realiza en zonas rurales con baja incidencia de enfermedad, como es el distrito de Aranjuez (Iñigo-Martínez J et al, 2003). Lo mismo ocurre en la zona rural de Manitoba, Canadá (OR 0.41, IC95% 0.20-0.83) (Blackwood KS et al, 2003). Este resultado coincide con el obtenido en áreas rurales de Estados Unidos, como el estado de Arkansas, donde la incidencia y la frecuencia de transmisión de la enfermedad son bajas (Braden C et al, 1997).

En Alabama, existe una alta tasa de transmisión de tuberculosis en el ambiente urbano, probablemente debido a la elevada transmisión entre la población consumidora de alcohol, usuarios de drogas y personas sin hogar (Kempf MC et al, 2005). Resultados similares se han encontrado en Nueva York, California y Maryland (Barnes CR et al, 1997; Jasmer RM et al, 1999; Tornieporth NG et al, 1997; van Soolingen D et al, 1999; Cronin WA et al, 2002). Residir en el área urbana fue un factor de riesgo asociado a tener cepa

en conglomerado (OR 1.9, IC95% 1.3-2.7) (Kempf MC et al, 2005), de forma similar en un estudio a nivel nacional en Holanda observaron que los pacientes de TB residentes de área urbana tuvieron mayor riesgo de transmisión reciente (OR 1.3, IC95% 1.1-2.5) (van Soolingen D et al, 1999).

En Sudáfrica identificaron que el 72% de los pacientes de TB tenía cepa en conglomerado. Los casos de Uitsig tuvieron mayor probabilidad de formar parte de los conglomerados más grandes que los de Ravensmead (OR 1.41, IC95% 1.05-1.89), esto es posible debido a que en Uitsig la tasa de incidencia es ligeramente más alta porque la población vive en condiciones de mayor pobreza y hacinamiento en relación con la otra comunidad urbana (Verver S et al, 2004). Mientras que en Teherán observaron que el hacinamiento y el desempleo contribuyeron de manera significativa en el desarrollo de TB (Farnia P et al, 2004).

Factores relacionados con el huésped

Edad y sexo

En la mayoría de los estudios realizados en ciudades de países desarrollados, la transmisión reciente de TB se asocia con edad joven, excepto en los estudios de París (Gutiérrez MC et al, 1998) y del Norte de Francia (Vachée A et al, 1999). Se considera que los ancianos con TB generalmente desarrollan esta enfermedad como consecuencia de reactivación, tal como se demuestra en varios estudios de epidemiología molecular (Yang ZH, 1994; Small PM et al 1994; Alland D et al, 1994; Zolhnir-Dov M et al, 2003). No obstante, en Teherán, ciudad capital de Irán, el análisis comparativo entre 56 (43%) pacientes en conglomerado y 73 (56.5%) con patrón único, reveló que ser joven estuvo asociado con agrupamiento, la mayoría de los casos (85.7%) en conglomerado era menor de 35 años, mientras que el 72.6% que no lo estaba, era mayor de 40 años. La tuberculosis en personas jóvenes es usualmente considerada como resultado de transmisión reciente, no obstante, el 14.2% de pacientes en agrupamiento fue mayor de 45 años, lo cual muestra que la infección también puede ocurrir en personas de mayor edad. Los pacientes del sexo masculino tuvieron mayor probabilidad de presentar un aislamiento en conglomerado (Farnia P et al, 2004).

En Madrid ha sido bien documentada la transmisión reciente de TB, Iñigo-Martínez y coautores (2000) detectaron como factor de riesgo para transmisión reciente de TB ser menor de 35 años (OR 4.2, IC95% 2.0-9.1), similarmente, en esta ciudad otro estudio mostró mayor riesgo en los jóvenes (OR 3.4, IC95% 1.9-6.2) (Iñigo-Martínez J et al, 2003), de igual forma esta relación fue observada por Cacho-Calvo y coautores (2005). Esta asociación también fue identificada en la isla Gran Canaria, España (Pena MJ et al, 2003).

En Amsterdam, entre los pacientes de TB holandeses, los jóvenes tuvieron mayor riesgo de pertenecer a un conglomerado. En el

análisis multivariado encontraron que los mayores de 60 años mostraron menor probabilidad de transmisión reciente (OR 0.10, IC95% 0.02-0.42), (van Deutekom H et al, 1997). Sin embargo, en otro estudio realizado a nivel nacional en Holanda, se observó que la infección reciente fue más frecuente en pacientes del sexo masculino (OR 1.25, IC95% 1.11-1.43) (van Soolingen D et al, 1999). Mientras que en Dinamarca los pacientes jóvenes (<60 años) y del sexo masculino tuvieron más riesgo de infección reciente (OR 3.1, IC95% 2.8-13.2; OR 2.0, IC95% 1.0-4.0) (Yang ZH et al, 1995).

Heldal y coautores reportaron resultados de un estudio a nivel nacional en Noruega en un periodo de cinco años. Incluyeron 861 (92%) casos de TB con cultivo positivo de los cuales 134 (15.5%) pacientes formaron parte de un conglomerado. Ser joven fue un factor de riesgo para transmisión reciente, el promedio de edad en los pacientes con aislamiento en conglomerado fue significativamente menor que en aquellos infectados con una cepa con genotipo único (35 y 54 años respectivamente). La proporción de los casos en conglomerado disminuía con el incremento de la edad de los pacientes (Heldal E et al, 2003).

En Paris, Francia, evaluaron los factores de riesgo en relación a la transmisión reciente de tuberculosis, mediante el análisis de 327 aislamientos de *M. tuberculosis* obtenidos durante un año, en 10 hospitales. Los resultados muestran que el sexo masculino fue uno de los factores fuertemente asociado a transmisión reciente (OR 3.8, IC95% 1.87-7.83), sin embargo, la edad del paciente no estuvo significativamente asociada (Gutiérrez MC et al, 1998). En Milan desarrollaron un estudio con base poblacional para determinar la proporción de casos de TB atribuibles a transmisión reciente. De los 581 casos, 239 pertenecieron a conglomerado, el 28% fue considerado como transmisión reciente. La presencia de cepa en conglomerado ocurrió más frecuentemente entre personas menores de 30 años (OR 1.43, IC95% 1.05-1.94), (Moro ML et al, 2002). De igual forma en Londres, los pacientes menores de 20 años tuvieron más riesgo de agrupamiento de cepas (OR 2.65, IC95% 1.59-4.44) (Maguire H et al, 2002). Blackwood y colaboradores (2003) reportaron que en Manitoba, Canadá, la infección reciente fue más común en pacientes jóvenes (OR 2.53, IC95% 1.20-5.34) y del sexo masculino (OR 1.96, IC95% 1.31-2.94).

En un estudio con base poblacional realizado en Alabama, ser joven estuvo asociado con conglomerado, se encontró una correlación negativa entre edad y transmisión reciente (Kempt MC et al, 2005), así como en estudios similares de Dinamarca (Yang ZH et al, 1995), Estados Unidos (Small PM et al, 1994; Bishai W et al, 1998; McConkey SJ et al, 2002; Cronin WA et al, 2002) y Cuba (Diaz R et al, 2001). Estos estudios muestran que la proporción de casos en conglomerado disminuye con la edad, indicando que el porcentaje de enfermos atribuible a reactivación endógena se incrementa con la edad. En Los Ángeles, California, encontraron que el grupo de 41 a 49 años de edad presentó mayor riesgo (OR 4.1, IC95% 1.1-15.1) de pertenecer a conglomerado en relación con

los más jóvenes (16-33 años) (Barnes PF et al, 1997). En el estudio realizado en Houston, la proporción de casos en conglomerado entre todos los grupos de edad fue similar, con dos excepciones: entre los pacientes de 35-44 años fue mayor la tasa de cepas en conglomerado (70%) que entre los mayores de 65 años (35%), (El Sahly et al, 2001).

Grupos de alto riesgo

El uso de drogas por vía intravenosa, el alcoholismo y la indigencia se asocian a la transmisión de la enfermedad, quizás porque en estos pacientes es más difícil conseguir la adherencia al tratamiento y la realización de estudios de contactos (Iñigo-Martínez J et al, 2003). En Baltimore el factor predictivo de conglomerado fue ser usuario de droga intravenosa (OR 4.0, IC95% 1.3-12.7), no se identificaron otros factores de riesgo independientes (Bishai W et al, 1998). Mientras que en algunas ciudades como Berna, Suiza, la tuberculosis es transmitida principalmente en grupos de alto riesgo, un conglomerado de 22 pacientes que pertenecían a un ambiente social bien definido: tal como personas sin hogar, drogadictos y alcohólicos (Genewein A et al, 1993). Similarmente, en Maryland, la transmisión reciente de TB fue más frecuente en grupos de alto riesgo incluyendo usuarios de droga, consumidores de alcohol, personas sin hogar y VIH positivos (Cronin WA et al, 2002). La infección por el VIH no se asocia a una mayor infectividad de tuberculosis, por lo que la presencia de casos con la misma cepa de *M. tuberculosis* entre estos pacientes puede reflejar mayor riesgo de desarrollar la enfermedad después de adquirir una infección reciente (Daley CL et al, 1992; Camarena JJ et al, 1998). Entre los enfermos hospitalizados, la infección de VIH se asocia a la presencia de cepa en conglomerado (Alland D et al, 1994; Safi H et al, 1997).

En Madrid, la comparación de pacientes de TB pertenecientes a conglomerados frente a los que tenían genotipos únicos, puso de manifiesto en el análisis de regresión logística que los usuarios de drogas por vía intravenosa tenían mayor riesgo de transmisión reciente (OR 4.4, IC95% 1.5-12.6), no obstante en el análisis univariado también identificaron otros factores de riesgo como infección por VIH y estancia previa en prisión (Iñigo-Martínez J et al, 2000). De igual forma, otro estudio en esta ciudad reveló que la estancia previa en prisión fue factor de riesgo para tener cepa en conglomerado (OR 4.0; IC95% 1.5-10.5) (Iñigo-Martínez J et al, 2003). En la isla Gran Canaria, considerando dos conglomerados principales (75 y 49 pacientes), también observaron mayor riesgo en los usuarios de drogas inyectadas (OR 2.77, IC95% 1.68-4.55), estancia previa en prisión (OR 2.79, IC95% 1.44-5.38) e infección por VIH (OR 1.77, IC95% 1.15-2.73) (Pena MJ et al, 2003). En el Distrito Cuitat Vella de Barcelona, los usuarios de droga intravenosa presentaron más riesgo de infección reciente (OR 2.78, IC95% 1.17-6.64) (Solsona J et al, 2001).

En Amsterdam, entre los pacientes de TB extranjeros ser usuario de drogas y consumir alcohol fueron factores de riesgo para presentar cepa en conglomerado (OR 2.84, IC95% 1.19-6.77; OR 3.69, IC95% 1.15-11.84, respectivamente). Los extranjeros indígenas usuarios de drogas y consumidores de alcohol en esta ciudad generalmente son jóvenes y llevan una vida más social que los holandeses de los mismos grupos, lo cual puede aumentar la probabilidad de transmisión reciente (van Deutekom H et al, 1997). En un estudio realizado a nivel nacional en Holanda, también identificaron asociación entre usuario de droga y conglomerado (OR 3.3, IC95% 2.0-5.2) (van Soolingen D et al, 1999). Similar asociación se observó en Teherán (Farnia P et al, 2004). Mientras que en Vancouver observaron entre los factores predictivos de transmisión reciente fueron ser usuario de drogas intravenosas y personas sin hogar (Hernandez-Garduño E et al, 2002). El abuso de alcohol es un problema de salud pública importante en Eslovenia y es un factor de riesgo para el desarrollo de TB. Los factores predictores más relevantes en este país fueron no tener hogar y consumo excesivo de alcohol (OR 5.73, IC95% 1.21-27-13; OR 1.88, IC95% 1.05-1.89; respectivamente) (Zolhnir-Dov M et al, 2003).

Gutiérrez y coautores (1995) en París, identificaron en el análisis univariado que los pacientes consumidores de alcohol tuvieron más riesgo de transmisión reciente (OR 2.41; IC95% 1.03-5.7). Similarmente, en Londres, la dependencia de alcohol fue factor predictivo de conglomerado (OR 2.33; IC95% 1.46-3.72) (Maguire H et al, 2002). Esta asociación también se encontró en Alabama (OR 2.2, IC95% 1.6-3.0). La transmisión reciente parece ser predominante entre los que consumen alcohol en exceso y en grupos de riesgo, tal como las personas sin hogar; sin embargo, en el análisis univariado también se observó mayor riesgo en los usuarios de drogas no inyectadas (Kempf MC et al, 2005).

Personas sin hogar

En París, Francia, identificaron que ser una persona sin hogar fue uno de los factores fuertemente asociado con cepa en conglomerado (OR 4.4, IC95% 2.03-9.68). Esta asociación varía de acuerdo con el número de pacientes en el grupo, se observó una relación directamente proporcional ya que a mayor tamaño del conglomerado, mayor número de casos sin hogar (Gutiérrez MC et al, 1998).

En Estados Unidos diversos estudios han identificado que las personas sin hogar tienen mayor riesgo de infección reciente de TB, como en el realizado en Nueva York (Freiden TR et al, 1996), Alabama (Kempf MC et al, 2005) y Los Ángeles (Barnes PF et al, 1997). En este último, además, consideraron en el análisis una puntuación de persona sin hogar para lo cual hicieron las siguientes agrupaciones: asignaron cuatro puntos para quien dormía en refugios o en la calle, tres puntos al que dormía en una residencia de rehabilitación, dos puntos a quien dormía solo en una habitación de hotel, un punto para el que dormía en casa de un amigo o familiar y ningún punto para el que dormían en su hogar; observaron una correlación positiva del marcador con transmisión reciente (Barnes

PF et al, 1997). Entre los pacientes de TB nativos de Estados Unidos y los extranjeros que viven en Houston, observaron que no tener hogar es un fuerte factor predictivo de cepa en conglomerado (OR 1.80, IC95% 1.3-2.8; OR 5.19, IC95% 1.43-18.8; respectivamente), (El Sahly et al, 2001).

Antecedentes de estancia en prisión

Entre los factores de riesgo para transmisión reciente de *M. tuberculosis*, ha sido reportado tener antecedentes de estancia en prisión (Braden CR et al, 1997). Lockman y coautores (2001) realizaron un estudio con base poblacional entre pacientes de TB en Botswana. Identificaron que 125 (42%) casos de los 301 participantes, presentaron cepa en conglomerado, el análisis de riesgo reveló que solamente el antecedente de estancia en prisión fue factor de riesgo relacionado a conglomerado (OR 1.5, IC95% 1.10-2.0). Similarmente, en Italia, Moro y colaboradores (2002) observaron que la presencia de cepa en conglomerado ocurrió más frecuentemente entre personas con historia de encarcelamiento (OR 2.03, IC95% 1.41-2.92), esta asociación también se encontró en Madrid (OR 4.0, IC95% 1.5-10.5) (Iñigo-Martinez J et al, 2003).

Patologías asociadas

Las personas jóvenes con patología asociada como el SIDA tienen mayor riesgo de pertenecer a un conglomerado (OR 1.8, IC95% 1.0-3.3), probablemente por la combinación de efectos de un intervalo acortado entre la infección y la enfermedad activa, así como la tendencia de los pacientes con SIDA de estar juntos para su tratamiento médico y vivienda (Small PM et al, 1994). En San Francisco, Bradford y coautores (1998) detectaron que los pacientes de TB con diagnóstico de SIDA tuvieron más riesgo de presentar cepa en conglomerado (OR 1.89, IC95% 1.0-3.57) (Bradford WZ et al, 1998), esto es compatible con la tendencia de los pacientes infectados con VIH de adquirir una infección nueva de *M. tuberculosis* con rápida progresión a enfermedad activa (Daley CL et al, 1992).

Drogorresistencia

Se ha sugerido que las cepas resistentes son menos virulentas que las sensibles (van Soolingen D et al, 1997; Dye C et al, 2002; Daley CL, 2002). En Holanda, estar infectado con una cepa resistente a isoniacida fue un factor para no ser parte de un conglomerado (OR 0.7, IC95% 0.05-0.9), (van Soolingen D et al, 1997), tal como se observó en Sudafrica con las cepas multidrogorresistentes (OR 0.27, IC95% 0.09-0.83), aunque, en este caso, el fracaso del tratamiento estuvo asociado a conglomerado (OR 3.41, IC95% 1.25-9.27) y el efecto fue más fuerte al considerar los grupos con dos o tres pacientes (OR 7.48, IC95% 1.84-30.4), lo cual apoya la idea de que pacientes con fracaso de tratamiento son casos fuentes más que casos secundarios (Godfrey-Faussett P et al, 2000).

No obstante, Dahle y coautores sugieren que las cepas multidrogorresistentes pueden incrementar la probabilidad de transmisión de la infección. Además, la drogorresistencia puede ser un indicador de mala calidad en el tratamiento, debido a errores en el servicio de salud (falla en la observación directa del tratamiento), por inadecuada prescripción, toma irregular del medicamento, que pueden prolongar el periodo de infectividad. El mayor brote identificado por RFLP en Noruega, fue debido a cepas de *M. tuberculosis* resistentes y multidrogorresistentes. Estas cepas fueron obtenidas principalmente de refugiados somalies en Oslo (Dahle UR et al, 2003), lo cual pudo influir en los resultados.

En Noruega, Heldal y colaboradores (2003) observaron que estar infectado con una cepa resistente a isoniacida o multidrogorresistente fue factor de riesgo para formar parte de un conglomerado (OR 3.1, IC95% 1.4-6.6; OR 16.4, IC95% 3.2-83.3; respectivamente), (Heldal E et al, 2003). Similarmente, en Italia, Moro y coautores (2002) observaron entre los pacientes con SIDA, que la presencia de aislamiento en conglomerado estuvo asociada con cepa drogorresistente (OR 1.32, IC95% 1.07-1.63). Maguire y colaboradores (2002) en Londres, identificaron que la resistencia a estreptomicina estuvo asociada a conglomerado (OR 1.82, IC95% 1.15-2.88). De igual forma, en los distritos de Bata y Malabo de Guinea Ecuatorial, la drogorresistencia a los antifímicos fue más frecuente entre los pacientes en conglomerado (OR 3.1, IC95% 1.2-7.6) (Tudo G et al, 2004), también se observó en Nueva York (Freiden TR et al 1996).

Contacto con enfermos de TB

Kempf y coautores (2001) reportaron que los pacientes en Teherán, con historia familiar de TB tuvieron más riesgo de presentar una cepa en conglomerado.

Antecedente de TB

El antecedente de TB estuvo asociado con disminución en el riesgo de estar en un conglomerado (Small PM et al, 1994), en Vancouver un paciente con ese tuvo una tercera parte del riesgo de estar en conglomerado (OR 0.3, IC95% 0.1-0.8) (Hernandez-Garduño E et al, 2002). Sin embargo, en París observaron en el análisis univariado que haber padecido TB estuvo asociado con transmisión reciente (OR 2.41; 1.03-5.7) (Gutiérrez et al, 1995). Además, se ha reportado que el abandono del tratamiento antifímico y baciloscopia positiva son factores de riesgo para tener una cepa en conglomerado (OR 2.4, IC95% 1.08-5.1; OR 1.48, IC95% 1.03-2.13; respectivamente) (Verver S et al, 2004).

Diagnóstico de tuberculosis pulmonar

Desde la perspectiva de salud pública, las acciones más importante para reducir la transmisión de la tuberculosis es la identificación y tratamiento de los casos bacilíferos. La examinación microscópica del bacilo ácido alcohol resistente (BAAR) permanece como la principal herramienta bacteriológica para la detección de tuberculosis (Hueber RE et al, 1993). El diagnóstico de esta enfermedad depende, principalmente, de la identificación del bacilo, ya sea en el esputo o en otro material biológico. La prueba de rutina es la baciloscopia, aunque la sensibilidad es relativamente baja, ya que puede variar de 30-70% cuando es comparada con el cultivo (García-García ML et al, 1994). No obstante, la baciloscopia tiene dos grandes ventajas: es rápida y barata (Lazuardo M et al, 2000). Sin embargo, usando este método microscópico, es difícil distinguir *M. tuberculosis* de otros bacilos Ziehl-Neelsen positivos (Harris E, 1998).

El diagnóstico confirmatorio se efectúa mediante el cultivo del *M. tuberculosis*, que es considerado como el método de referencia o “estándar de oro”. El cultivo es positivo en aproximadamente el 80% de los casos (Levy H et al, 1989), se requieren por lo menos de 500 microorganismos/mL para obtener un cultivo positivo. Aunque es más sensible que la baciloscopia, el cultivo es más costoso y técnicamente más difícil de realizar (Lazuardo M et al, 2000; Zumla A et al, 1998).

El cultivo puede realizarse por dos métodos, la técnica tradicional mediante el desarrollo de colonias características en un medio sólido como el de Lowenstein-Jensen, que está disponible en muchos laboratorios de referencia, pero que tiene la desventaja de que los resultados se obtienen entre ocho y diez semanas después, debido a que el microorganismo es de lento crecimiento. El otro método es la técnica radiométrica (BACTEC), que ha permitido acortar notablemente el tiempo de obtención de los resultados, los cuales están disponibles de una a dos semanas (Sharp SE et al, 1997; Sharp SE et al, 2000, Kanchana MV et al, 2000). Una vez que se obtiene la cepa se realiza su identificación, se determina la sensibilidad a los antifímicos. En nuestro país, la utilización de cultivos y pruebas de drogasensibilidad como técnicas de rutina es poco frecuente (García-García ML et al, 1994).

Las técnicas de amplificación del ácido nucleico, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se presenta como una alternativa más rápida (requiere un día para procesarlo) que el cultivo, más sensible y específica que la baciloscopia, para la identificación de especies de *Mycobacterium* en la muestra. Es posible realizar el diagnóstico de tuberculosis por PCR a bajo costo, si no se utilizan kits comerciales que son extremadamente costosos. Esta técnica tiene la capacidad de diferenciar sobre bases genéticas, a *M. tuberculosis* de otras micobacterias (Wilson SM et al., 1993; Harris E, 1998) .

Métodos de tipificación molecular

El desarrollo de la biología molecular ha permitido identificar diversos elementos genéticos en el complejo de *M. tuberculosis*, que permiten distinguir y tipificar cepas distintas pertenecientes a la misma especie (Kato-Maeda M et al, 2001). La disponibilidad de la secuencia del genoma de *M. tuberculosis* ha permitido identificar a más de 30 elementos repetitivos adicionales (Cole ST, 1998). Sin embargo, la secuencia de inserción IS6110 es la más ampliamente utilizada y fue inicialmente descrita en 1989 (Thierry D et al, 1990). Este marcador comprende 1 355 pares de bases y pertenece a la familia IS3 de la secuencia de inserción. El número de copias de IS6110 (rango 0-25) y su localización en el cromosoma de *M. tuberculosis*, son muy variables entre los diferentes aislamientos (van Soolingen D et al, 1991). Esta secuencia es exclusiva del complejo *M. tuberculosis*, aun cuando se ha descrito que algunas cepas no tienen este elemento (Yuen LK et al, 1993; van Soolingen D et al, 1993; Agasino CB et al, 1998).

Los métodos de tipificación molecular se basan en que las personas infectadas por cepas de *M. tuberculosis* que tienen el mismo genotipo (huella genética) están epidemiológicamente relacionadas, mientras que las personas infectadas por genotipos distintos (patrones únicos) no lo están. No obstante, existen limitaciones metodológicas que se deben considerar al hacer el análisis, la probabilidad de encontrar un patrón único e interpretar esto erróneamente como un caso por reactivación endógena se incrementa con la corta duración del estudio y disminuye con el número de casos incluidos (Kulaga S et al 1999; Glynn JR et al, 1999). Entre las técnicas de biología molecular, que actualmente se están utilizando, se encuentra: el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción del ADN genómico (RFLP), el doble elemento repetitivo-PCR (DRE-PCR) y la espiligotipificación (spoligotyping).

RFLP

El RFLP es considerado como el método de referencia para la tipificación de cepas (Barnes PF et al, 2003). La técnica se basa en un protocolo estándar el cual analiza la secuencia IS6110 (Thierry D et al, 1990; van Embden JD et al 1993), las endonucleasas de restricción se adhieren al ADN micobacterial en los sitios específicos de secuencias repetitivas, produciendo la restricción de los fragmentos de ADN de diferentes tamaños, los cuales son separados por electroforesis. Los fragmentos de restricción de ADN son transferidos del gel de agarosa a una membrana de nylon por “southern blotting” e hibridizado con IS6110 marcado. Este método es específico y realiza una adecuada caracterización del IS6110. Sin embargo, presenta varias desventajas es costoso, lento, requiere trabajo intensivo y técnicamente demandante. Esta técnica solamente puede realizarse a partir del cultivo de *M. tuberculosis*, porque requiere de grandes cantidades de ADN y es necesario hacer subcultivos. Tiene un poder discriminatorio relativamente bajo para los aislamientos con menos de seis copias de IS6110 y deben ser analizados con otra técnica, como la secuencia polimórfica repetitiva

rica en Guanina-Citosina (PGRS) o spoligotyping. Además, requiere de un programa de computación y apoyo técnico para comparar, analizar e interpretar el gran número de patrones obtenidos. Esta técnica molecular se ha utilizado en diversos estudios epidemiológicos para conocer la dinámica de transmisión de la tuberculosis (Small PM et al., 1994; Pineda-García L et al, 1997; Tornieporth NG et al, 1997; Small PM, 1998), e identificar los grupos en mayor riesgo de transmisión reciente de tuberculosis (Ferreira MMC et al, 1996; Barnes PF et al, 1997).

DRE-PCR

El DRE-PCR es un método rápido y sencillo para subtipificar cepas de *M. tuberculosis*, que está basado en la amplificación de segmentos de DNA de *M. tuberculosis* por PCR localizado entre dos copias de elementos repetitivos (Friedman CR et al, 1995). Los elementos repetitivos son el IS6110 y el PGRS (polymorphic GC-rich repetitive sequence). El marcador PGRS presente en el plásmido recombinante TBN12, también se encuentra en cepas de *M. tuberculosis* y en otras especies de *Mycobacterium* (Ross BC et al, 1992; van Soolingen D et al, 1993). *M. tuberculosis* puede tener hasta 30 copias, el número y distribución varía de una cepa a otra. El fundamento de este procedimiento está basado en las distancias entre el elemento repetitivo y el número de copias de IS6110 y PGRS que varían de una cepa a otra. Estas variaciones permiten diferenciar el tamaño y número de los fragmentos amplificados de DNA, produciendo una sola banda patrón para diferentes cepas de *M. tuberculosis* (Friedman CR et al., 1995). El DRE-PCR es un método ampliamente accesible para estudios epidemiológicos, puede utilizarse para analizar una colección de aislamientos y determinar la distribución de cepas agrupadas contra no agrupadas, e identificar factores asociados a cepas agrupadas (Riley LW and Harris E, 1999).

Spoligotyping

Spoligotyping (spacer oligonucleotide typing) es un método de tipificación basado en PCR que interroga la secuencia directa repetidas de 36 pares de bases (pb) intercaladas con espacios únicos (secuencias no repetitivas), variando en tamaño de 35 a 71 pb. Todos estos espacios de nucleótidos entre la secuencia repetida pueden ser amplificados simultáneamente mediante iniciadores. La presencia o ausencia de estos espacios esta determinada por la hibridización de 43 oligonucleótidos derivados de secuencias espaciadas de *M. tuberculosis* H37Rv (Kamerbeek J et al, 1997). La técnica de spoligotyping es más rápida, no requiere de cultivo de cepas y es menos costosa que el RFLP (Goguet de la Salmoniere YO et al, 1997; Goyal M et al, 1999). A pesar de que tiene un menor poder discriminatorio que el RFLP (Mistry NF et al, 2002), tiene la ventaja específica de alto poder discriminatorio en cepas con bajo número de copias de IS6110 (Bauer J et al, 1999). Los resultados obtenidos por spoligotyping pueden ser completamente expresados en un simple formato digital. Así, la comparación inter e intralaboratorio debería ser igualmente reproducible (Kremer K et al, 1999).

Este método ha sido utilizado en estudios de epidemiología molecular y evolución genética de tuberculosis (Fang Z et al, 1999).

Planteamiento del problema

La tuberculosis está emergiendo asociada a la epidemia de VIH/SIDA, a la aparición de cepas multirresistentes y al deterioro de los programas de control (Sepkowitz KA, 1995). En el estado de Guerrero, la tuberculosis continúa siendo un problema grave de salud pública, como consecuencia de las malas condiciones socioeconómicas de la mayoría de la población. A su vez, esta enfermedad impide el desarrollo económico y social, y afecta la calidad y esperanza de vida de las personas que la padecen.

La tuberculosis afecta principalmente a los grupos más pobres de la sociedad, tal como los migrantes. En países desarrollados ha sido bien documentado el alto riesgo de TB en inmigrantes a Europa, Australia, Estados Unidos y Canadá (Weis SE et al, 2001, Talbot EA et al, 2000; Felten MK et al, 1998; Erikson M, 1997; Lambregts-van Weezenbeek CS, 1998). Guerrero es una de las cinco entidades federativas con mayor intensidad de movimientos migratorios del País y dentro del propio Estado. Acapulco es uno de los tres municipios de fuerte atracción migratoria en la entidad, sobre todo para la población indígena. La migración a temprana edad es inducida por las condiciones de las comunidades rurales remotas, con escasos caminos, transporte público deficiente, malas condiciones de vivienda, bajo nivel educativo, con pobreza extrema y alta marginación.

En diversos estudios de epidemiología molecular han identificado que la población indígena tiene más riesgo de desarrollar TB por infección reciente (Maguire H et al, 2002; Hernandez-Garduño E et al, 2002; Blackwood KS et al, 2003). En Guerrero la población indígena corresponde al 10% (308,420) de la población total del Estado, y está representada por cuatro grupos étnicos (náhuatl, mixteco, tlapaneco y amuzgo) que habitan en 35 de los 76 municipios de la entidad. Estos grupos indígenas tienen un nivel socioeconómico inferior al resto de la población del Estado, menor acceso a los servicios de educación, salud y más del 50% son monolingües, principalmente las mujeres. Como consecuencia, la desnutrición, la morbilidad y mortalidad general y materno infantil en estos grupos son más altas que las reportadas de la población general en la entidad. Además, la caída de la agricultura y el aumento de la pobreza no ha sido igual entre los indígenas y mestizos, precipitando la migración hacia las ciudades.

La tuberculosis cada vez se concentra más en la población más desfavorecida de los núcleos urbanos, donde existen factores de riesgo como las malas condiciones higiénicas, el abuso de drogas, la infección por VIH y la migración. Estudios previos han encontrado que en el área urbana existe mayor riesgo de desarrollar TB por transmisión reciente.

En la mayoría de los estudios realizados en países desarrollados, sobre factores de riesgo asociados a cepas en conglomerados, han identificado que los jóvenes tienen más riesgo de desarrollar TB por infección reciente. En algunos estudios han encontrado que los hombres presentan mayor riesgo de desarrollar TB por infección reciente. Además, algunas patologías tales como la diabetes, alcoholismo, drogadicción, desnutrición, SIDA e infección por VIH se asocian al desarrollo de enfermedad tuberculosa. Por ejemplo, el alcoholismo se ha sugerido como factor predisponente de desarrollo de enfermedad tuberculosa, debido a su asociación con el deterioro inmunológico o la desnutrición, que intervienen en la predisposición a padecer la enfermedad. También, este grupo de pacientes tienen mayor tendencia a incumplir con el tratamiento, con incremento en el periodo de transmisión.

Si bien es cierto que cada día las autoridades de salud ponen más atención al buen funcionamiento del Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis en México y en el Estado, este programa se basa en las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) e incluye vacunación con BCG (Bacilo de Calmette-Guérin), manejo de contactos, detección de casos y tratamiento con poliquimioterapia de corta duración y de tipo supervisado (Norma Oficial Mexicana). Sin embargo, los programas mundiales de control de la tuberculosis están siendo revisados (García-García ML et al, 1994), debido a que el programa no detecta cómo ocurre la transmisión reciente. Actualmente, la epidemiología molecular nos permite utilizar técnicas epidemiológicas y de biología molecular, para evaluar la dinámica de transmisión de alguna enfermedad en la comunidad.

En Guerrero existen tres factores que hacen que algunos problemas de salud se intensifiquen en ciertos sectores de la población: 1) es uno de los Estados con peores índices de pobreza y desarrollo, 2) hay una gran movilidad temporal de la población y 3) una proporción importante de la población es indígena. Es reconocido que hay factores que difícilmente se van a cambiar, sin embargo, es necesario realizar estudios que nos permitan conocer más sobre la dinámica de transmisión de la tuberculosis para identificar los grupos más vulnerables y los factores de riesgo susceptibles de modificar.

Justificación

A nivel nacional, Guerrero es una de las entidades con mayor incidencia de tuberculosis, en este estudio se pretende conocer la prevalencia de tosedores crónicos y los factores de riesgo asociados, en cinco regiones con población indígena del Estado. Esta información servirá para identificar los grupos con mayor riesgo de tos crónica y elaborar estrategias específicas de prevención y control que contribuyan a disminuir la transmisión de *M. tuberculosis*.

Dada la alta incidencia de tuberculosis y de tasa de abandono del tratamiento en el municipio de Acapulco, respecto a otros municipios del estado de Guerrero, con este estudio se pretende conocer las huellas digitales de las cepas de *M. tuberculosis* e identificar los casos de tuberculosis con aislamientos en conglomerados, asumiendo que la enfermedad fue por infección reciente y los aislamientos con genotipo único fueron consecuencia de una reactivación endógena.

En virtud de la importancia de la migración como un factor que puede estar asociado a la presencia de aislamientos en conglomerado, en el municipio de Acapulco, investigamos esta variable considerando como migrante a quien llegó a asentarse de forma permanente a este municipio. Se colectó la información epidemiológica necesaria para ver cuáles son los factores de riesgo asociados a la transmisión reciente de tuberculosis. Así como, identificar dónde se infecta la población indígena migrante.

Los resultados serán dados a conocer a varios niveles: de manera individual a cada uno de los participantes en el estudio (ya se entregó el resultado y, a quienes resultaron positivos, el tratamiento gratuito correspondiente); a las autoridades locales, municipales y estatales, y a la comunidad científica mediante pláticas y publicaciones.

A partir de este estudio se generará información sobre los factores de riesgo asociados a cepas en conglomerado para la planificación de acciones de salud con base en evidencia y lograr un mayor impacto en las acciones implementadas que coadyuven en el control de la tuberculosis pulmonar.

Preguntas de investigación

¿La tuberculosis entre los migrantes es debida a reactivación endógena o por infección reciente?

¿Están los indígenas enfermando por TB pulmonar como consecuencia de una infección reciente o por reactivación de una infección anterior?

¿Residir en el área urbana es un factor de riesgo para desarrollar TB por transmisión reciente?

¿Es el hacinamiento un factor de riesgo para desarrollar TB por transmisión reciente?

*¿Está la edad, el sexo, el estado civil y el consumo de alcohol asociado a infección reciente de *M. tuberculosis*?*

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Objetivo general

Identificar las cepas circulantes de *M. tuberculosis* y los factores de riesgo asociados a transmisión reciente de tuberculosis en el municipio de Acapulco.

Objetivos específicos

1. Analizar las huellas digitales de cepas de *M. tuberculosis* circulantes en el municipio de Acapulco.
2. Analizar la proporción de cepas agrupadas para evaluar la contribución de transmisión reciente y de reactivación en los casos detectados de tuberculosis pulmonar.
3. Identificar los factores de riesgo asociados a la transmisión de cepas agrupadas.
4. Evaluar los factores de riesgo asociados a tos crónica en cinco regiones del estado de Guerrero.

CAPÍTULO II

REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS

Factores de riesgos asociados a transmisión reciente de tuberculosis

Antecedentes de la revisión sistemática y metaanálisis

Durante mucho tiempo se consideró que cerca del 90% de todos los casos de TB eran consecuencia de reactivación endógena de una infección previamente adquirida (Burgos MV, 2002). Actualmente, la utilización de métodos de tipificación molecular en estudios poblacionales de tuberculosis (TB) han mostrado que incluso en países con baja incidencia de la enfermedad, una alta proporción de casos presenta conglomerado (grupos de pacientes infectados con la misma cepa de *M. tuberculosis*), esto es considerado como un indicador de transmisión reciente, mientras que los infectados con una cepa de genotipo único se considera que desarrollaron la enfermedad por reactivación endógena (Bauer J et al, 1998; Small PM et al, 1994; van Soolingen D et al, 1999). La caracterización es incompleta sobre todo en estudios con tamaño de muestra pequeña, porque los casos de TB en conglomerado no siempre representan transmisión reciente, debido a que en comunidades con poca movilidad poblacional algunas cepas de *M. tuberculosis* pueden permanecer estables y el mismo genotipo puede ser encontrado entre pacientes que nunca han estado en contacto (Hermans PWM et al, 1995; Braden CR et al, 1997; van Soolingen D, 2001).

En diversos estudios la infección reciente de tuberculosis ha sido asociada a una gran variedad de factores incluyendo edad joven, pertenecer a un grupo étnico minoritario, no tener hogar, consumo de alcohol y uso de drogas. Estos factores son compartidos entre pacientes de TB de diferentes comunidades mientras que otros son específicos para una comunidad en particular (Small PM et al, 1994). En esta revisión se pretende identificar los factores que influyen en la transmisión reciente de tuberculosis respecto a quienes presentan reactivación endógena.

Métodos de la revisión sistemática y metaanálisis

Estrategia de búsqueda

Se realizó una revisión sistemática de artículos publicados relacionados con factores de riesgo para transmisión reciente de tuberculosis. Los estudios se identificaron a través de una búsqueda computarizada en las siguientes bases de datos: PubMed, Ovid, CDSR, CINAHL y EMBASE. Los términos utilizados fueron “tuberculosis”, “molecular epidemiology”, “transmission” y “risk factors”. Se revisó la bibliografía de los estudios incluidos y de los artículos de revisión relevantes. En la búsqueda no se empleó ninguna restricción tal como idioma o texto completo. Una primera selección se hizo mediante la lectura del resumen de cada uno

de los artículos identificados en la revisión sistemática. Finalmente se analizó el texto completo de 44 documentos, de los cuales se descartaron 12 por no tener toda la información necesaria sobre la estimación del efecto e intervalos de confianza.

Criterios de selección de los estudios

En la revisión se incluyeron los reportes de estudios originales publicados en inglés o español, así como todos los artículos que contenían información sobre la asociación entre transmisión reciente de TB (conglomerado vs no conglomerado) y factores de riesgo. Sin embargo, se excluyeron los documentos referentes a revisiones, comentarios y editoriales. También fueron excluidos aquellos que eran específicos para grupos de alto riesgo como pacientes VIH positivos, o con SIDA, personas sin hogar, cárceles, trabajadores de la salud o las referentes a especies diferentes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* y las relacionadas a brotes o genotipos específicos.

Resultado medido (outcome) y definición

Transmisión reciente fue definida en cada artículo como la presencia de aislamiento en conglomerado. La población estudiada fue estimada como el número de pacientes de tuberculosis con cultivo positivo al complejo *M. tuberculosis* que fueron sometidos a un análisis de tipificación molecular tal como el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción del ADN genómico (RFLP), spoligotyping, el doble elemento repetitivo-reacción en cadena de la polimerasa (DRE-PCR) o la secuencia repetitiva polimorfa rica en guanina-citosina (PGRS).

Obtención y análisis de los datos

La extracción de los datos respecto al diseño, calidad metodológica, así como de los factores de riesgos, se realizó mediante un formato elaborado de manera consensuada con el equipo participante en el estudio. Los datos de cada estudio fueron obtenidos de manera independiente por dos revisores, las discordancias fueron resueltas mediante consenso. La validez metodológica fue evaluada según los criterios para estudios observacionales descritos por Newcastle - Ottawa Quality Assessment Scale.

El análisis estadístico se realizó mediante el modelo de efectos aleatorios (**random-effects model**) para la estimación del riesgo global (ORp) de los factores asociados a transmisión reciente (Egger M, et al 1997; Greenland S, 1998). Para la ponderación de los estudios en este modelo se considera la variabilidad intra-estudio y la variabilidad entre-estudios (Egger M, et al 1997). La información se analizó con el programa "Comprehensive Meta-Analysis", el cual pondera los estudios por el inverso de la varianza (varianza intra-estudio más varianza entre-estudios al cuadrado). Para calcular el efecto aleatorio, riesgo ponderado (ORp) y el 95%

de intervalo de confianza (IC) del OR se incluyeron los datos obtenidos de todos los documentos independientemente del diseño de estudio. Los factores analizados para identificar la asociación con transmisión reciente de TB fueron edad, sexo, migración, grupo étnico, área de residencia, consumo de alcohol, uso de drogas intravenosas, infección de VIH, pacientes con SIDA, estancia previa en prisión, personas sin hogar, antecedente de TB, baciloscopia positiva y cepa multidrogorresistente.

Análisis de la heterogeneidad de los estudios. Para la evaluación del grado de heterogeneidad de los estudios se utilizó la prueba de Q (DerSimonian R et al, 1986), la cual está de acuerdo con la distribución de X^2 con grados de libertad ($k-1$). También, se evaluó la heterogeneidad por métodos gráficos, tal como la gráfica de Galbraith (Galbraith R, 1988).

Análisis de sensibilidad. Para evaluar el impacto de la calidad metodológica de los estudios e identificar la influencia de cada estudio, se replicó el metaanálisis quitando en cada paso uno de los estudios incluidos y para ver si se obtenían resultados similares de forma global (L'Abbé et al, 1987; Egger M et al, 1997).

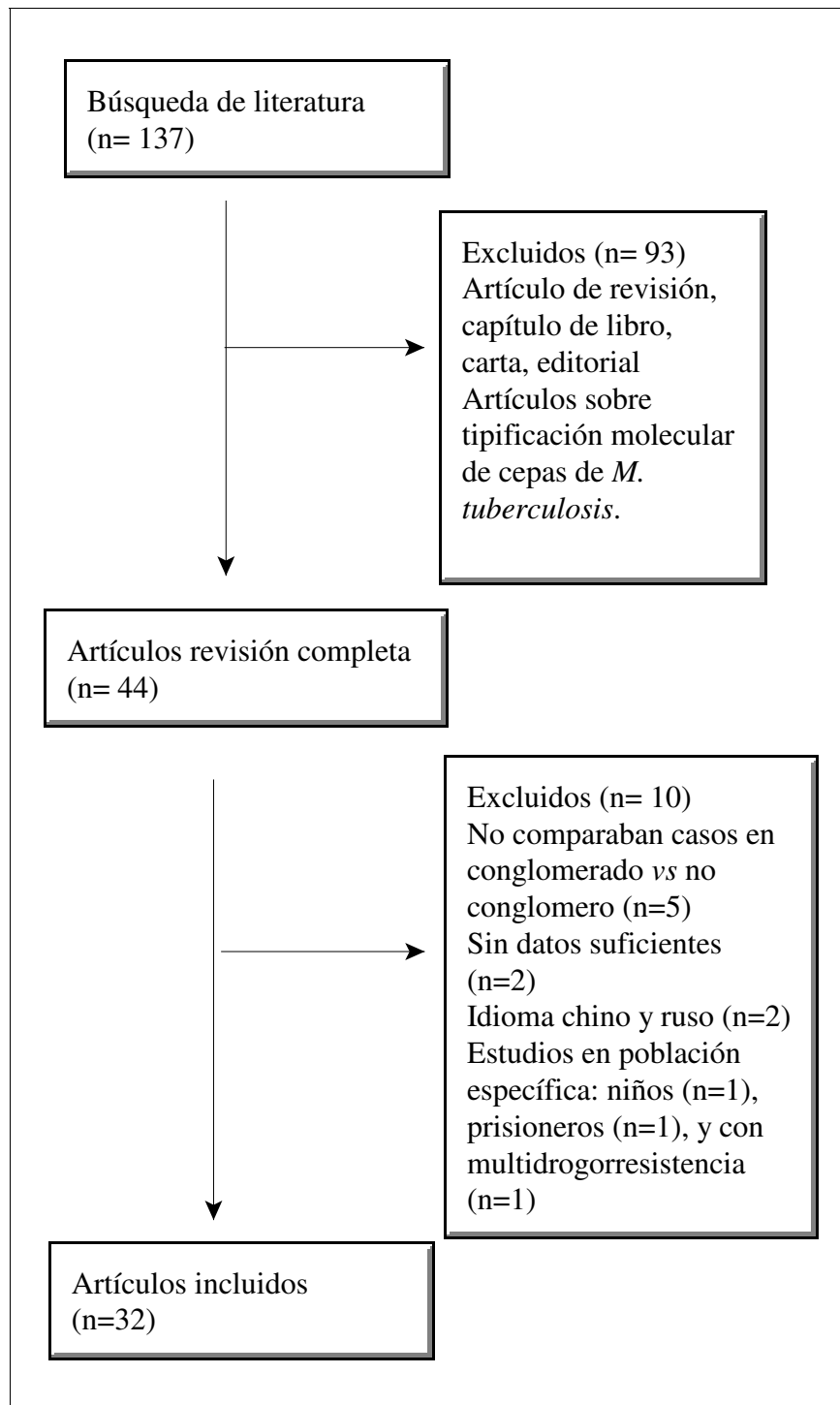
Identificación del sesgo de publicación. El sesgo de publicación se valoró mediante la gráfica de embudo (funnel plot), en el que se representa el tamaño muestral de cada trabajo frente al tamaño del efecto detectado (Egger M et al, 1997). El nivel de significancia fue evaluado con la prueba estadística de Begg y Egger (Begg CB et al 1994; Egger M et al, 1997). Con un valor de $p < 0.10$ fue considerado estadísticamente significativo para el sesgo de publicación.

Resultados

La estrategia de búsqueda produjo 137 artículos potencialmente relevantes, de los cuales 44 fueron recuperados para su revisión más detallada (Figura 7). Treinta y dos artículos cumplieron con los criterios de inclusión, los otros 12 fueron excluidos por las siguientes razones: no comparar casos en conglomerado y no conglomerado; no aportan datos suficientes; se referían a grupos especiales como personas privadas de su libertad, niños, drogorresistentes; y el idioma chino y ruso. Se consideraron 32 estudios sobre epidemiología molecular de tuberculosis que cumplieron con los criterios de inclusión (Cuadro 1), los cuales fueron publicados entre 1994 y 2005, e investigaron los factores de riesgo para transmisión reciente de TB.

En esta revisión estuvieron representados 16 países: 12 países europeos incluyendo Italia, Inglaterra, Francia, Suiza, España, Holanda, Dinamarca, Alemania, Eslovenia y Noruega; Sudáfrica y Botswana, así como Irán, Canadá y Estados Unidos.

Figura 7. Flujo de la revisión de artículos identificados e incluidos



En todos los estudios analizaron los aislamientos de *M. tuberculosis* para su tipificación por al menos un método de biología molecular (RFLP). Los casos que presentaron aislamiento con genotipo igual fueron clasificados como conglomerado (generalmente se asocia a transmisión reciente) y aquellos que presentaron genotipos únicos fueron clasificados como no conglomerado. La variable respuesta es conglomerado vs no conglomerado y la medida de efecto el odds ratio (OR). La revisión incluyó un total de 20 554 casos estudiados (rango de 129 a 4 266).

Cuadro1. Características de los estudios incluidos en el meta-análisis sobre factores de riesgo para transmisión reciente de tuberculosis.

Estudio	Lugar	Duración (años)	Diseño	No. casos	Fingerprinting	Tipificación		No. de genotipos	% cluster	No. de grupos	Rango
						1er método	2do método				
Barnes 1997	Los Angeles	2		185	162	RFLP	-	74	59.3	8	2- 43
Bifani 1999	Nueva Jersey	2.9	Base pob	1575	1207	RFLP	Spoligo	529	64.1	96	2- 10
Bishai 1998	Baltimore	2.5	Base pob	199	182	RFLP	Spoligo	124	46	26	2- 5
Blackwood 2003	Manitoba	8	Base pob	855	629	RFLP	-	249	67.7	46	2- 162
Bradford 1998	San Francisco	2		755	724	RFLP	PGRS	681	7.3	10	2- 16
Cacho-Calvo 2005	Madrid	11	Base pob	773	448	RFLP	Spoligo	269	50.7	49	2- 28
Diel 2002	Hamburgo	3	Base pob	529	398	RFLP	Spoligo	298	33.9	35	2- 23
Farnia 2004	Tehran	1		218	129	RFLP	Spoligo	94	43	21	2- 7
Frieden 1996	Nueva York			441	344	RFLP	-	252	37	31	2- 17
Godfrey-F 2000	Sudafrica	1	Base pob	438	371	RFLP	Spoligo	185	67	62	2- 43
Gutierrez 1998	Paris	1	Base pob*	327	272	RFLP	DRE	203	35.7	26	2- 12
Heldal 2003	Noruega	6	Caso-control	1411	861	RFLP	-	NE	18	NE	NE
Hernandez-G 2002	Vancouver	4.3	Base pob	806	793	RFLP	Spoligo	702	17.3	46	NE
Iñigo-Martínez 2000	Madrid	2	Base pob	207	148	RFLP	Spoligo	104	41.9	18	2- 12
Iñigo-Martínez 2003	Madrid	3	Base pob	369	233	RFLP	Spoligo	163	42.5	29	2- 14
Kempf 2005	Alabama	7.5	Base pob	2204	1759	RFLP	Spoligo	1152	41	114	2- 136
Lockman 2001	Botswana	1.7	Base pob	439	301	RFLP	-	196	42	20	2- 16
Maguire 2003	Londres	2.5	Multicentrico	3260	2042	RFLP	-	1748	22.7	169	2- 12
Moro 2002	Milan	2	Base pob	814	581	RFLP	Spoligo	418	41.1	76	2- 11
Pena 2003	Gran Canaria	4		719	566	RFLP	-	235	72.3	78	2- 75
Sepkowitz 1995	Nueva York	3	Hospital	201	201	RFLP	-	NE	43	NE	NE
Sharnprapai 2002	Massachusetts	4.5		1032	983	RFLP	Spoligo	793	28	82	2- 16
Small 1994	San Francisco	2	Base pob	585	473	RFLP	-	324	40	44	2- 30
Solsona 2001	Barcelona	2	Base pob	180	165	RFLP	PGRS	115	46	26	2- 10
Sudre 1999	Suiza	9	Cohorte	267	138	RFLP	-	117	24	12	2- 8
Vacheé 1999	Francia	1		158	154	RFLP	-	140	18	14	NE
van Deutekom 1997	Amsterdam	2.5	Base pob	608	459	RFLP	PGRS	298	47	53	2-29
van Soolingen 1999	Holanda	5	Base pob	5122	4266	RFLP	PGRS	2294	46	479	2-47
Verver 2004	Sudafrica	6		1023	768	RFLP	-	392	72	115	2-40
Wilkinson 1997	Sudafrica	1		339	246	RFLP	PGRS	175	45	39	2- 7
Yang 1995	Dinamarca	1		270	245	RFLP	-	186	31	17	2- 24
Zolnir-Dovc 2003	Eslovenia	1	Prospect	372	306	RFLP	-	228	37.9	38	2- 35

Seis estudios cumplieron con todos los criterios evaluados. No obstante, algunos no discutieron las limitaciones del estudio, así como sus aplicaciones/implicaciones o no realizaron análisis multivariado (Cuadro 2).

Cuadro 2. Validación de estudios sobre factores de riesgo para transmisión reciente de tuberculosis de acuerdo con los criterios de Newcastle-Ottawa.

Estudio	Antecedente	Retro/Pro	Criterio I/E	Muestra	Casos/consec	Esp/factor	Interpretación	Limitaciones	Implicación	Discusión dist clusters	Contr. cluster y no cl	Realizó análisis multiv	Estd compl. y claro	Tot.
Barnes 1997	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	13
Bifani 1999	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	11
Bishai 1998	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	12
Blackwood 2003	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Bradford 1998	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	13
Cacho-Calvo 2005	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Diel 2002	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	12
Farnia 2004	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	X	✓	10
Frieden 1996	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Godfrey-F 2000	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	13
Gutierrez 1998	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	13
Heldal 2003	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	11
Hernandez-G 2002	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	11
Iñigo-Martinez 2000	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	12
Iñigo-Martinez 2003	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	12
Kempf 2005	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	12
Lockman 2001	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	11
Maguire 2003	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Moro 2002	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Pena 2003	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Sepkowitz 1995	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Shamprapai 2002	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	11
Small 1994	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Solsona 2001	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Sudre 1999	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	13
Vaché 1999	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	11
van Deutekom 1997	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	13
van Soolingen 1999	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Verver 2004	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	12
Wilkinson 1997	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	11
Yang 1995	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	11
Zolnir-Dovc 2003	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	✓	✓	X	✓	11

En esta revisión se observó heterogeneidad entre los estudios, excepto para los factores de estancia previa en prisión, área de residencia y baciloscopia positiva (Cuadro 3). Por lo tanto, se utilizó el método de efectos aleatorios para el metaanálisis de los factores de riesgo para transmisión reciente de tuberculosis. El efecto global mostró significancia estadística en la mayoría de los factores analizados, con excepción de dos factores (cepa drogorresistente y antecedente de TB). Por otra parte, no hay evidencia estadística de sesgo de publicación y, de acuerdo con el análisis de sensibilidad, ninguno de los estudios, si se elimina del meta-análisis modifica substancialmente el resultado global.

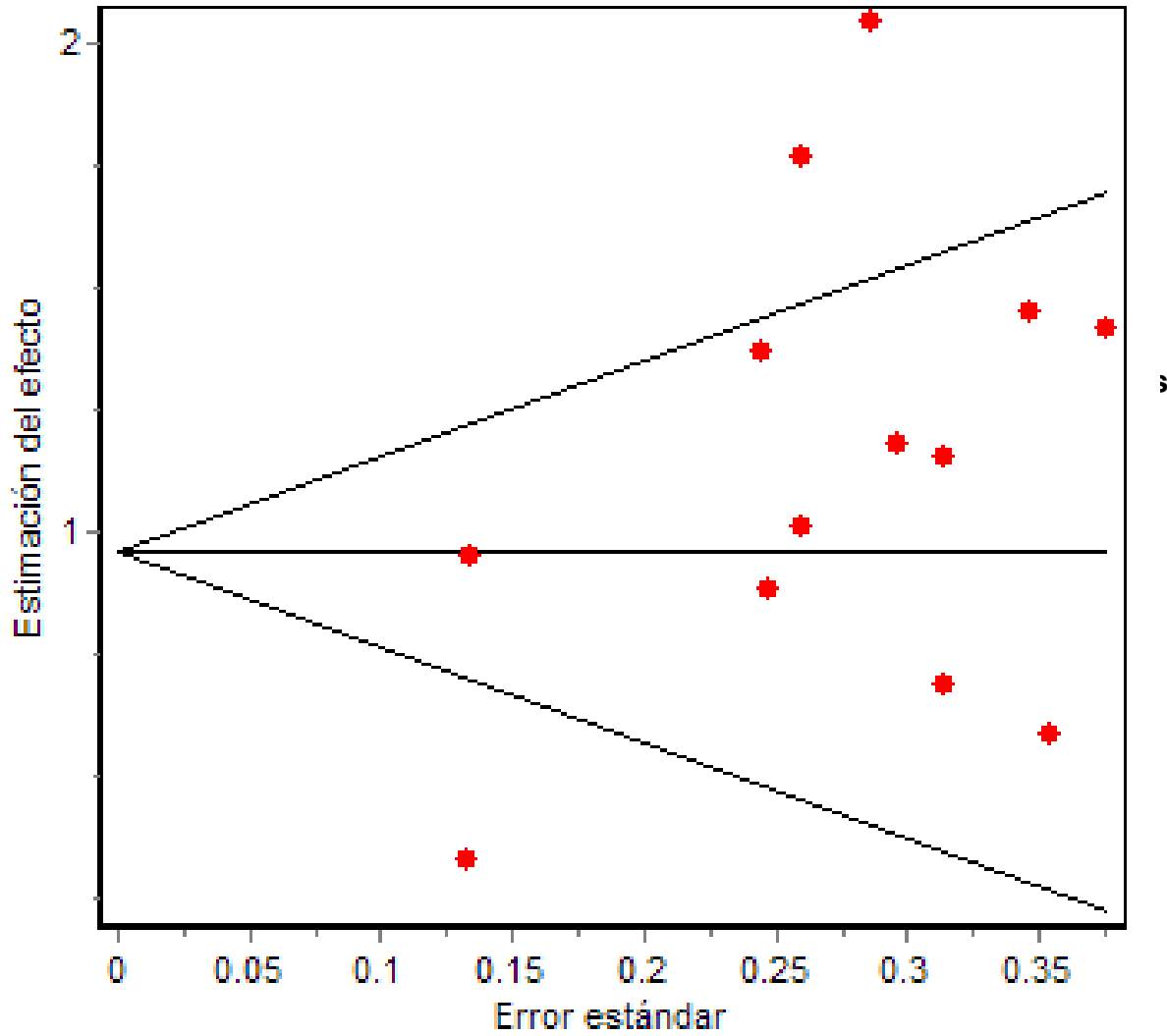
Cuadro 3. Meta-análisis^a de estudios sobre factores de riesgo para transmisión reciente de TB.

Factor de riesgo	Número de estudios	n	Pooled OR	IC95%	Prueba de heterogeneidad			Sesgo de publicación	
					X ²	gl	p	z	p
Etnicidad	13	8311	3.03	2.21-4.16	55.63	12	0	0.4	0.67
Uso de drogas	17	10224	2.95	2.14-4.07	50.2	16	0	0.3	0.77
Personas sin hogar	15	10705	2.87	2.04-4.02	40.14	14	0	0.4	0.69
Originario del país	24	15339	2.23	1.73-3.02	224.7	23	0	0	0.98
Estancia previa en prisión	9	2687	2.15	1.67-2.77	7.99	8	0.44	0.3	0.75
Consumo de alcohol	18	12713	2.06	1.52-2.79	86.97	17	0	0	1
Edad	22	14119	1.97	1.59-2.45	100.4	21	0	0.3	0.78
Infección de VIH/SIDA	25	13538	1.59	1.28-1.98	81.49	24	0	0.5	0.62
Área de residencia	9	8587	1.52	1.35-1.72	9.19	8	0.33	0.3	0.75
Baciloscopia positiva	9	4311	1.47	1.26-1.72	10.75	8	0.22	1.8	0.1
Cepa drogorresistente o MDR	11	9959	1.46	1.02-2.10	60.3	10	0	0.8	0.44
Sexo	30	18526	1.36	1.18-1.56	77.32	29	0	0.9	0.35
Antecedente de TB	13	10640	1.02	0.73-1.43	60.67	12	0	0.4	0.67

^a Modelo de efectos aleatorios

En trece estudios los pacientes pertenecientes a una minoría étnica tuvieron mayor riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado tres veces más alto para los pacientes indígenas o afroamericanos; solamente en un estudio la asociación fue no significativa (Figura 8), entre los estudios que reportaron esta asociación hubo una alta heterogeneidad (X²=55.63, 12 gl; p < 0.001).

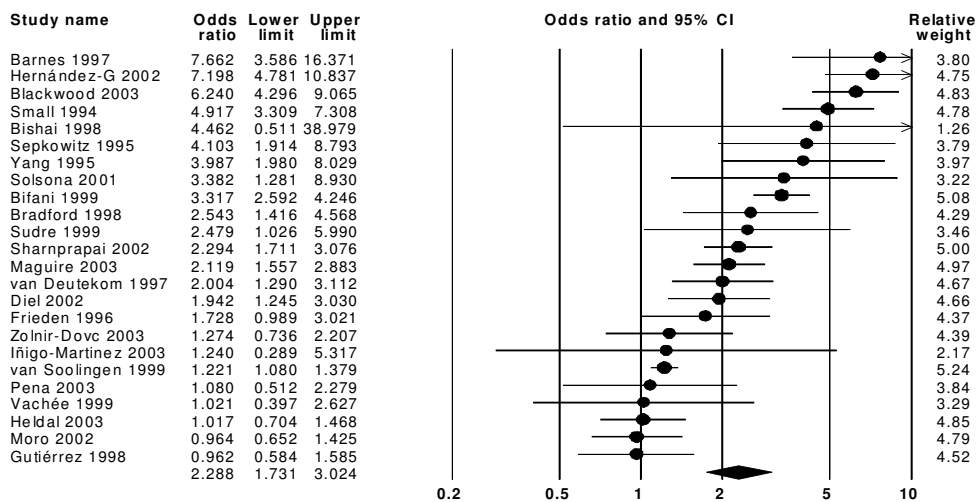
Gráfico de embudo (Funnel plot)



No se observa evidencia estadística de sesgo de publicación (prueba de Begg $z = 0.43$, $p = 0.669$), también en la gráfica de embudo hay ausencia de sesgo porque los puntos (representando cada estudio) se distribuyeron simétricamente alrededor del tamaño del efecto global.

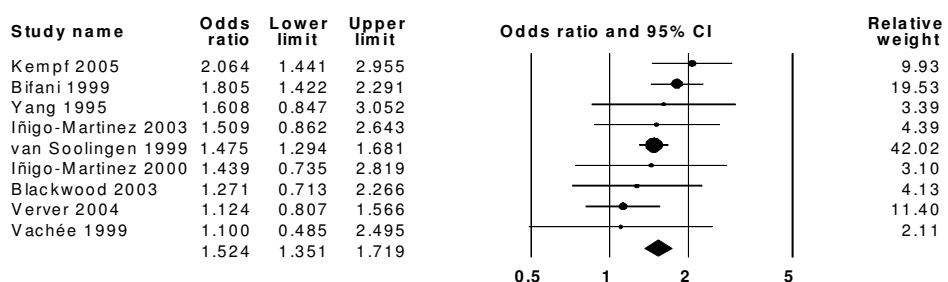
En 24 estudios los pacientes originarios del país tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de 2.29 veces para los pacientes nativos del país en relación con los foráneos (Figura 9), la heterogeneidad entre los estudios se mantuvo muy alta ($X^2= 224.65, 23 \text{ gl}; p<0.001$).

Figura 9. Odds ratio de pacientes nativos del país asociado a transmisión reciente de tuberculosis



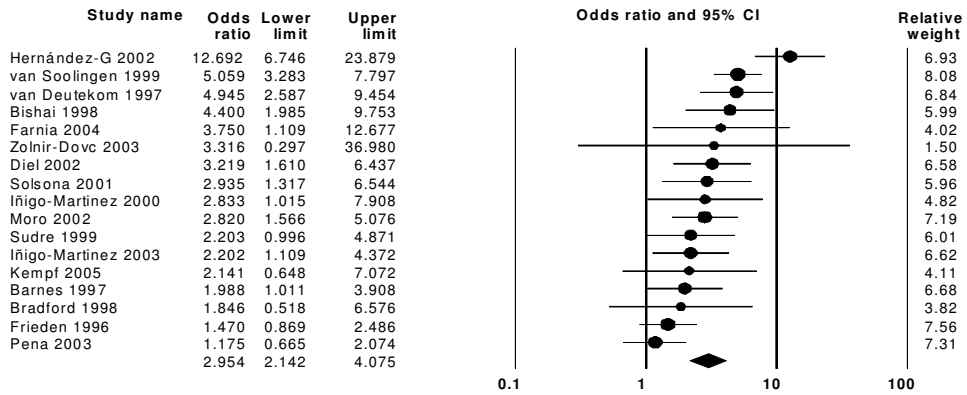
El área de residencia estuvo asociada a transmisión reciente de tuberculosis, quienes residían en área urbana tuvieron una estimación de riesgo combinado de 1.52 veces con relación a los del área rural (Figura 10), la heterogeneidad entre los estudios fue baja ($\chi^2=9.19, 8 \text{ gl}; p=0.326$).

Figura 10. Odds ratio de área de residencia asociado a transmisión reciente de tuberculosis



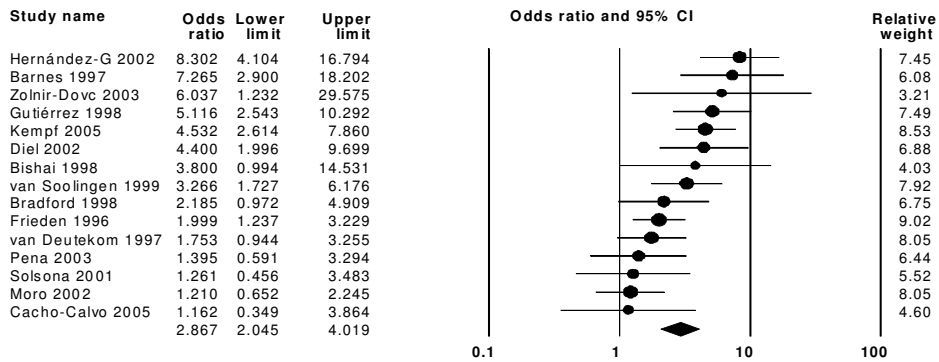
En 17 estudios los pacientes usuarios de drogas tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de casi tres veces para los pacientes usuarios de drogas en relación con los no usuarios; en cinco estudios la asociación fue no significativa (Figura 11), entre los estudios que reportaron esta asociación hubo una alta heterogeneidad ($X^2=50.20$, 16 gl; $p<0.001$).

Figura 11. Odds ratio de uso de drogas asociado a transmisión reciente de tuberculosis



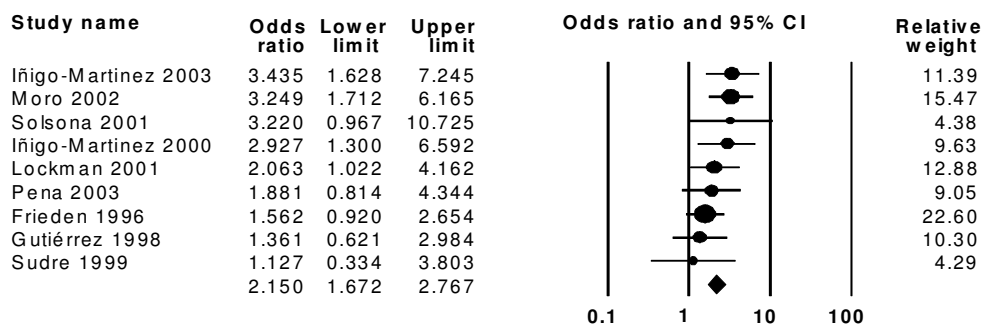
En 15 estudios las personas sin hogar tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de casi tres veces para los pacientes sin hogar con relación a los que sí tenían (Figura 12). La heterogeneidad entre los estudios se mantuvo alta ($X^2= 40.14, 14 \text{ gl}; p<0.001$).

Figura 12. Odds ratio de personas sin hogar asociado a transmisión reciente de tuberculosis



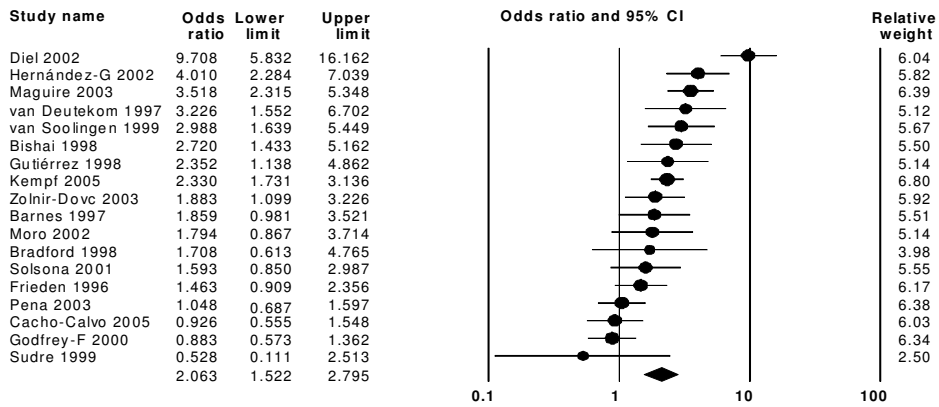
Los pacientes con estancia previa en prisión tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de 2.15 veces para quienes tenían antecedentes de privación de su libertad (Figura 13), la heterogeneidad entre los estudios que reportaron esta asociación fue muy baja ($X^2= 7.99, 8 \text{ gl}; p= 0.435$).

Figura 13. Odds ratio de antecedentes de estancia en prisión asociado a transmisión reciente de tuberculosis



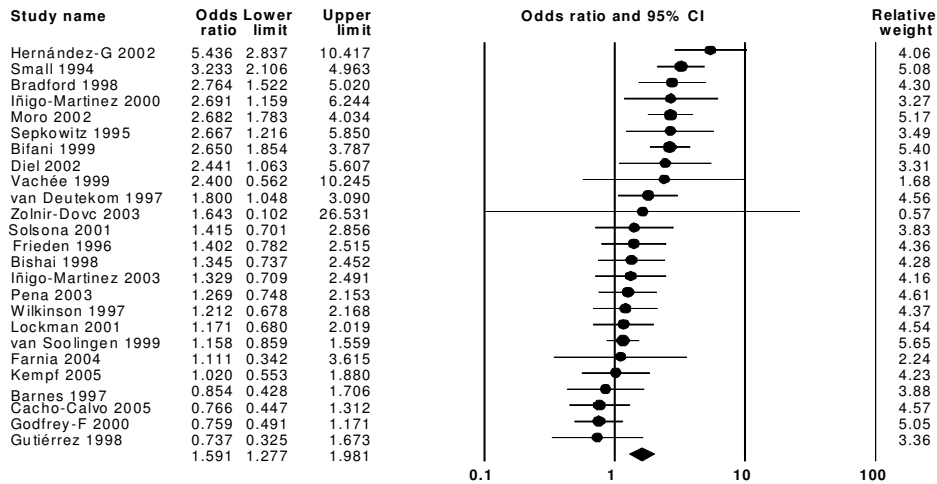
Los pacientes con antecedentes de consumo excesivo de alcohol tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de dos veces para quienes consumían alcohol (Figura 14), la heterogeneidad entre los estudios fue alta ($X^2= 86.97, 17 \text{ gl}; p<0.001$).

Figura 14. Odds ratio de consumo de alcohol asociado a transmisión reciente de tuberculosis



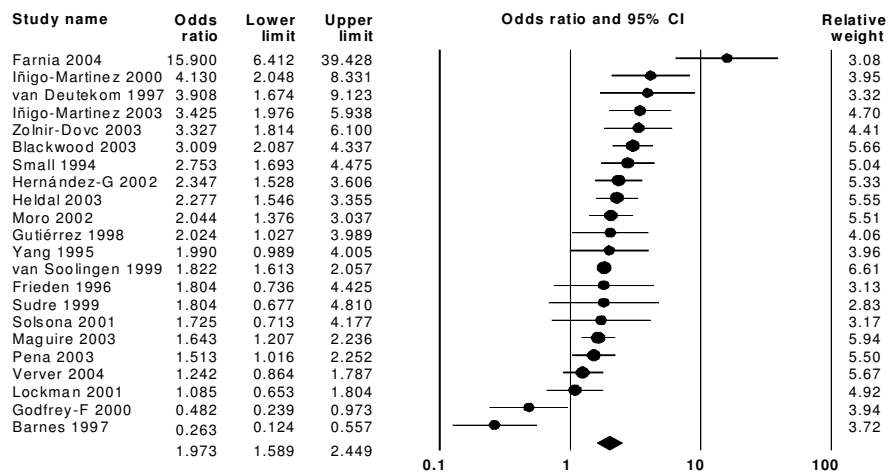
Los pacientes con infección de VIH o enfermos de SIDA tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de 1.59 veces para los seropositivos a VIH o con patología de SIDA (Figura 15), entre los estudios que reportaron esta asociación se mantuvo alta heterogeneidad ($X^2= 81.49, 24 \text{ gl}; p<0.001$).

Figura 15. Odds ratio de infección de VIH/SIDA asociado a transmisión reciente de tuberculosis



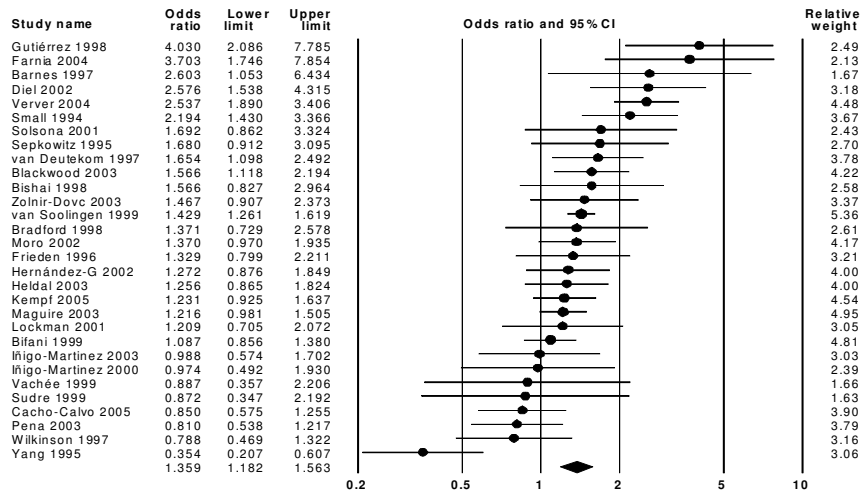
Los pacientes jóvenes tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de casi dos veces para los jóvenes, sin embargo, no se puede especificar una edad determinada debido que en los estudios incluidos establecieron diversos puntos de corte para la clasificación de la edad de los casos (Figura 16). Entre los estudios que reportaron esta asociación fue muy alta la heterogeneidad ($X^2= 100.35$, 21 gl; $p<0.001$).

Figura 16. Odds ratio de edad del paciente asociado a transmisión reciente de tuberculosis



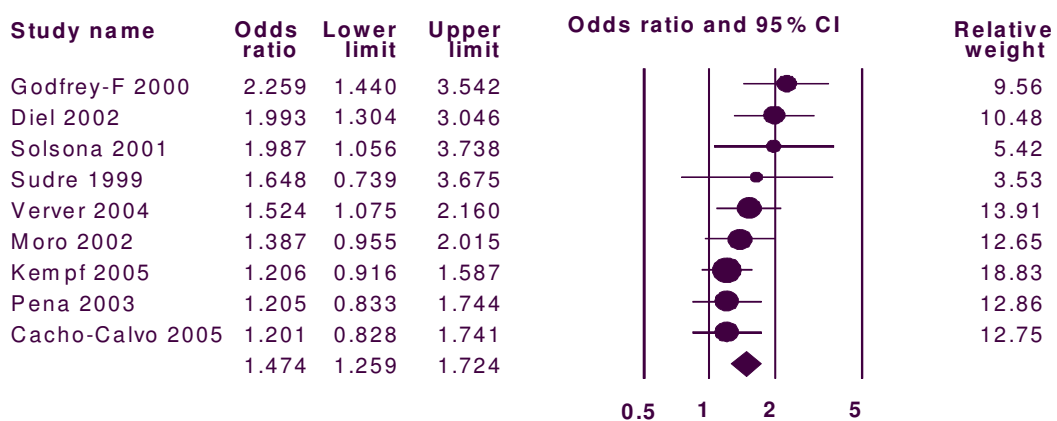
Los pacientes del sexo masculino tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de casi 1.36 veces para los hombres en relación con las mujeres (Figura 17), la heterogeneidad se mantuvo alta ($X^2=77.32, 29 \text{ gl}; p<0.001$).

Figura 17. Odds ratio de sexo del paciente asociado a transmisión reciente de tuberculosis



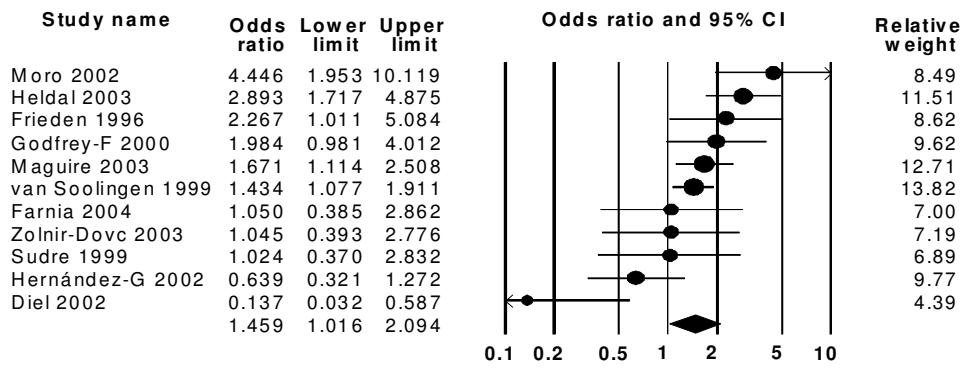
Los pacientes con baciloscopia positiva tuvieron más riesgo de transmisión reciente de tuberculosis, con una estimación de riesgo combinado de 1.47 para quienes presentaron examen bacteriológico positivo en relación con aquellos que mostraron un examen negativo (Figura 18). La heterogeneidad fue baja entre los estudios que reportaron esta asociación ($X^2= 10.75, 8 \text{ gl}; p= 0.216$).

Figura 18. Odds ratio de baciloscopia del paciente asociada con transmisión reciente de tuberculosis



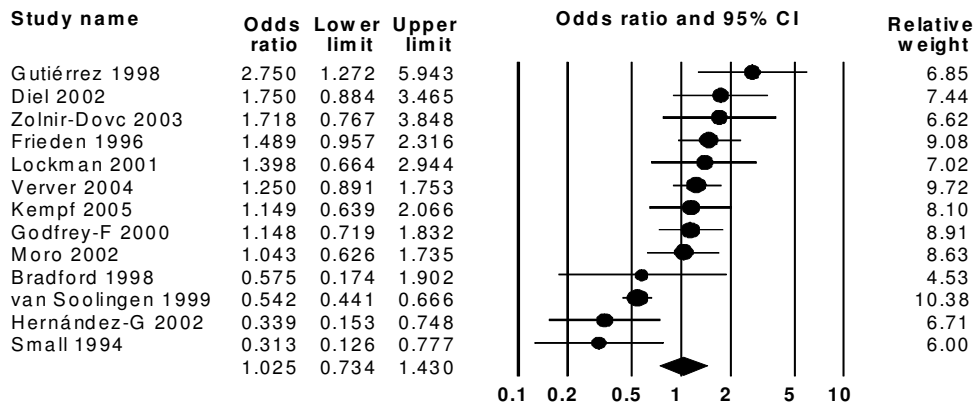
Los casos de TB que presentaron cepa drogorresistente tuvieron mayor riesgo de transmisión reciente de TB (OR 1.46; IC95% 1.02-2.09), entre los 11 estudios que reportaron esta asociación se observó alta heterogeneidad ($X^2=60.30$, 10 gl; $p<0.01$), aunque todos muestran la misma tendencia, excepto en los estudios de Diel 2002 y Hernández-G 2002 (Figura 19).

Figura 19. Odds ratio de cepa drogorresistente asociada a transmisión reciente de tuberculosis



No se observó asociación entre antecedente de TB y el riesgo de transmisión reciente de TB (OR 1.02; IC95% 0.73-1.43), entre los estudios que reportaron esta asociación hubo una alta heterogeneidad ($X^2= 60.67$, 12 gl; $p<0.001$), Figura 20.

Figura 20. Odds ratio de tuberculosis previa asociada a transmisión reciente de tuberculosis



Discusión y conclusiones

Este metaanálisis de 32 estudios publicados entre 1994 y 2005 incluyó un total de 20 554 pacientes de tuberculosis. Entre los limitantes de este estudio está la gran variabilidad en la clasificación de los factores estudiados, como la edad del paciente. Al respecto, no se puede especificar una edad determinada debido que en los estudios incluidos establecieron diversos puntos de corte para la clasificación de la edad de los casos. Algunos sólo reportaron el promedio de edad y el rango. Otra limitante es la heterogeneidad observada entre los estudios debido probablemente a la duración del estudio, proporción de casos estudiados, movilidad de la población estudiada, así como a la presencia de factores específicos del área de estudio (Burgos MV et al, 2002; Foxman B et al, 2001; DeRiemer K, 2004; Seidler A et al, 2005). El tamaño de la muestra afecta la proporción de cepas en conglomerado y por ende subestima la transmisión reciente de la enfermedad (Glynn JR et al, 1999; Murray M, 2002).

La tasa de incidencia de tuberculosis es más alta entre la población perteneciente a una minoría étnica en países como Estados Unidos y Canadá (Kempt et al, 2005; Hernandez-Garduño et al, 2002; Blackwood et al, 2003). Respecto a la población general, en estos grupos los indicadores de nivel socioeconómico como hacinamiento, ingreso, pobreza, servicios médicos, desempleo y educación son inferiores y pueden contribuir a incrementar el riesgo de desarrollar TB (Cantwell MF et al, 1997). Ha sido ampliamente reconocido que algunas minorías étnicas tienen mayor riesgo de transmisión reciente de TB (Bellamy R et al, 1998; Greenwood CMT et al, 2000). Al igual que en esta revisión, fue el factor de riesgo más fuerte para transmisión reciente de tuberculosis (OR 3.6). En los estudios realizados en Canadá se encontró el riesgo más alto de 7.69 y 5.82. Es probable que las malas condiciones socioeconómicas y factores genéticos coadyuven en la susceptibilidad de estos grupos para adquirir una infección reciente con rápida progresión a la enfermedad.

En países desarrollados se ha sugerido a la migración como un factor que lleva al incremento de TB (MMWR, 1993; Orr PH et al, 1990). En esta revisión se observó que las personas originarias del país tienen más riesgo de desarrollar TB por transmisión reciente, la implicación es que los pacientes inmigrantes tuvieron reactivación de la infección previamente adquirida en su país de origen. Estos resultados son consistentes con los publicados en otros estudios donde muestran que las personas inmigrantes tienen más probabilidad de tener aislamientos con genotipos únicos que en conglomerado (Small PM, 1994; Bordorff MW et al, 2000). Esto concuerda con lo generalmente aceptado, de que las personas nacidas en países con alta incidencia de TB son infectadas en su lugar de origen y pueden desarrollar la enfermedad a los pocos años de migrar (Murray MB, 2002). Es posible que estos grupos de población de inmigrantes sean más susceptibles de desarrollar TB por reactivación endógena como consecuencia del bajo nivel socioeconómico, el hacinamiento y una alimentación inadecuada. Entre los nativos existen otros factores contribuyentes para infección reciente de *M.*

tuberculosis, tal como no tener hogar, uso de drogas, consumo excesivo de alcohol, infección por VIH y el SIDA.

La tuberculosis cada vez es más predominante en poblaciones desfavorecidas de los núcleos urbanos, donde también se concentran otros factores de riesgo como la inmigración, el hacinamiento, infección por VIH y abuso de drogas (Small PM et al, 1994). Estudios previos han reportado que en las áreas urbanas existe más riesgo de transmisión reciente de TB (van Soolingen D et al, 1999; Kempt MC et al, 2005). De forma similar, se observó en esta revisión que el área de residencia urbana fue un factor de riesgo para transmisión reciente, la implicación es que en la zona rural es más probable el desarrollo de TB debido a reactivación de la infección.

En esta revisión también el uso de drogas, consumo de alcohol, indigencia, infección por VIH/SIDA y estancia previa en prisión estuvieron asociados a transmisión reciente de tuberculosis. En estos grupos de alto riesgo es más frecuente la infección reciente con *M. tuberculosis* y progresión rápida de la enfermedad. Resultados similares se han encontrado en Eslovenia, Holanda, Londres, España, Canadá y Estados Unidos (Zolhnir-Dov M et al 2003; van Soolingen D et al, 1999; Maguire H et al, 2002; Iñigo-Martínez J et al, 2000; Hernandez-Garduño E et al, 2002; Bishai W et al, 1998). La transmisión reciente parece ser predominante ente los que tienen un comportamiento de riesgo como uso de droga, consumo excesivo de alcohol y en grupos de riesgo como personas sin hogar (Kempt MC et al, 2005), debido, posiblemente, a que en estos pacientes es más difícil conseguir la adherencia al tratamiento y realizar estudios de contactos (Iñigo-Martínez J et al, 2003). El antecedente de estancia en prisión ha sido reportado como predictor de transmisión reciente de TB (Lockman S et al 2001; Moro ML et al, 2002).

También observamos que la transmisión reciente estuvo asociada a edad joven y sexo masculino. Los pacientes de más edad generalmente desarrollan TB por reactivación endógena, lo cual ha sido demostrado en diversos estudios (Small PM et al, 1994; Yang ZH et al, 1994; Zolnir-Dov M et al, 2003). De igual forma a lo encontrado en esta revisión, en Dinamarca y Canadá los pacientes jóvenes y del sexo masculino tuvieron más riesgo de infección reciente (Yang ZH et al, 1994; Blackwood KS et al 2003), mientras que en algunos estudios sólo reportan como factor predictor la edad del paciente (Iñigo-Martínez J et al, 2000; Pena MJ et al, 2003; van Deutekom H et al, 1997) y, en otros, al sexo masculino (Gutierrez MC et al, 1998; van Soolingen D et al, 1999).

Los pacientes con baciloscopia positiva tuvieron más riesgo de desarrollar tuberculosis por transmisión reciente, esto es consistente con lo encontrado en áreas de baja o alta incidencia de TB (Solsona J et al, 2001; Diel R et al, 2002; Godfrey-Faussett P et al, 2000; Verver S et al, 2004). Se conoce que la baciloscopia sólo identifica al 50% de los casos con TB activa, la razón de esta baja sensibilidad es porque la muestra de esputo debe contener de 10 000 a 100 000 bacilos por mililitro (Schulger NW et al, 1994). Esto

indica que los pacientes con baciloscopia positiva tienen una gran carga bacilar que probablemente contribuya a la transmisibilidad de *M. tuberculosis*. Sin embargo, también se deben considerar otros factores, recientemente se han identificado cepas de TB que tienen una alta tasa de infección y enfermedad, indicando factores de virulencia de los microorganismos (Valway SE et al, 1998; Zhag M et al, 1999).

En esta revisión, cepa drogorresistente y antecedentes de TB no estuvieron asociadas a transmisión reciente de la enfermedad. Este resultado probablemente sea debido a que muy pocos estudios reportaron estas asociaciones, no obstante, entre los que sí las reportaron se observó una alta heterogeneidad en los datos.

En conclusión, existen diversos factores sociales y biológicos que favorecen la transmisión reciente de la tuberculosis, así como la progresión rápida de la enfermedad. Los cuales permitieron identificar la población blanco en mayor riesgo de desarrollar TB debido a que la infección reciente con *M. tuberculosis* es más frecuente en grupos de minoría étnica; grupos de mayor riesgo como usuarios de drogas, consumidores de alcohol, personas sin hogar, infectados por VIH/SIDA y personas con antecedentes de estancia en prisión, y en áreas urbanas. Se deben tomar en cuenta medidas de vigilancia epidemiológica continua para la identificación y tratamiento de los casos, sobre todo tratándose de enfermos con baciloscopia positiva. La aplicabilidad de estos resultados es, principalmente, en el mejoramiento de estrategias de prevención y control de esta enfermedad que coadyuven a la interrupción de la transmisión de *M. tuberculosis*.

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODOS

Área y población de estudio

El estudio se realizó en dos fases; en la primera fase, se cultivaron las muestras de esputo con baciloscopia positiva y se encuestaron 300 casos de tuberculosis pulmonar (TBP) en el municipio de Acapulco. Además, se aplicó una encuesta a hogares en 10 colonias de Acapulco con población indígena. En la segunda fase se realizó la encuesta en las regiones de la Zona Norte, Zona Centro, La Montaña y Costa Chica, así como el cultivo de las cepas y análisis de las cepas por DRE-PCR y spoligotyping.

Primera fase: durante 18 meses se realizó un estudio de casos de TBP diagnosticados por la Secretaría de Salud (SSA) en el municipio de Acapulco, Guerrero. Primeramente, se recolectaron las muestras de expectoración de los casos de TBP con baciloscopía positiva de las siguientes dependencias: Hospital General de Acapulco, Hospital General "Donato G. Alarcón", Laboratorio Estatal de Salud Pública "Galo Soberón y Parra" y la Clínica Avanzada de Atención Primaria a la Salud (CAAPS). Después, se procesaron para su cultivo en el laboratorio de microbiología del CIET, y posteriormente, se realizó la búsqueda activa de los casos para la aplicación de la encuesta y obtener los datos epidemiológicos, demográficos y características clínicas de los enfermos.

Segunda fase: Se visitaron 16 comunidades de las regiones de Costa Chica, La Montaña, Zona Centro y Zona Norte de Guerrero. Se incluyeron las comunidades de donde provenían los casos de tuberculosis pulmonar identificados en el municipio de Acapulco, sólo en el caso de la Zona Norte se seleccionaron al azar dos comunidades con población indígena, debido a que en la primera fase del estudio no se localizó ningún caso procedente de esa Región.

La población incluida en ambas fases del estudio fueron los tosedores mayores de 14 años que presentaron tos con expectoración de dos semanas o más de evolución, que fueron localizados casa por casa en cada una de las colonias o comunidades seleccionadas.

Encuestadores y encuesta

En la primera fase, la aplicación de la encuesta a los casos de TBP fue realizada por el personal del CIET y enfermeras del centro de salud de cada comunidad. Antes de iniciar la recolección de datos se capacitó a los encuestadores para la revisión de los expedientes, la aplicación de la encuesta y la recolección de muestras de esputo. Posteriormente se realizaron pruebas piloto para ver el tiempo de duración, la comprensión de las preguntas y hacer las correcciones necesarias.

Las variables estudiadas fueron: edad, sexo, número de personas en la casa, número de cuartos por hogar, tipo de vivienda, lugar de nacimiento, tiempo de residencia en su comunidad de origen y en Acapulco, número de visitas a su comunidad de origen, número de lugares de residencia, lugares que frecuenta, ocupación, estado civil, grupo étnico, nivel de escolaridad, consumo de alcohol, vacunado con BCG, tiempo con tos, hemoptisis, pérdida de peso, tratamiento actual, enfermedad asociada (diabetes, desnutrición, alcoholismo, drogadicción y SIDA); antecedentes de TBP anterior (fecha de inicio, recaída, diagnóstico, tratamiento); y antecedente de contacto con casos de TBP (Anexo 1).

Los datos obtenidos del expediente clínico de los casos estudiados fueron: fecha de diagnóstico; tipo de paciente (caso nuevo, recaída, reingreso o fracaso); signos, síntomas y fecha de inicio; esquema, tipo y fecha de tratamiento; número, fecha y resultado de las baciloscopias de control; causa y fecha de egreso, y estudio de contactos (Anexo 2).

En esta fase también se realizó un estudio transversal en 10 colonias con población indígena del municipio de Acapulco, para la búsqueda de tosedores crónicos mayores de 14 años. Se hicieron reuniones previas en cada colonia para explicar el propósito del estudio y solicitar su consentimiento a los líderes y personas de la comunidad. Al siguiente día de la encuesta (Anexo 3), se recolectaron las muestras de expectoración y posteriormente se entregaron los resultados de la baciloscopia.

Segunda fase: se aplicó una encuesta casa por casa para la identificación de tosedores crónicos en cada una de las comunidades incluidas de las regiones de Costa Chica, La Montaña, Zona Centro y Zona Norte (Anexos 4-7). Los encuestadores que participaron fueron investigadores del CIET y personas de la comunidad. En la mayoría de las comunidades fue necesaria la participación de traductores para la aplicación de la encuesta.

Para el trabajo de campo se utilizaron en promedio tres días por comunidad. Durante el primer día de trabajo se aplicó la encuesta y se solicitó una muestra de expectoración a cada uno de los tosedores, al día siguiente se recolectaron las muestras casa por casa y se analizaron, y el tercer día se realizó el reporte y entrega de los resultados a cada una de las personas que proporcionaron muestra. A los casos diagnosticados con tuberculosis pulmonar se les canalizó al centro de salud de la SSA más cercano para que iniciara lo antes posible su tratamiento. Se entregaron informes del trabajo realizado a las autoridades de salud y municipales.

Recolección de las muestras de esputo

Se recolectó una muestra de esputo de cada tosedor crónico mayor de 14 años de edad, la cual fue colectada en frascos de plástico debidamente identificados con el número de la encuesta, el nombre completo, sexo y edad. A cada uno de los tosedores se le explicó como recolectar la muestra, mencionando la importancia de que fueran las flemas obtenidas de preferencia en la mañana. Las muestras recolectadas fueron procesadas mediante baciloscopia en la misma comunidad para entregar los resultados al día siguiente.

Procesamiento de las muestras

Baciloscopia

Las muestras recolectadas en las colonias se procesaron de manera directa con el método de diagnóstico de rutina; el material, los reactivos y soluciones que se utilizaron se describen en los anexos 8 y 9. La muestra de esputo se extendió de manera uniforme en una laminilla, una vez seco el extendido se realizó la tinción de Ziehl-Neelsen (Anexo 10). La observación microscópica para la búsqueda de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) se realizó con el microscopio portátil tipo EPHP, empleando el objetivo de inmersión (100X), y los resultados fueron reportados en el formato de registro (Anexo 11) en la siguiente manera. Los resultados de las baciloscopias se reportaron como negativo (-) cuando no se encontraron y bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) positivo (+), (++) y (+++) dependiendo del número de BAAR observados por campo, como se especifica en el anexo 12 (Balandrano-Campos S et al, 1996).

Cultivo

Se realizó el cultivo de todas las muestras de los casos con BAAR positivo, los detectados de manera rutinaria por la SSA y los diagnosticados por el CIET. Primeramente se realizó la licuefacción y descontaminación de las muestras de esputo con baciloscopia positiva, mediante el método de Petroff (Anexos 13-15). Posteriormente se inoculó 0.5 mL de la muestra en medio de cultivo Lowenstein Jensen y se incubó a 37 °C durante seis u ocho semanas (Anexos 16 y 17). Se revisaron los cultivos cada semana para detectar alguna contaminación y checar el crecimiento de las colonias de *M. tuberculosis*.

Procesamiento de los aislamientos de *M. tuberculosis*

Extracción del DNA

La extracción del DNA se hizo de las colonias de *M. tuberculosis* que crecieron en el cultivo de Lowenstein-Jensen; la cepa se hirvió en un mililitro de agua destilada estéril durante 10 minutos y se dejó congelar durante toda la noche (Anexo 18).

Doble elemento repetitivo- reacción en cadena de la polimerasa (DRE-PCR)

Esta técnica permite diferenciar los patrones de las cepas agrupadas y no agrupadas. Para la amplificación del DNA se usó una alícuota de la solución de DNA extraído y una mezcla de reacción con cebadores o primers (0.5 pM, desoxinucleósido trifosfato 200 μM, Tris-HCl 50 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 2.5 mM, Tritón X-100 y *Taq* polimerasa 0.5 U), como se describe en el Anexo 19. Las reacciones se realizaron con un termociclador automático. La desnaturalización de las muestras se hizo mediante incubación en el termociclador a 95 °C durante 10 minutos, seguido por 30 ciclos consistiendo en 94 °C durante un minuto, 56 °C por dos minutos para la unión de los cebadores, y 72 °C durante un minuto para la extensión (Anexo 20). Los productos amplificados fueron analizados mediante gel de electroforesis, usando agarosa al 1.2%, teñido con bromuro de etidio y visualizados con una lámpara de luz UV (7), Anexo 21. En cada corrimiento se incluyeron controles positivos y negativos. En el Anexo 22 se muestra el formato para el registro de los resultados obtenidos.

Interpretación de los resultados del DRE-PCR

Se asume que los patrones de cepas agrupadas (huellas digitales similares) representan la transmisión reciente, y que las cepas no agrupadas representan la reactivación de una infección de tuberculosis latente. No obstante, la técnica de DRE-PCR presenta la limitante de generar una alta proporción de patrones de DNA con menos de tres bandas, que se considera como patrón indeterminado.

Spoligotyping

El método de spoligotipificación depende de la amplificación in vitro del DNA del locus DR altamente polimórfico en el cromosoma de *M. tuberculosis* (Kamerbeek J et al, 1997). Para la amplificación por PCR, se utilizó el DNA previamente extraído de los aislamientos (Anexo 23). Se suspendieron tres microlitros de cada muestra en un volumen final de 50 μl conteniendo 1.5 μl MgCl₂; 2.5 mM de cada dNTP (dATP, dGTP y dCTP dTTP), 5 μl buffer 10x, 0.5 U *Taq* polimerasa; y 20 pmol de cada primer. Los primers fueron DRa (5´-CCG AGA GGG GAC GGA AAC-3´) and DRb (5´-GGT TTT GGG TCT GAC GAC-3´). El primer DRa fue marcado con biotina al final de 5´. El protocolo de amplificación consistió en 5 minutos a 94 °C, seguido por 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 55 °C y 30 segundos a 72 °C durante 30 ciclos, con una extensión final de 10 minutos a 72 °C. Se incluyeron dos controles positivos (DNA cromosomal de *M. tuberculosis* H37Rv and *M. bovis* BCG P3) y un control negativo (H₂O estéril). El DNA amplificado fue probado para su hibridización con 43 oligonucleótidos previamente unidos de forma covalente a una membrana de nylon. La hibridación fue realizada a 60 °C durante una hora en un blotter de 45 líneas (Miniblotter 45; Immunetics, Cambridge, Mass), utilizando 25 μl del producto de PCR en 188 μl de SSPE 2x/SDS 0.1% (SSPE 1x es NaCl 0.15M, Na₂HPO₄*2H₂O 10 mM, y EDTA 1mM [pH 7.4]- Sulfato Duodecil de Sodio al 0.1%). La membrana fue lavada dos veces en 250 ml de SSPE 2x/SDS 0.5% por 10

minutos a 60 °C. Posteriormente, los fragmentos DNA hibridizado fueron revelados por quimioluminiscencia, después de la incubación con estreptavidina-peroxidasa conjugada (Boehringer Mannheim). La membrana fue incubada por un minuto en 20 ml del líquido ECL, y expuesta en una película por 20 minutos.

Captura de la información

La captura y el análisis de los datos se realizaron con el programa Epi-Info (CDC, versión 6.04). Previamente, se elaboraron las plantillas de codificación, en la cual se codificaron las respuestas de las preguntas aplicadas en la entrevista y revisión de expediente de los casos de TBP, en la encuesta domiciliaria y los resultados de laboratorio (Anexos 24-27).

Análisis estadístico

Los valores de p para cada una de las variables en las tablas de frecuencias, se estimaron con la prueba de Ji cuadrado para la comparación de proporciones ($X^2 = 3.84$, 1 gl, $p = 0.05$; gl = n-1). Éstos permiten identificar si las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas.

Se hizo un análisis bivariado para evaluar las asociaciones entre los factores estudiados y la variable resultado (cepa agrupada y no agrupada). Se estimó el Odds Ratio (OR), el nivel de confianza de los resultados obtenidos, y se valoró con la prueba de significancia estadística de Mantel-Haenszel (χ_{mh}). Para evaluar la modificación de efecto se usó la prueba de χ^2 de heterogeneidad de Wolff, el valor de p e intervalos de confianza al 95% (IC95%).

Los intervalos de confianza vienen de la combinación de los resultados del OR y su prueba de significancia, los cuales fueron obtenidos por el método de Miettinen:

$OR^{(1-Z/X_{mh})}$ para el límite inferior

$OR^{(1+Z/X_{mh})}$ para el límite superior

Donde el OR es la estimación del odds ratio, X_{mh} es la medida de resumen obtenida y Z es el nivel de confianza deseado (1.96 para el 95% de confianza y 1.64 para el 90%).

El OR es igual al Odds Ratio, es una medida que muestra el grado de asociación que existe entre una enfermedad o condición de interés de cierta exposición.

El ORns es igual al OR no sesgado o ponderado por el nuevo factor analizado, el cual se obtiene al hacer el análisis estratificado. Mediante la estratificación se toman en cuenta otros factores en el análisis de una asociación para identificar distractores epidemiológicos y modificadores de efecto. El OR no sesgado se estimó mediante el procedimiento de Mantel-Haenszel:

$$OR_{ns} = \frac{\sum \{a.d/T\}}{\sum \{b.c/T\}}$$

Donde los valores { } son el producto de cada una de las tablas 2x2, T es el total de cada tabla 2x2 y \sum es la sumatoria de los datos del estrato.

Los factores estudiados se analizaron en forma secuencial para buscar los distractores y modificadores de efecto de las asociaciones. En el análisis multivariado se incluyeron las variables que fueron distractores y modificadores de efecto.

Entrega de resultados. Con los resultados obtenidos de cada comunidad estudiada se elaboró un informe resumen, en el cual se informaron los resultados de laboratorio y el número de casos encontrados. El informe se entregó casa por casa, así como los resultados de las baciloscopia (Anexo 28) y el tratamiento específico en forma gratuita para todos los casos de tuberculosis detectados.

Consideraciones éticas

Previo a la realización de la encuesta a los casos de TBP, se obtuvo consentimiento informado por escrito (Anexo 29) y la obtención de los datos fue confidencial. En el momento de la encuesta se encontraron casos que habían abandonado el tratamiento; en esta situación se habló con el paciente y la familia para hacer una baciloscopia de control, además se motivó a que continuara con el tratamiento antifímico. Este trabajo se realizó en coordinación con la SSA lo cual permitió que los casos diagnosticados por el CIET recibieran el tratamiento antifímico de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, que utiliza la estrategia de Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado (TAES).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Factores de riesgo asociados a tos crónica

Primeramente se presentaron los resultados de la segunda fase del estudio. Se encuestaron a 6 242 personas mayores de 14 años en 2 072 hogares de cinco regiones con población indígena del estado de Guerrero. El promedio de personas por hogar fue de 6.2 (desviación estándar 2.95, rango 1-20). El 54.7% (3 414/6 242) fue del sexo femenino, y el promedio de edad fue 35 años (desviación estándar 17.1, rango 15-97). El 46.6% (2 908 /6 242) era náhuatl, 25.2 % (1 576 /6 242) mestizo, 18.8 % (1 175 /6 242) mixteco, 7.1 % (442 /6 242) amuzgo y 1.6 % (100 /6 242) tlapaneco (Cuadro 4). Sin embargo, no se trata de una muestra proporcional sobre representación de grupos indígena.

Cuadro 4. Datos demográficos de tosedores crónicos, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero, de marzo a agosto 2003.

Variable	n= 6 242	%
Sexo**		
Femenino	3 414	54.7
Masculino	2 828	45.3
Edad actual**		
14-25	2 371	38
26-35	1 324	21.2
36-45	1 024	16.4
46-55	654	10.5
56-65	445	7.1
≥66	422	6.8
Grupo indígena**		
Náhuatl	2 908	46.6
Mestizo	1 576	25.2
Mixteco	1 175	18.8
Amuzgo	442	7.1
Tlapaneco	100	1.6
Número de personas por hogar**		
1 - 5	1 250	60.3
6 - 10	743	35.9
≥11	79	3.8

** valor de p <0.05

Se localizaron por búsqueda activa a 649 (10.4%) tosedores crónicos entre las 6 242 personas encuestadas, de los cuales solamente el 65% (421/649) entregó muestra de esputo. De las 421 muestras analizadas se identificaron 10 personas (2.4%) con baciloscopia positiva. Siete de los 10 casos nuevos (70%) tuvieron baciloscopia positiva grado tres, el resto fue baciloscopia positiva grado uno. Todos los casos de tuberculosis diagnosticados fueron personas indígenas y pertenecían a los grupo étnicos mixteco, náhuatl y

amuzgo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Distribución de tosedores crónicos y casos de tuberculosis pulmonar diagnosticados, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero, de marzo a agosto 2003.

	Región					Total
	Zona Norte	Zona Centro	La Montaña	Costa Chica	Acapulco	
Hogares visitados	267	508	250	433	614	2 072
Personas ≥ 14 años encuestadas	966	1 482	727	1 339	1 728	6 242
Tosedores crónicos (n)	50	117	59	167	256	649
(%)	5.2	7.9	8.1	12.5	14.8	10.4
Muestras de esputo (n)	31	67	28	126	169	421
(%)	62	57.3	47.5	75.4	66	64.9
Casos de tuberculosis (n)	1	-	2	2	5	10
(%)	3.2	-	7.1	1.59	2.91	2.4
BK* positiva grado uno (n)	-	-	2	1	-	3
BK positiva grado tres (n)	1	-	-	1	5	7
Grupo étnico de los casos de TB						
Náhuatl	1	-	-	-	2	3
Mixteco	-	-	2	-	2	4
Amuzgo	-	-	-	2	1	3

BK*= baciloscopia

El 1.6% (97/6242) reportó antecedente de tuberculosis, las regiones con mayor frecuencia fueron Acapulco, Costa Chica y Zona Centro (valor de $p < 0.05$), Cuadro 6. El 61.9% (60/97) de los tosedores con antecedentes de TB había recibido tratamiento antituberculoso, sin embargo, solamente el 30% (18/60) recibió tratamiento completo (Cuadro 6). Una persona de catorce años o más que había enfermado de tuberculosis tuvo casi ocho veces el riesgo de tener tos crónica comparada con otra que no se enfermó (OR 7.9; IC95% 5.1-12.2), Cuadro 8. Al considerar la duración del tratamiento, una persona con tratamiento incompleto tuvo 3.4 veces el riesgo de tener tos crónica comparada con otra que terminó el tratamiento (OR 3.4; Miettinen IC95% 1.07-11.0).

Cuadro 6. Distribución de personas con tuberculosis anterior y tratamiento por región, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero, de marzo a agosto 2003.

	Región					Total
	Zona Norte	Zona Centro	La Montaña	Costa Chica	Acapulco	
Tuberculosis anterior (%)	0.2	0.8	0.1	1	3.9	1.6
(n)	966	1 482	727	1 339	1 728	6 242
Antecedente de tratamiento (%)	100	100	100	92.9	47.1	61.9
(n)	2	12	1	14	68	97
Tratamiento completo (%)	100	16.7	0	38.5	28.1	30
(n)	2	12	1	13	32	60

Entre las personas encuestadas en las regiones de la Zona Norte, Zona Centro, La Montaña y Costa Chica, el 25.9% refirió que visitó o trabajó en Acapulco. Probablemente, por la cercanía, los que más visitaron Acapulco fueron los de la Costa Chica; en cambio de la Zona Norte lo visitaron menos debido a que venden sus artesanías o van a trabajar a otras ciudades del Estado, del país o a Estados Unidos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Distribución de personas que visitaron o trabajaron en Acapulco, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero, de marzo a agosto 2003.

	Región				Total
	Zona Norte	Zona Centro	La Montaña	Costa Chica	
Visitó o trabajó en Acapulco (%)	13.1	27.9	26.1	32.9	25.9
(n)	966	1 480	727	1 339	4 512
Frecuencia de visitas a Acapulco (%)					
Una	54.3	37.8	43.7	37	40.2
Dos	18.1	23.5	23.2	19	21.2
tres	11	10.4	13.2	12	11.5
cuatro	6.3	4.3	15.9	36.5	5.4
cinco	5.5	5.6	2.6	10.2	6.8
≥6	7.9	16.5	12.1	16.6	14.9
(n)	127	413	190	441	1 171
Año de visita (%)					
1942-1969	0	2	0.6	2.3	1.7
1970-1989	14.2	13.3	20.8	10.7	13.5
1990-1999	20	26.2	13.9	24.4	24.5
2000-2003	65.8	58.5	54.7	62.6	60.3
(n)	120	405	159	430	1 114
Duración de la visita (%)					
<1 mes	10.1	42.6	13.1	34.2	54.7
1 a 11 meses	27.6	17.7	36.8	26.2	25.4
≥1 año	21.3	16.2	18.9	23.1	19.8
(n)	127	413	190	441	1 1171

En el análisis bivariado, se detectó mayor riesgo de padecer tos crónica con el incremento de la edad, asimismo, las mujeres tuvieron mayor probabilidad de ser tosedores crónicos (OR 1.19; IC95% 1.0-1.36); los residentes de la Costa Chica y Acapulco (OR 2.1; IC95% 1.75-2.5); los grupos tlapaneco, mixteco, amuzgo y mestizo (OR 1.91; IC95% 1.60-2.3); y aquéllos con antecedentes de tuberculosis (OR 7.9; IC95% 5.1-12.2), Cuadro 8.

Cuadro 8. Análisis bivariado de los factores asociados a tos crónica, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero, de marzo a agosto 2003.

Variables	Tosedor crónico		No tosedor		OR	(IC 95%)
	n=	(%)	n=	(%)		
Sexo						
Femenino	380	11.2	3 028	88.8	1.2	1.0-1.36
Masculino	269	9.6	2 544	90.4	1	
Edad						
15-25 años	171	7.2	2 190	92.8	1	
26-35 años	119	9	1 201	91	1.3	0.99-1.63
36-45 años	97	9.5	923	90.5	1.4	1.03-1.76
46-55 años	91	13.9	563	86.1	2.1	1.56-2.74
56-65 años	71	16	373	84	2.4	1.79-3.32
≥66 años	100	23.8	320	76.2	4	3.0-5.3
Región						
Zona Centro	117	8	1 348	92	1.6	1.12-2.3
La Montaña	59	8.1	665	91.9	1.6	1.08-2.4
Costa Chica	167	12.5	1 171	87.5	2.6	1.86-3.7
Acapulco	256	14.8	1 472	85.2	3.2	2.3-4.4
Zona Norte	50	5.2	916	94.8	1	
Grupo étnico						
Tlapaneco	26	26	74	74	4.4	2.7-7.2
Mixteco	153	13	1 022	87	1.9	1.51-2.4
Mestizo	197	12.6	1 369	87.4	1.8	1.47-2.2
Amuzgo	55	12.5	386	87.5	1.8	1.29-2.5
Náhuatl	213	7.3	2 685	92.7	1	
Antecedente de TB						
Si	45	46.4	52	53.6	7.9	5.1-12.2
No	602	9.9	5 501	90.1	1	
Número de personas por hogar						
1-5 personas	370	12.5	2 589	87.5	1.5	1.29-1.81
≥6 personas	279	8.6	2 983	91.4	1	
Ocupación						
Ninguna, hogar, empleo doméstico, técnicos, ambulantes, ayudante	349	12.5	2 444	87.5	1.5	(1.28-1.78)
Profesionista, estudiante, operador de transporte, artesanos, serv. público, agropecuario, comerciante	311	8.7	3 253	91.3	1	
Conoce algún enfermo de TB						
Si	133	14.8	765	85.2	1.7	1.39-2.1
No	447	9.1	4 462	90.9	1	

*OR= Odds Ratio, IC= Intervalo de confianza

El análisis multivariado muestra que los factores asociados a tos crónica fueron tener antecedentes de tuberculosis, ser mayor de 29 años, residir en la región de la Costa Chica o Acapulco, tener antecedente de conocer a algún enfermo de tuberculosis, y no tener empleo o ser ama de casa, empleada doméstica, vendedor ambulante o ayudante (Cuadro 9).

Cuadro 9. Factores de riesgo asociados a tos crónica, encuesta a hogares en cinco regiones del estado de Guerrero, de marzo a agosto 2003.

Factor	ORc	ORns	IC95%	Interacción (p=)
Antecedente de tuberculosis	8.32	6.4	4.17-9.8	0.99
Tener ≥ 30 años de edad	1.85	1.87	1.56-2.2	0.95
Residir en la Costa Chica o Acapulco	1.94	1.78	1.48-2.1	0.98
Conocer algún enfermo de TB	2	1.62	1.26-2.1	0.97
Sin empleo, ama de casa, empleada doméstica, ambulante o ayudante	1.37	1.26	1.06-1.51	0.95

*OR= Odds Ratio, ORns= Odds Ratio no sesgado, IC= Intervalo de confianza

El análisis epidemiológico de los factores de riesgos asociados a tos crónica en cinco regiones del estado de Guerrero aportan información relevante para futuras estrategias de prevención y control de la tuberculosis. La caracterización de los tosedores crónicos confirma en nuestra entidad cuales son los grupos con más riesgo, incluyendo personas con antecedentes de tuberculosis (este factor presentó mayor fuerza de asociación, es probable que este grupo permanezca en riesgo para esta enfermedad), mayores de 29 años de edad, contacto con algún enfermo de TB y personas con bajo nivel socioeconómico. Mientras que en algunas regiones como Acapulco y la Costa Chica se debe incrementar aún más la búsqueda de tosedores crónicos para el diagnóstico temprano e inicio de tratamiento de casos de TB, estas acciones tendrían impacto en la disminución de la transmisión de tuberculosis pulmonar.

Caracterización molecular de aislamientos de *M. tuberculosis* y transmisión reciente de TB pulmonar en el municipio de Acapulco

El municipio de Acapulco tiene una alta prevalencia de tosedores crónicos, una gran proporción de los casos de TB pulmonar se diagnostican en etapas avanzadas, así como una alta tasa de abandono de tratamiento. En Guerrero, conforme a los registros de la Secretaría de Salud, Acapulco es uno de los municipios con mayor incidencia de tuberculosis pulmonar. Para la tipificación molecular de los aislamientos de *M. tuberculosis*, estimar transmisión reciente de TB pulmonar e identificar los factores de riesgo asociados esta transmisión, se realizó un estudio con base poblacional. Entre febrero del 2001 a septiembre del 2002 fueron diagnosticados 330 casos de tuberculosis pulmonar en el municipio de Acapulco, Guerrero. De éstos, 30 (9%) pacientes no fueron localizados en los domicilios referidos y no se incluyeron por no obtener los datos epidemiológicos. En 273 (91%) de los 300 casos el diagnóstico fue confirmado mediante cultivo positivo al complejo *M. tuberculosis*.

Datos demográficos, epidemiológicos y características clínicas de los pacientes

Datos demográficos

Entre los 300 casos, 190 (63.3%) fueron del sexo masculino, y el promedio de edad fue 41.0 años (desviación estándar 15.5, rango 15-86). El 20.3% (61/300) no tenía antecedentes de estudios escolares; entre quienes sí estudiaron, el promedio de escolaridad fue de 6.75 años (n= 238). El 44% (132/300) de los pacientes era casado y 29% (87/300) soltero, los demás grupos se detallan en el Cuadro 1. El 91% (273/300) era mestizo. Entre los que pertenecían a un grupo indígena, el 59.3% (16/27) eran náhuatl, 33.3% (9/27) mixteco y 7.4% (2/27) amuzgo. El promedio de personas por hogar fue de 5.1 (desviación estándar 2.83, rango 1-20), Cuadro 10.

Cuadro 10. Datos demográficos de los casos de tuberculosis pulmonar del municipio Acapulco.

Variable	n= 300	%
Sexo*		
Masculino	190	63.3
Femenino	110	36.7
Edad actual**		
15-24	51	17
26-34	72	24
35-44	58	19.3
45-54	55	18.3
55-64	40	13.3
65 y +	24	8
Indígena**		
Si	27	9
No	273	91
Grupo indígena** (n = 27)		
Náhuatl	16	59.3
Mixteco	9	33.3
Amuzgo	2	7.4
Número de personas por hogar*		
1 - 3	85	28.3
4 - 6	144	48
7 - 9	51	17
≥10	20	6.7
Escolaridad**		
No estudió	61	20.3
Primaria incompleta	82	27.4
Primaria completa	64	21.3
Secundaria incompleta	11	3.7
Secundaria completa	40	13.3
Preparatoria incompleta	12	4
Preparatoria completa	17	5.7
Profesional	12	4
Estado civil**		
Casado	132	44
Soltero	87	29
Unión libre	47	15.7
Divorciado	17	5.7
Viudo	17	5.7

* valor de p 0.05, ** valor de p <0.05

Lugar de origen y migración

El 90.7% (272/300) era originario del estado de Guerrero; de éstos, el 55.1% (150/272) dijo ser de la región de Acapulco. El 58.7% (172/293) vivió menos de 16 años en su comunidad de origen. El promedio de lugares de residencia fue de 2.6 (desviación estándar 1.66, rango 1-10), Cuadro 11.

Cuadro 11. Datos sobre movimientos migratorios de los casos de TB pulmonar.

Variable	n= 300	%
Estado de origen**		
Guerrero	272	90.7
Oaxaca	11	3.7
Estado de México	4	1.3
Michoacán	3	1
Otros Estados	10	3.3
Región de origen** (n= 272)		
Acapulco	150	55.1
Zona Centro	25	9.2
La Montaña	7	2.6
Costa Chica	46	16.9
Costa Grande	21	7.7
Zona Norte	8	2.9
Tierra Caliente	12	4.4
Tiempo de residencia en su lugar de origen** (n= 293)		
≤ 5 años	77	26.3
6-10 años	55	18.3
11-15 años	40	13.7
16-20 años	45	15.4
21-25 años	21	7.2
26 años y más	55	18.8
Número de lugares de residencia** (n= 260)		
Uno	68	26.2
Dos	92	35.4
Tres	49	18.8
Cuatro	24	9.2
Cinco a diez	27	10.4

** valor de p <0.05

Ocupación del paciente de TB

El 76.3% (229/300) tenía un empleo remunerado en el momento del estudio. Las ocupaciones más reportadas fueron: artesanos y obreros, 20.3% (61/300); ama de casa, 16.3% (49/300); comerciante, 10.7% (32/300); agropecuarios, 8.0% (24/300); y operador de transporte, 7.0% (21/300). Entre quienes sí tenían empleo remunerado el 28.4% (65/229) reportó que realizaba su trabajo en diversos lugares y el 21.0% (48/229) trabajaba en un área sin ventilación (Cuadro 12).

Cuadro 12. Características sobre la ocupación del caso de TB pulmonar.

Variable	n= 300	%
Ocupación*		
Artesanos y obreros	61	20.3
Ama de casa	49	16.3
Comerciante	32	10.7
Agropecuarios	24	8
Operador de transporte	21	7
Ayudantes y similares	20	6.7
Ninguna	18	6
Técnicos	17	5.7
Protección y vigilancia	16	5.3
Empleada doméstica	16	5.3
Ambulantes	12	4
Profesionista	7	2.3
Estudiante	4	1.3
Servicios públicos	3	1
Centro de trabajo**		
Diversos lugares	65	28.4
Casa	23	10
Calle	16	7
Campo	15	6.6
Transporte urbano	14	6.1
Hotel	14	6.1
Playa	11	4.8
Mercado	11	4.8
Policía	8	3.5
Cárcel	8	3.5
Restaurante	7	3.1
Centro	5	2.2
Escuela	4	1.7
Tortillería	4	1.7
Otros lugares	24	10.5
Área de trabajo sin ventilación*		
Si	48	21
No	181	79

* valor de p 0.05, ** valor de p <0.05

Características de la vivienda

El 75.3% (225/300) dijo que su casa era propia. El 69.7% (209/300) vivía en una casa de cemento. El 33.8% (101/300) de las casas tenía un cuarto y el 25.4% (76/300) no tenía ventanas. El promedio de personas que dormía con el caso de tuberculosis fue de 2.4 (desviación estándar 2.12, rango 0-15), Cuadro 13.

Cuadro 13. Características de la vivienda, encuesta a casos de TBP en el municipio de Acapulco.

Variable	n= 300	%
Tipo de material de la casa**		
Cemento	209	69.7
Madera	45	15
Adobe	23	7.7
Lámina	13	4.3
Hueso	9	3
Número de cuartos en la casa**		
Uno	101	33.8
Dos	106	35.5
Tres	55	18.4
Cuatro	28	9.4
Cinco o más	9	3
Número de ventanas en la casa**		
Ninguna	76	25.4
Una	114	38.1
Dos	90	30.1
Tres o más	19	6.3
Número de personas que duermen con el caso de TB**		
Ninguna	32	10.7
Una	92	30.8
Dos	70	23.4
Tres	40	13.4
Cuatro	20	6.7
Cinco	18	6
Seis y más	27	8
Propiedad de la casa**		
Si	225	75.3
No	74	24.7

* valor de p 0.05, ** valor de p <0.05

Consumo de alcohol

El 60.3% (181/299) dijo que había consumido alcohol en los últimos cinco años y el 62.0% (186/299) reportó que actualmente no tomaba. Entre quienes sí tomaban alcohol, el 19.6% (22/112) dijo que lo consumía en grandes cantidades. Los lugares de consumo más frecuentes fueron: cantina, 25.9% (29/112); casa, 25.0% (28/112); fiesta, 17.9% (20/112); cualquier sitio, 11.6% (13/112),

Cuadro14.

Cuadro 14. Datos sobre hábitos de consumo de alcohol de los casos de TB pulmonar.

Variable	n= 300	%
<i>Frecuencia de consumo de bebidas alcohólicas*</i>		
No toma	186	62
Una vez por semana	36	12
Diario	24	8
Una vez por mes	14	4.7
Cada tercer día	13	4.3
Cada seis meses	9	3
Dos veces por mes	8	2.7
Cada dos meses	7	2.3
Cada doce meses	2	2.7
<i>Cantidad de alcohol que acostumbra tomar** (n= 112)</i>		
Una copa	5	4.5
Dos	10	8.9
Tres	8	7.1
Cuatro	2	1.8
Cinco	12	10.7
Seis	10	8.9
Siete	2	1.8
Ocho	5	4.5
Diez a quince	22	19.6
Veinte o treinta	12	10.7
Grandes cantidades	22	19.6
<i>Lugar de consumo** (n= 112)</i>		
Cantina	29	25.9
Casa	28	25
Fiesta	20	17.9
Cualquier lugar	13	11.6
Tienda	5	4.5
Colonia	5	4.5
Playa	4	3.6
Restaurante	2	1.8
Trabajo	2	1.8
Otros	3	2.7
<i>Consumo anterior de alcohol (en los últimos 5 años)**</i>		
Si	181	60.3

* valor de p 0.05, ** valor de p <0.05

Características clínicas

El 35.6% (107/300) dijo que tuvo tos durante más de seis meses. El 50.3% (151/299) presentó hemoptisis y el 90.3% (271/299) pérdida de peso. Previamente había padecido TB pulmonar 8.7% (26/300) y 44% (132/300) reportó alguna enfermedad asociada; como diabetes 58.3% (77/132), consumo de drogas 15.2% (20/132), SIDA 9.1% (12/132) y alcoholismo 2.3% (7/132), Cuadro 15.

Cuadro 15. Características clínicas de los casos de TB pulmonar.

Variable	n= 300	%
Tiempo de duración de la tos**		
No tuvo tos	13	4.3
1-2 meses	82	27.3
3-4 meses	67	22.3
5-6 meses	31	10.3
7-11 meses	37	12.3
12-23 meses	38	12.7
24 meses	19	6.3
Hemoptisis**	151	50.3
Pérdida de peso**	271	90.3
Fiebre**	227	75.7
Tuberculosis anterior** Si	26	8.7
Enfermedad asociada**	132	44
Tipo de enfermedad asociada** (n = 132)		
Diabetes	77	58.3
Drogadicción	20	15.2
SIDA	12	9.1
Alcoholismo	7	5.3
Desnutrición	3	2.3
Otras	13	9.8
Esposo/a con tuberculosis anterior** (n= 190)		
Si	22	11.6
No	164	86.3
Contacto con algún enfermo de tuberculosis (en los últimos cinco años)**		
Si	112	37.3
No	150	50
No sabe	37	12.3

* valor de p 0.05, ** valor de p <0.05

Patrones de DNA de los aislamientos de *M. tuberculosis* analizados por DRE-PCR y spoligotyping

Entre los aislamientos tipificados por DRE-PCR, en el 6.9% (19/273) no se detectó huella genética. En los 254 aislamientos donde se obtuvo un patrón, se observaron 116 patrones distintos, de los cuales 91 presentaron un patrón único, los 163 (64.2%) aislamientos restantes estuvieron agrupados en 25 conglomerados. El tamaño de los conglomerados varió de 2 a 40 pacientes. La distribución de los patrones de acuerdo con el número de bandas fue: 33% (84/254) con una banda, 25.6% (65/254) con dos bandas y 41.3% (105/254) presentó tres o más bandas. Debido a que un gran número de aislamientos mostraron patrones con pocas bandas, lo cual no está considerado aceptable como huella digital, limitó el uso de DRE-PCR para identificar conglomerados de cepas. En la Figura 19 se muestra un gel con algunos patrones obtenidos por DRE-PCR.

Mediante espiligotipificación se analizaron 267 aislamientos e identificaron 85 genotipos distintos. De éstos, 59 presentaron un patrón único, los 208 (77.9%) aislamientos restantes estuvieron agrupados en 26 conglomerados que fueron compartidos con al menos un paciente. El tamaño de los conglomerados varió de 2 a 70 pacientes, sin embargo, la mayoría (21/26) incluyó de 2 a 5 pacientes. (Cuadro 16 y 17). En la Figura 20 se muestra una membrana de los resultados moleculares obtenidos por espiligotipificación.

Cuadro 16. Número de patrones y conglomerados obtenidos según el método de tipificación utilizado.

Método de tipificación	No. de patrones identificados	No. de aislamientos en cluster (%)	No. de conglomerado	Promedio de aislamientos en cluster (rango)
Spoligotyping	85	208/267 (77.9)	26	8 (2-70)
DRE-PCR	116	163/254 (64.2)	25	6.5(2-40)

Figura 21. Patrones obtenidos por DRE-PCR de los aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* obtenidos de 17 enfermos por tuberculosis pulmonar. La línea 1 es el control negativo, la línea 2 es el control positivo, la línea 3 es el marcador de peso molecular y las líneas 4-20 son los patrones de las muestras analizadas.

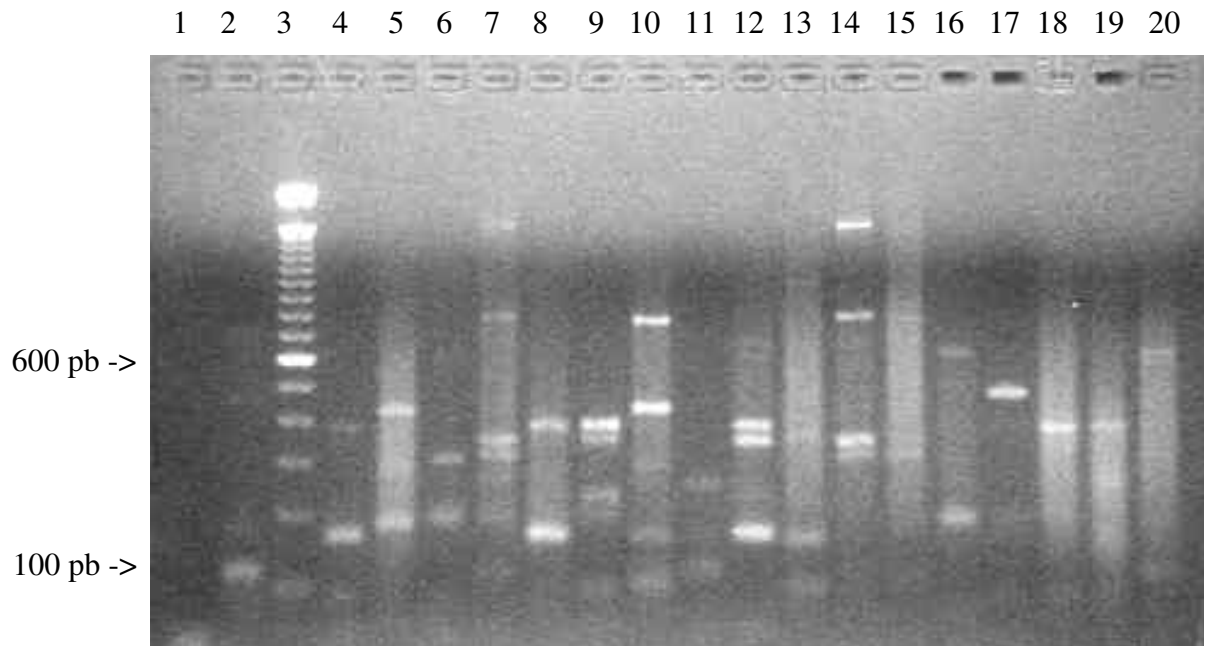
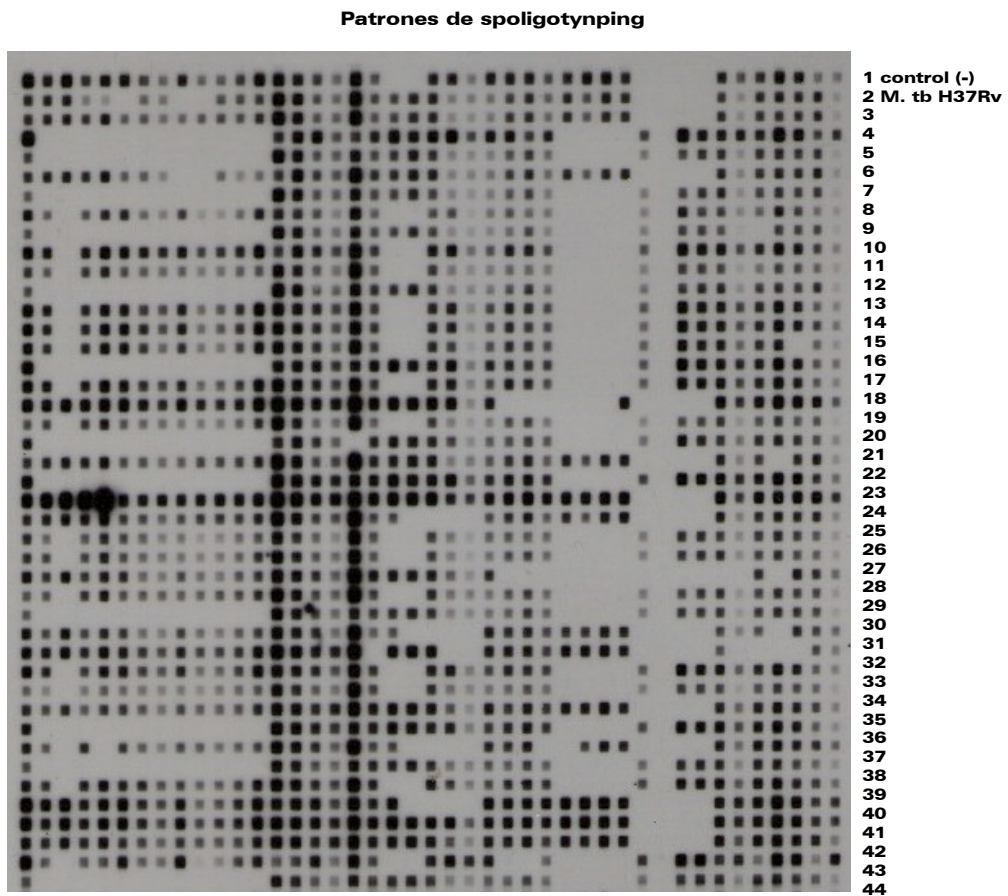


Figura 22. Patrones de spoligotyping de los aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* obtenidos de 42 enfermos por tuberculosis pulmonar. La línea 1 es el control negativo, la línea 2 es la cepa de referencia H37Rv y las líneas 3-44 son los patrones de las muestras analizadas. Los puntos negros es la señal de hibridación y los espacios faltantes es la señal de no hibridación. Nota: Las Líneas 9, 11, 12, 14, 15, 18, 20, 26, 27, 29, 33, 34 y 39 son características del la Familia o cepa Manila.



Asumiendo que un conglomerado típico de n personas incluye un caso índice con TB por reactivación endógena y $n-1$ pacientes con TB adquirida recientemente (Small PM et al, 1994), estimamos que durante el periodo de estudio, por lo menos, 68% (208-26) de los 267 casos fueron debido a infección reciente que progreso a enfermedad activa.

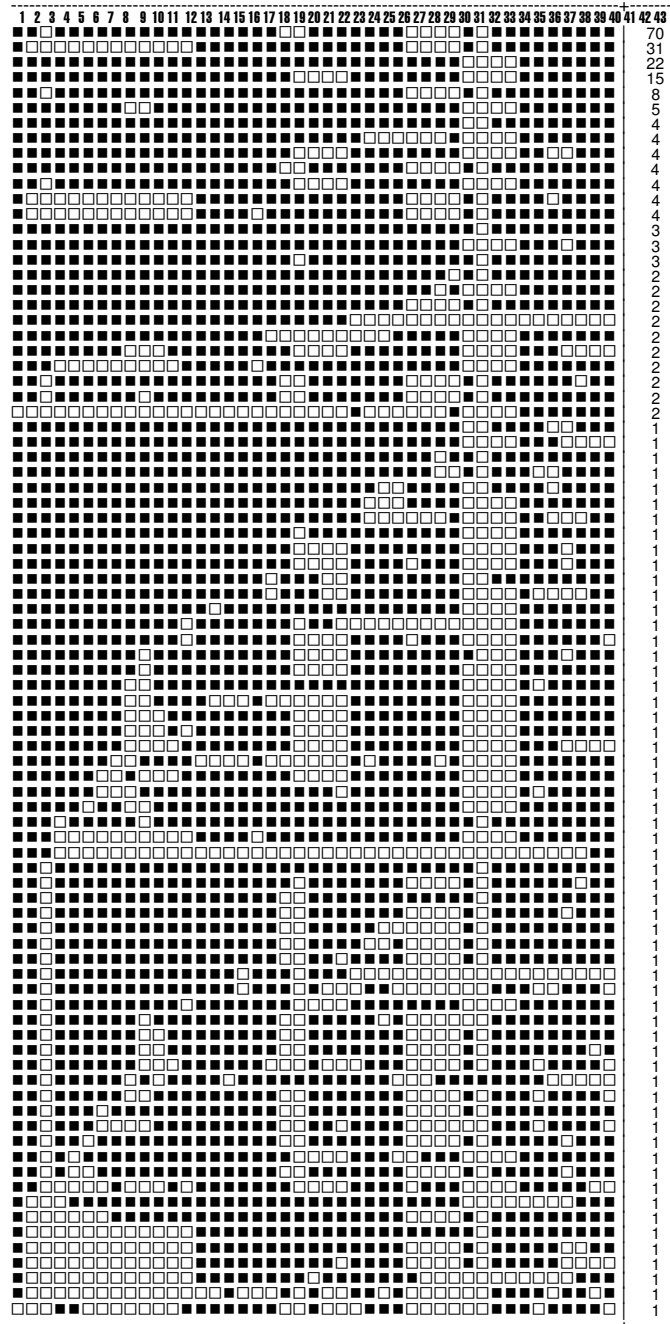
Cuadro 17. Número y tamaño de cada conglomerado obtenido por spoligotyping

Tamaño del conglomerado (No. de pacientes)	No. de conglomerados	Total de pacientes
70	1	70
31	1	31
22	1	22
15	1	15
8	1	8
5	1	5
4	7	28
3	3	9
2	10	20
Total	26	208

El conglomerado más grande de 70 pacientes, incluyó el 33.6% (70/208) de los aislamientos en conglomerado; el patrón del spoligotipo era igual al previamente reportado como Familia Manila de *M. tuberculosis* (Douglas et al, 2003). En el Cuadro 18 se muestran los patrones de los aislamientos de *M. tuberculosis* en conglomerado y genotipos únicos obtenidos por spoligotipificación.

Cuadro 18. Representación esquemática de los patrones de *Mycobacterium tuberculosis* detectados por spoligotyping, de 267 aislamientos de Guerrero, México.

Espoligotipos | N



En la fila superior está marcado el número de espacios (1 a 43) de la región directa repetida (DR) del cromosoma de *M. tuberculosis*; las filas (n 85) del centro representan cada uno de los genotipos de los aislamientos analizados, (■) hibridización del espacio y (□) no hibridización; y en la columna a la derecha la N indica el número de pacientes.

Comparación de los métodos de tipificación utilizados para evaluación de la sensibilidad, especificidad y poder discriminatorio

La comparación del método de DRE-PCR con el spoligotyping fue para considerar sus capacidades para predecir agrupamiento entre las cepas de *M. tuberculosis* aisladas en Guerrero. Fueron utilizados tres puntos de corte para la evaluación de la técnica de DRE-PCR. En el primero, se consideraron como aislamientos agrupados aquéllos que mostraron patrones idénticos con una o más bandas; en el segundo, a los que tuvieron patrones idénticos con dos o más bandas; y en el tercer corte, se consideró a los que presentaron patrones idénticos con tres o más bandas. Esta clasificación se aplicó debido a la limitación que tiene el DRE-PCR cuando el número de bandas es escaso, los patrones con una o dos bandas no logran un suficiente poder discriminatorio para diferenciar entre aislamientos no relacionados (Friedman et al, 1995).

En los tres puntos de corte los valores de sensibilidad mostrados por el DRE-PCR fueron bajos 64%, 35% y 14% respectivamente, por lo que no se puede recomendar su uso como prueba de tamizaje. Las pruebas de este tipo deben tener una alta sensibilidad para poder captar todos los enfermos y, en este caso, para identificar las cepas agrupadas. Sin embargo, la especificidad obtenida al considerar el tercer corte (≥ 3 bandas) permite sugerir su utilidad como prueba confirmatoria en la detección de cepas en conglomerado (Cuadro 19). Estos resultados sugieren que el spoligotyping tuvo una mayor capacidad para detectar las cepas en conglomerado. Otros autores reportan que spoligotyping es sencillo, altamente reproducible, así como la ventaja específica de alto poder discriminario entre las cepas con bajo número de copias de IS6110 (Bauer J et al, 1999; van Soolingen D, 2001)

Cuadro 19. Sensibilidad y especificidad de la técnica de DRE-PCR considerando el método de espiligotipificación como prueba de referencia

Parámetro	DRE-PCR (1o) patrones de ≥ 1 bandas para cluster	DRE-PCR (2o) patrones de ≥ 2 bandas para cluster	DRE-PCR (3ro) patrones de ≥ 3 bandas para cluster
Sensibilidad %	64.4 (125/194)	35.1 (68/194)	17.0 (33/194)
Especificidad %	40.0 (22/55)	69.1 (38/55)	89.1 (49/55)
Falsos negativos %	35.6 (69/194)	64.9 (126/194)	83.0 (161/194)
Falsos positivos %	60.0 (33/55)	30.9 (17/55)	10.9 (6/55)
Valor predictivo positivo %	79.1 (125/158)	20.0 (17/85)	15.7 (6/39)
Valor predictivo negativo %	24.2 (22/91)	23.2 (38/164)	23.3 (49/210)
Exactitud %	59.0 (125+22/249)	42.6 (68+38/249)	32.9 (33+49/249)

El poder discriminario de una prueba permite evaluar la capacidad de dos pruebas para distinguir entre cepas no relacionadas (en este caso para ver si corresponde a un patrón en conglomerado). Este índice es un modelo matemático que se basa en la probabilidad de dos cepas siendo caracterizada como no relacionadas en una población evaluada por el método de tipificación y puede ser utilizado para comparar métodos de tipificación. El poder discriminario esta determinado por el número y frecuencia de los tipos de patrones identificados por la prueba. Fue calculado usando el índice discriminario de Hunter-Gaston (IDHG) para cada método de

tipificación.

El IDHG se calculó usando la siguiente fórmula (Hunter PR and Gaston MA, 1998):

$$IDHG = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^S n_j(n_j - 1)$$

El método de espoligotipificación tuvo un poder discriminatorio relativamente bajo (IDHG = 0.907) comparado con los obtenidos por el otro método. El DRE-PCR mostró un incremento en el índice de discriminación al considerar aislamiento agrupado con un mayor número de bandas en los patrones (IDHG 0.956-0.997), Cuadro 20. Sin embargo, una de las limitantes del DRE-PCR es la reproducibilidad del método, en un estudio previo se observó que el spoligotyping es altamente reproducible mientras que el DRE-PCR fue pobremente reproducible (Kremer et al, 2005). Otra de las ventajas de spoligotyping, los patrones obtenidos se codifican de forma binaria (espacio hibridizado y no hibridizado), por lo que no requiere de un software especial o personal altamente capacitado para el análisis de los resultados. Spoligotyping comparado con el RFLP tiene la ventaja específica de alto poder discriminatorio entre las cepas con bajo número de copias de IS6110 (Bauer J et al, 1999; van Soolingen D, 2001)

Cuadro 20. Índice de discriminación por método de tipificación de *Mycobacterium tuberculosis*.

Método	Índice de discriminación	No. de tipos	Tamaño del cluster más grande (%)
Espolifotificación	907	85	70 (34.1%)
DRE-PCR ≥ 1 banda	956	109	40 (25.0%)
DRE-PCR ≥ 2 bandas	986	109	25 (29.1%)
DRE-PCR ≥ 3 bandas	997	109	12 (30.8%)

Descripción de los conglomerados identificados por spoligotyping

Los conglomerados con mayor proporción de pacientes fueron el conglomerado 1 (n=70), conglomerado 2 (n= 31), conglomerado 3 (n= 22), conglomerado 4 (n= 15) y conglomerado 5 (n= 8), los cuales incorporaron al 70% (146/208) de los pacientes con TB pulmonar. Las características de los pacientes incluidos en estos cinco conglomerados se muestran en el Cuadro 21. A pesar de ser un estudio transversal, se obtuvo información epidemiológica que permite hacer un análisis retrospectivo tomando en cuenta la fecha de inicio de síntomas, para identificar y conocer las características del “primer caso” (caso índice) en los conglomerados más grandes de la serie de estudio. Se observó que en la mayoría de los conglomerados el “primer caso” estuvo relacionado con consumo de alcohol, edad joven (menor de 40 años), sexo masculino, resultado bacteriológico positivo con gran carga bacilar (grado tres), así como un largo periodo de duración de los síntomas (\bar{X} 4 años; rango de 1.6 a 10 años). En el conglomerado de la cepa Manila con

mayor número de pacientes, el caso índice fue un joven de 35 años que era drogadicto y alcohólico, presentó síntomas durante 10 años y TB pulmonar en etapa muy avanzada, la baciloscopia fue positiva grado tres.

Cuadro 21. Características de los conglomerados más grandes detectados por spoligotyping

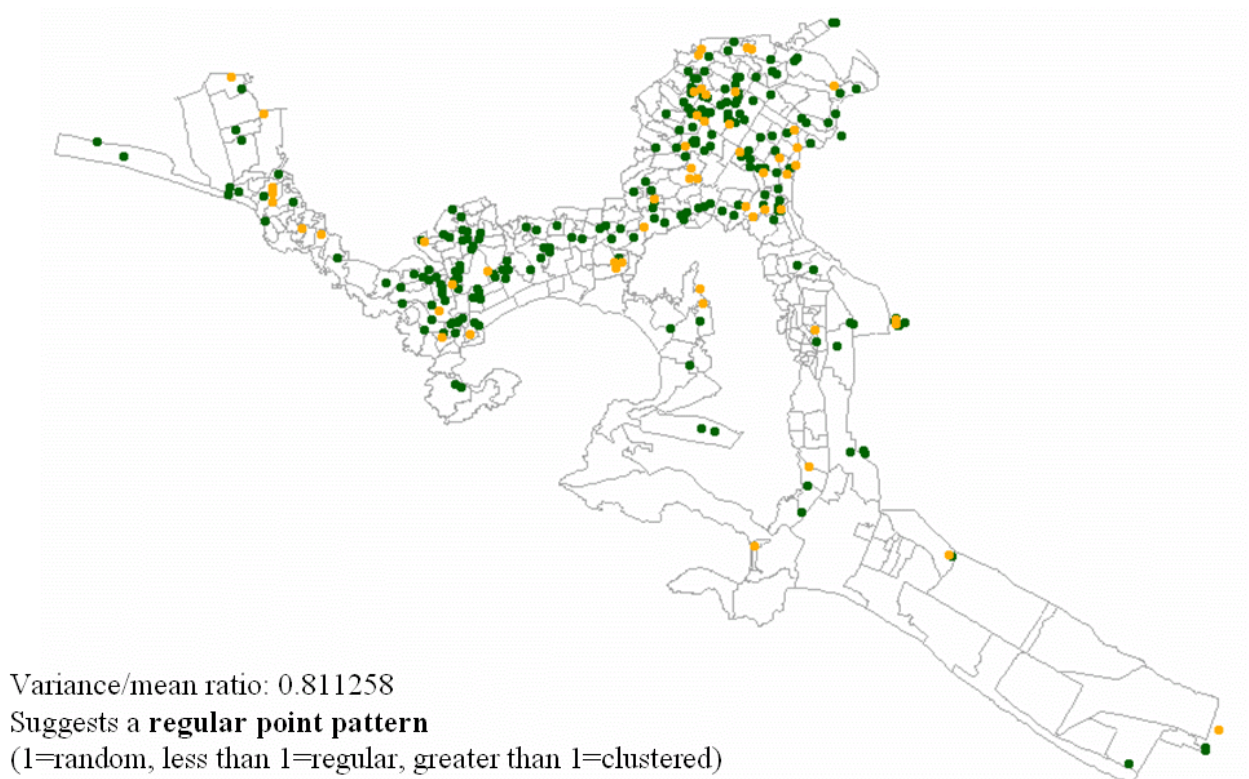
No. Cluster	No. de personas (hombres)	\bar{x} edad años (rango)	Estado de origen	Grupo étnico	Patología/ asociada	Enf. de Inmunocompromiso	TB previa	Conto/ caso TB	TB conyuge	BAAR diagnóstico
1	70 (45)	41.6 (15-86)	62 Gro 4 Oax 1 EdoMex 1 DF 1 Gto 1 Tbasco	4 Nah	30 (43%)	17 Diabetes 2 SIDA 2 Alcoholismo 2 Drogadicción 2 Desnutrición	7 10%	27 39%	5 8%	+ 47% ++ 23% +++ 30%
2	31 (21)	41.2 (21-73)	28 Gro 1 Oax 1 EdoMex 1 Verac	2 Nah	14 (45%)	10 Diabetes 1 SIDA	4 13%	8 26%	5 17%	+ 36% ++ 19% +++ 45%
3	22 (19)	44.0 (22-76)	20 Gro 1 Oax 1 EdoMex	3 Nah 1 Mix	6 (27%)	4 Diabetes 1 Alcoholismo 1 Drogadicción	3 14%	9 41%	0	++ 36% +++ 64%
4	15 (7)	45.4 (19-75)	13 Gro 1 Oax 1 Mich	1 Nah 2 Mix	9 (60%)	3 Diabetes 1 SIDA 1 Alcoholismo 3 Drogadicción	0	8 53%	0	+ 33% ++ 27% +++ 40%
5	8 (4)	43.6 (23-68)	8 Gro	2 Mix	4 (50%)	1 Diabetes 2 Drogadicción	0	5 63%	0	+ 12.5% +++ 87.5%
Genotipo unico	59 (32)	41.3 (18-75)	54 Gro 1 Oax 1 Puebla 1 Mich 1 SnLuis P 1 Veracruz	4 Nah 2 Amz 1 Mix	27 (46%)	20 Diabetes 2 SIDA 1 Alcoholismo 3 Drogadicción 1 Desnutrición	8 14%	21 36%	6 12%	+ 30% ++ 30% +++ 60%

Estado de Origen: Gro=Guerrero, Oax=Oaxaca, EdoMex= Estado de México, DF=Distrito Federal, Gto=Guanajuato, Tbasco=Tabasco, Verc=Veracruz, Mich=Michoacán SnLuisP= San Luis Potosi
Grupo étnico: Nah=Náhuatl, Mix=Mixteco, Amz=Amuzgo

Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa en conglomerado

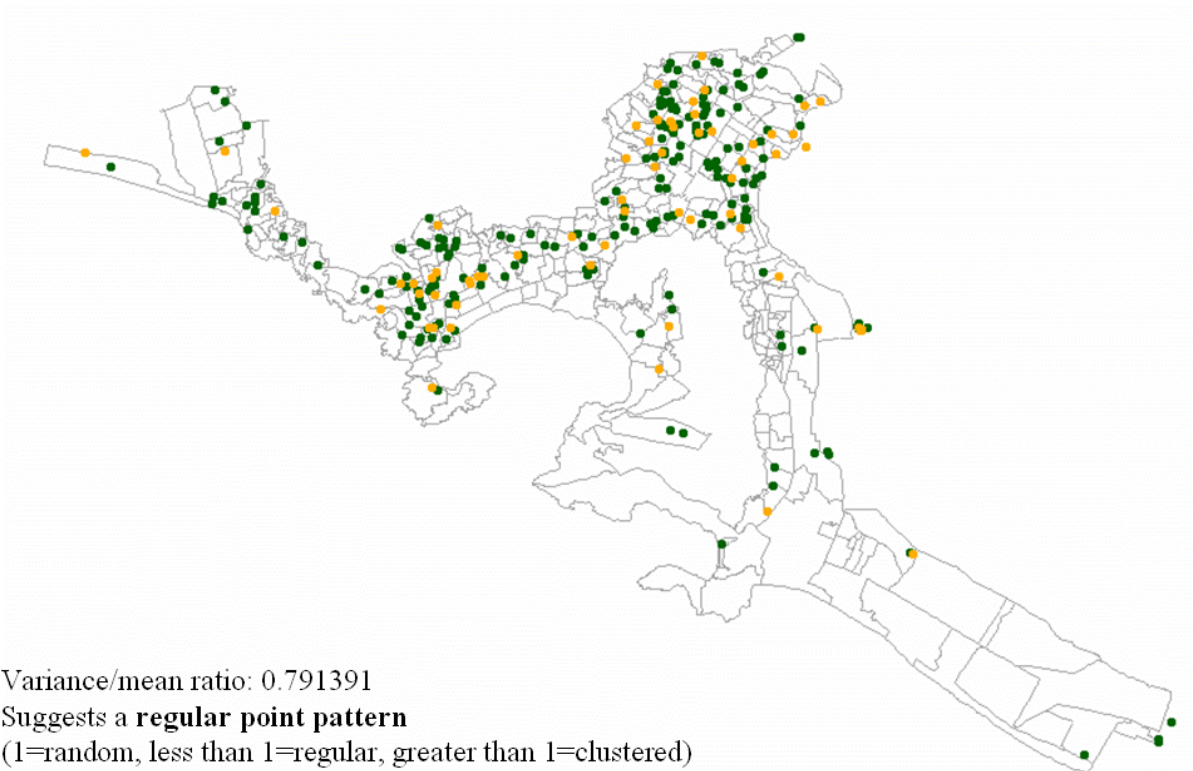
No hay evidencia de agrupación en espacio y lugar, esto implica que la ruta de infección reciente tiene algo más que ver con otros factores que el lugar de residencia. La asociación de área o colonia y la ocurrencia geográfica de los casos de tuberculosis pulmonar, tomando en cuenta las cepas con patrón único y las cepas de los conglomerados uno a cuatro, tiene más que ver con el tipo de lugar que con el lugar de residencia actual, debido a que las varianzas muestran que los pacientes se distribuyen geoespacialmente al azar (Figuras 21-25).

Figura 23. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa de genotipo único comparado con las cepas en conglomerado.



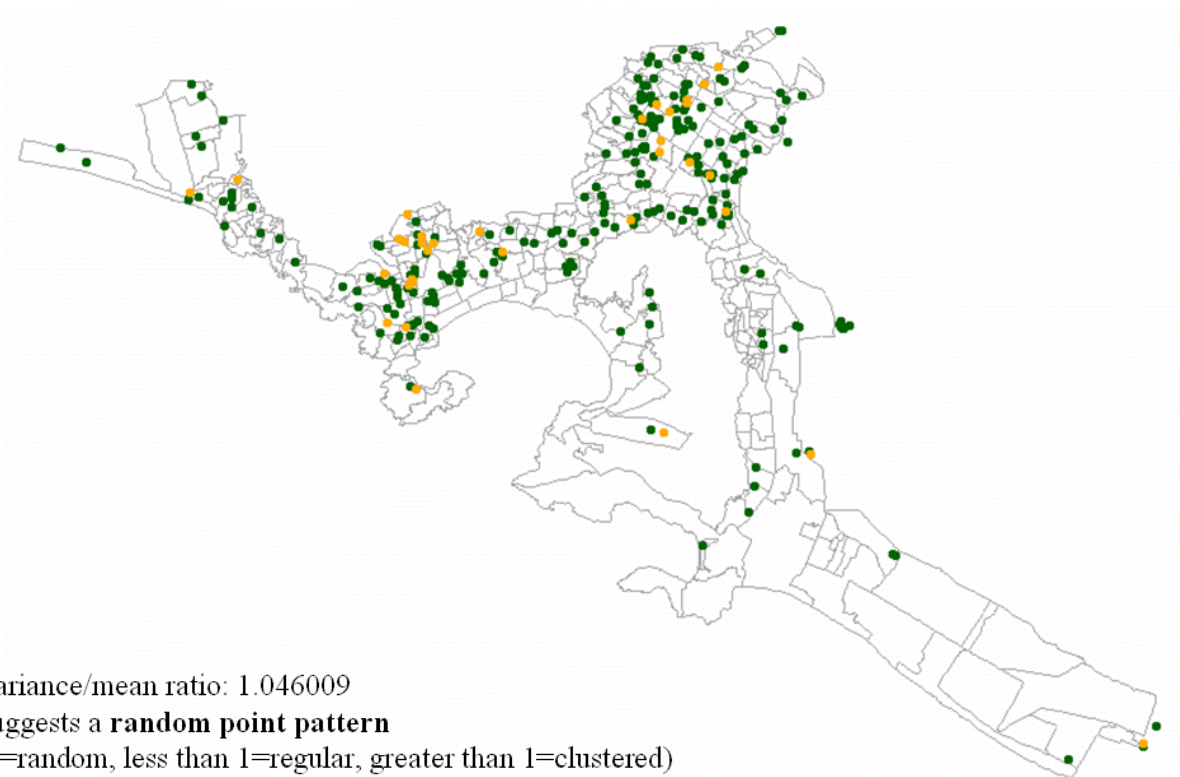
Nota: Los puntos naranja representan a los pacientes con cepas con patrón único.
Los puntos verdes representan a los pacientes con cepas en conglomerado.

Figura 24. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado uno comparado con el resto de las cepas.



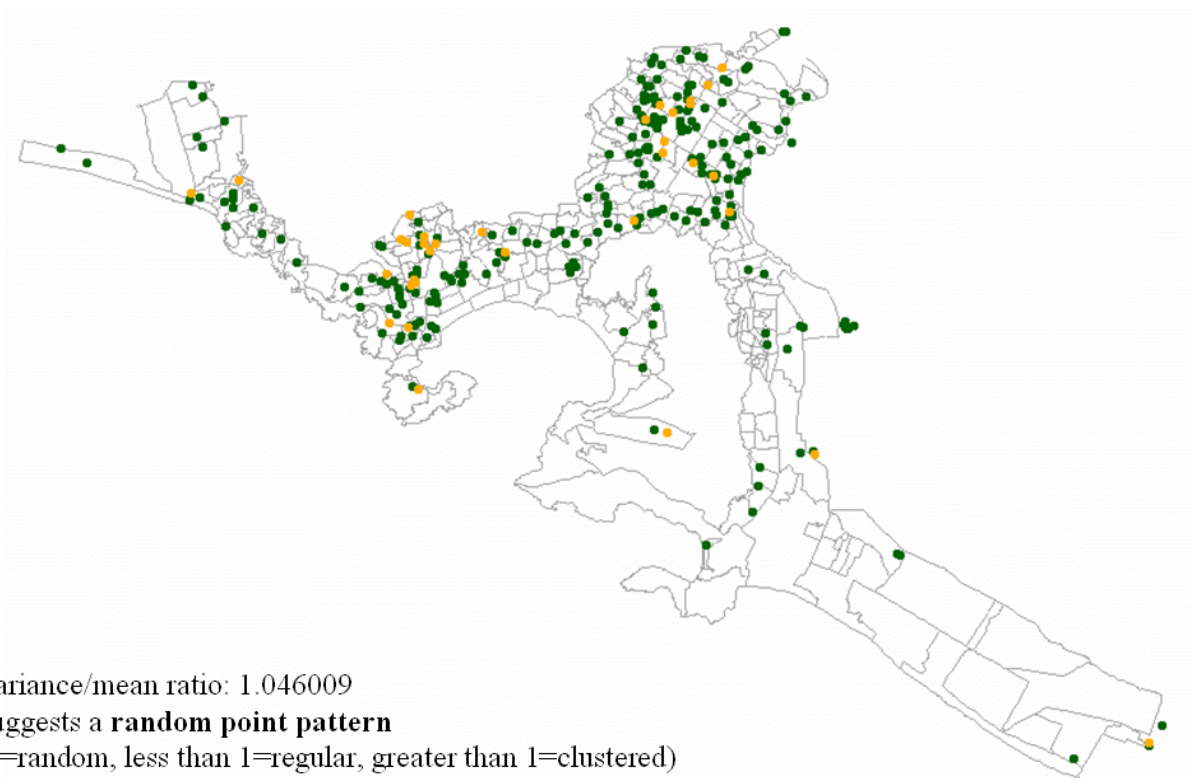
Nota: Los puntos naranja representan a los pacientes con cepas del conglomerado uno.
Los puntos verdes representan a los pacientes con cepas de otros conglomerados y patrón único.

Figura 25. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado dos comparado con el resto de las cepas.



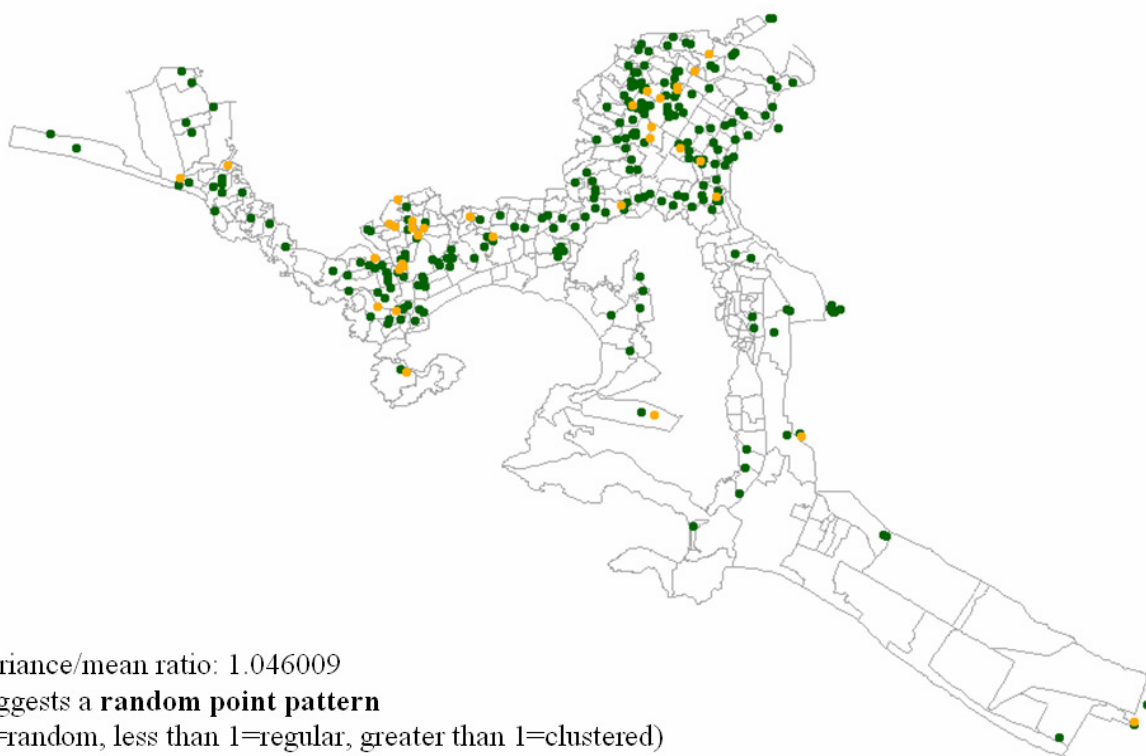
Nota: Los puntos naranja representan a los pacientes con cepas del conglomerado dos.
Los puntos verdes representan a los pacientes con cepas de otros conglomerados y patrón único.

Figura 26. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado tres comparado con el resto de las cepas.



Nota: Los puntos naranja representan a los pacientes con cepas del conglomerado tres.
Los puntos verdes representan a los pacientes con cepas de otros conglomerados y patrón único.

Figura 27. Distribución geográfica de los casos de tuberculosis con cepa del conglomerado cuatro comparado con el resto de las cepas.



Nota: Los puntos naranja representan a los pacientes con cepas del conglomerado cuatro.
Los puntos verdes representan a los pacientes con cepas de otros conglomerados y patrón único.

Factores de riesgo para la transmisión de cepas en conglomerado entre los casos TB

Migración y transmisión de cepas en conglomerado

Aproximadamente la mitad (144/293) de los casos de tuberculosis habían migrado al municipio de Acapulco, éstos eran originarios de otras regiones del estado de Guerrero (Costa Chica, Zona Centro, Costa Grande, Tierra Caliente, Zona Norte y la Montaña), así como de otros estados del país, principalmente de Oaxaca, Estado de México y el Distrito Federal. Entre los migrantes se detectó que el 76.2% (99/130) tenía una cepa en conglomerado, mientras que en los no migrantes fue el 79.5% (105/132). En el análisis univariado no se encontró suficiente evidencia de la asociación entre migración y conglomerado de cepas (OR 1.22, IC95% 0.68-2.2). No obstante, en el modelo de regresión logística este factor fue predictor de cepa en conglomerado, lo cual se reporta al final del capítulo.

Grupo étnico y transmisión de cepas en conglomerado

Respecto a la caracterización de los 267 aislamientos de *M. tuberculosis* analizados por spoligotyping, entre los 26 indígenas, 19 (73.1%) tenían una cepa en conglomerado, mientras que en los mestizos fue el 78.4% (189/241), Cuadro 22.

Cuadro 22. Distribución de los patrones únicos o en conglomerado por grupo étnico

	Grupo étnico				Total	
	Indígena		Mestizo		n	%
	n	%	n	%		
Patrón en conglomerado	19	73.1	189	78.4	208	77.9
Patrón único	7	26.9	52	21.6	59	22.1
Total	26	100	241	100	267	

En el total de aislamientos se observaron 208 (77.9%) cepas agrupadas en 26 conglomerados. Los conglomerados 1 y 2 entre los mestizos fue del 50% (95/189) y únicamente 6/19 (31.6%; $p=0.13$) indígenas. Sin embargo, los conglomerados 3, 4 y 5 se presentaron en 9/19 (47.4%), mientras que en los mestizos fue del 19% (36/189), $p=0.010$, Cuadro 23.

Cuadro 23. Distribución de los conglomerados detectados por spoligotyping según el grupo étnico

No. Cluster	Indígena		Mestizo		Total	
	n	%	n	%	n	%
1	4	21.1	66	34.9	70	33.7
2	2	10.5	29	15.3	31	14.9
3	4	21.1	18	9.5	22	10.6
4	3	15.8	12	6.3	15	7.2
5	2	10.5	6	3.2	8	3.8
6	1	5.3	4	2.1	5	2.4
7	0	-	4	2.1	4	1.9
8	1	5.3	3	1.6	4	1.9
9	1	5.3	3	1.6	4	1.9
10	0	-	4	2.1	4	1.9
11	0	-	4	2.1	4	1.9
12	0	-	4	2.1	4	1.9
13	0	-	4	2.1	4	1.9
14	0	-	3	1.6	3	1.4
15	0	-	3	1.6	3	1.4
16	1	5.3	2	1.1	3	1.4
17	0	-	2	1.1	2	1
18	0	-	2	1.1	2	1
19	0	-	2	1.1	2	1
20	0	-	2	1.1	2	1
21	0	-	2	1.1	2	1
22	0	-	2	1.1	2	1
23	0	-	2	1.1	2	1
24	0	-	2	1.1	2	1
25	0	-	2	1.1	2	1
26	0	-	2	1.1	2	1
Total	19	100	189	100	208	100

Entre los náhuatl 6/12 tuvo las cepas de los conglomerado 1-2, y 4/12, cepas de los conglomerado 3-4. Entre los Mixtecos no se identificaron los patrones de los conglomerado 1-2, sin embargo, 5/7 presentaron los conglomerado 3-5. De los aislamientos con patrón único entre los indígenas 4/7 fue náhuatl, 2/7 fue amuzgo y 1/7 mixteco (Cuadro 24).

Cuadro 24. Frecuencia de los conglomerados y genotipos únicos por grupo indígena

Grupo indígena	No. de conglomerado										genotipo único
	1	2	3	4	5	6	8	9	16		
Náhuatl (n=16)	4	2	3	1	0	0	1	0	1		4
Mixteco (n= 8)	0	0	1	2	2	1	0	1	0		1
Amuzgo (n= 2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-		2
Total	4	2	4	3	2	1	1	1	1		7

Al analizar la asociación entre los conglomerados 3-5 y grupo étnico, un caso de TB pulmonar que era indígena tuvo casi cuatro veces el riesgo de tener una cepa de los conglomerados 3-5 comparado con un mestizo (OR 3.8, IC95% 1.30-11.2). La migración y área no explicaron esta asociación, aunque fue más fuerte entre los que migraron y entre habitantes del área rural (Cuadro 25). Es posible que la convivencia sea más estrecha entre las personas del grupo náhuatl y mixtecos, así como las deficientes condiciones socioeconómicas de los inmigrantes y los residentes del área rural, pudieron haber contribuido en estos grupos a una infección reciente con las cepas de estos tres conglomerados.

Cuadro 25. Análisis de estratificación secuencial de grupo étnico asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 3-5 comparando con otros conglomerados.

	Grupo étnico				n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
	Indígena		Mestizo							
Conglomerado 3-5	9		36		45					
Otros conglomerados	10		153		163					
Total	19		189		208					

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Migración	Migra		No migra		207	3.8	4.22	1.54-11.6	0.57	0.45
	8	14	1	22						
	8	72	2	80						
	OR 5.1 (1.43-18.8) X ² mh 8.98		OR 1.82 (0-28) X ² mh 0.23							
Área de residencia	Urbana		Rural		205	3.3	3.5	1.19-10.1	0.54	0.46
	8	21	2	15						
	8	94	1	59						
	OR 2.8 X ² mh 2.92		OR 7.9 X ² mh 3.56							

*OR= Odds Ratio, ORns= Odds Ratio no sesgado, IC= Intervalo de confianza, X²het= Chi cuadrada de heterogeneidad

El 8.1% (24/296) de los enfermos de tuberculosis eran indígenas, entre los cuales 16/23 tenían una cepa en conglomerado (se excluyeron los tres pacientes que no residen en Acapulco); para los mestizos la proporción fue de 78.4% (189/241). Se detectó la relevancia de grupo indígena y la reactivación de infección pasada, ajustando por empleo: un indígena con empleo remunerado tuvo solo una tercera parte del riesgo de tener una cepa en conglomerado en relación con un mestizo (OR 0.31, IC95% 0.11-0.93), X²het 4.48, p= 0.034, 1 gl (Cuadro 26). Es posible que los indígenas, a pesar de tener un empleo remunerado, sean un grupo vulnerable, en los cuales el deficiente estado nutricional puede contribuir a la reactivación de la infección anterior.

Cuadro 26. Análisis de estratificación secuencial de grupo étnico asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Empleo	Remunerado		No Remunerado		264	0.63	0.65	0.26-16	4.5	0.03	
	31	6	21	1							
	132	8	57	8							
	OR 0.31 X ² mh 4.41		OR 2.9 X ² mh 1.10								

*OR= Odds Ratio, ORns= Odds Ratio no sesgado, IC= Intervalo de confianza, X²het= Chi cuadrada de heterogeneidad

La relación entre grupo étnico y transmisión de cepa Manila, se observó principalmente entre los que tenían un empleo remunerado. Un indígena con empleo remunerado tuvo 0.12 veces el riesgo de tener la cepa Manila (OR 0.12, IC95% 0.02-0.76), este subgrupo incluyó el 30.7% (82/267) de los pacientes. La diferencia con respecto al otro estrato difícilmente se explicó al azar (X²het 5.35, p= 0.021, 1gl), Cuadro 27. Los resultados muestran que ser indígena y tener un empleo remunerado fueron factores con menor probabilidad para tener una cepa en conglomerado o del genotipo Manila, lo cual es compatible con que este grupo de personas haya desarrollado la TB por reactivación endógena de una infección pasada.

Cuadro 27. Análisis de estratificación secuencial de grupo étnico asociado a transmisión cepa Manila comparando con genotipo único.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Empleo	Remunerado		No remunerado		129	0.45	0.47	0.14-1.56	5.35	0.02	
	31	6	21	1							
	44	1	22	3							
	OR 0.12 X ² mh 5.0		OR 2.9 X ² mh 0.82								

*OR= Odds Ratio, ORns= Odds Ratio no sesgado, IC= Intervalo de confianza, X²het= Chi cuadrada de heterogeneidad

Área de residencia y transmisión de cepas en conglomerados

El 73.6% (218/296) de los casos de tuberculosis vivía en el área urbana (colonia Emiliano Zapata, Cd. Renacimiento, Col. Jardín o Progreso). Entre los residentes del área urbana se encontró el 78.5% (153/195) con cepa en conglomerado, para los del área rural fue el 75.4% (52/69). La relación de área de residencia y cepas en conglomerado se observó principalmente entre los que tenían menos tiempo de residencia en el domicilio actual: un paciente de TB del área urbana que había residido menos de 16 años en el domicilio actual tuvo tres veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 3.0, IC95% 1.22-10.0). La diferencia con respecto al otro estrato difícilmente se explicó al azar (X²het 5.5, p= 0.019, 1gl). Este resultado es compatible con la idea de que los enfermos que

presentaron cepas en conglomerados son el resultado de una infección transmitida recientemente con rápida progresión a enfermedad.

Se ve el efecto de zona urbana entre los más jóvenes (<30 años): un caso que vivía en el área urbana tuvo tres veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 3.2, IC95% 1.03-9.82), X^2_{het} 4.6, $p=0.032$, 1gl (Cuadro 28).

Cuadro 28. Análisis de estratificación secuencial de área de residencia asociado a cepas en conglomerado comparando con genotipo único.

OR= 1.19 IC95% (0.62-2.3) $X^2_{mh}= 0.36$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Tiempo de residencia en el domicilio actual	<16 años		≥ 16 años		245	1.17	1.23	0.63-2.4	5.5	0.02
	9	18	6	22						
	11	66	35	78						
	OR 3.0 X^2_{mh} 4.62		OR 0.61 X^2_{mh} 0.98							
Edad	≥30 años		<30 años		264	1.19	1.19	0.63-2.25	4.6	0.03
	9	33	8	9						
	40	110	12	43						
	OR 0.75 X^2_{mh} 0.47		OR 3.2 X^2_{mh} 4.1							

*OR= Odds Ratio, ORns= Odds Ratio no sesgado, IC= Intervalo de confianza, X^2_{het} = Chi cuadrada de heterogeneidad

La evidencia entre área de residencia y cepa del genotipo Manila respecto a otros conglomerados, se identificó al estratificar por enfermedad concomitante: un caso de TB pulmonar que vivía en el área urbana y que tenía una enfermedad concomitante tuvo 28% del riesgo de tener una cepa Manila (OR 0.28, IC95% 0.11-0.73), X^2_{het} 6.54, $p=0.011$, 1gl (Cuadro 29). Este subgrupo incluyó el 41.6% (111/267) de los pacientes.

En el grupo de no migrantes, un caso de TB que vivía en el área urbana que era nativo de Acapulco tuvo 32% del riesgo de tener una cepa Manila (OR 0.32, IC95% 0.14-0.75), este subgrupo incluyó el 39.3% (105/267) de los pacientes. La diferencia con respecto al otro estrato difícilmente se explicó al azar (X^2_{het} 7.94, $p=0.005$, 1gl), Cuadro 29.

Cuadro 29. Análisis de estratificación secuencial de área de residencia asociada a cepa Manila frente a otros conglomerados.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Enfermedad concomitante	No		Si		205	0.7	0.71	0.38-1.33	6.54	0.01	
	21	50	10	54							
	9	31	12	18							
	OR 1.45 X ² mh 0.64		OR 0.28 X ² mh 6.7								
Migración	Si migró		No migró		204	0.68	0.65	0.33-1.25	7.94	0	
	12	52	19	52							
	3	52	18	16							
	OR 2.5 X ² mh 1.8		OR 0.32 X ² mh 6.84								

Al tomar en cuenta en el análisis multivariado migración y enfermedad concomitante, en el subgrupo que no había migrado y que sí tenía una enfermedad concomitante, un caso de TB que vivía en área urbana tuvo 8% del riesgo de tener la cepa Manila (OR 0.08, IC95% 0.02-0.32). La diferencia con respecto a los otros estratos difícilmente se explicó al azar (X²het 15.4, p=0.0015, 3gl), Cuadro 30. Es probable que el inmunocompromiso contribuyó a una infección reciente con cepas de otros conglomerados, entre los pacientes de TB del área urbana con enfermedad concomitante y originarios de Acapulco.

Cuadro 30. Análisis simultáneo área de residencia asociada a cepa Manila.

Área de residencia			
	Rural	Urbana	Total
Otros conglomerados	31	104	135
Cepa Manila	21	49	70
Total	52	153	205

OR= 0.70 IC95% (0.36-1.33) $\chi^2_{mh}= 1.20$

Si	
<i>rural</i>	<i>urbana</i>
10	54
12	18
OR= 0.28 $\chi^2_{mh}= 6.7$	

Factor: Enfermedad concomitante

Resumen no sesgado
n= 205 $\chi^2_{het}= 6.54$
ORns= 0.71
IC95% (0.38-1.33)

No	
<i>rural</i>	<i>urbana</i>
21	50
9	31
OR= 1.45 $\chi^2_{mh}= 0.64$	

Si migró		No migró	
<i>rural</i>	<i>urbana</i>	<i>rural</i>	<i>urbana</i>
4	25	6	29
2	14	10	4
OR= 1.12 $\chi^2_{mh}= 0.01$		OR= 0.08 $\chi^2_{mh}= 13.1$	

Factor: Migración

Resumen no sesgado
n= 204 $\chi^2_{het}= 15.4$
ORns= 0.66
IC95% (0.35-1.25)

Sí migró		No migró	
<i>rural</i>	<i>urbana</i>	<i>rural</i>	<i>urbana</i>
8	27	13	23
1	18	8	12
OR= 5.3 $\chi^2_{mh}= 2.7$		OR= 0.85 $\chi^2_{mh}= 0.08$	

Al considerar los casos con cepas en conglomerado, los factores asociados fueron área de residencia, enfermedad concomitante y migración. No obstante, los pacientes del área urbana con otra patología asociada y los nativos tuvieron menor probabilidad de infectarse con la cepa Manila, al parecer estos grupos tenían comprometido el estado inmunológico favoreciendo la infección reciente con las cepas circulantes de otros conglomerados. La finalidad de reportar estas asociaciones es para identificar personas en mayor riesgo de ser infectadas, de esta manera las medidas de control pueden ser dirigidas a la población más vulnerable.

Tiempo de residencia en su comunidad de origen y transmisión reciente

El 60% (168/280) de los casos de tuberculosis vivió menos de 17 años en su comunidad de origen. Entre los que residieron 17 años o más en su comunidad de origen 74/95 (77.9%) tenía una cepa en conglomerado, y 79.4% (123/155) de quienes reportaron de uno a 16 años de residencia. En el análisis univariado no se encontró evidencia que convenza sobre la relación entre tiempo de residencia en la comunidad de origen y cepas en conglomerado (OR 1.09, IC95% 0.59-2.0).

Factores relacionados con la pobreza y transmisión de cepas en conglomerado

La tuberculosis, ha sido asociada a diversos factores relacionados con la pobreza, tales como hacinamiento, inadecuada vivienda e higiene, sin vivienda propia, desempleo, analfabetismo, falta de servicios básicos y desnutrición. Previamente se ha señalado la relevancia del hacinamiento en la diseminación del *M. tuberculosis*. El empleo es probablemente uno de los determinantes más importantes en las condiciones de vida. Generalmente se aceptan el nivel de escolaridad, el empleo, tenencia de vivienda y el hacinamiento como indicadores de las condiciones socioeconómicas de la población, que puede influir en el estado de salud. Además, se ha reportado que los pacientes analfabetas tienen mayor riesgo de abandonar el tratamiento antituberculoso, así como el desempleo o los ingresos bajos.

Hacinamiento y transmisión de cepas en conglomerado

El 36.5% (108/296) de los casos de tuberculosis vivía en condiciones de hacinamiento. Entre los hogares con más de cinco personas 70/96 (72.9%) de los enfermos tenía una cepa en conglomerado, mientras que en aquellos con menos de seis habitantes la proporción fue de 80.4% (135/168).

La relación entre número de personas por hogar y conglomerado de cepas se observó principalmente en los que habían residido 16 años o más en el domicilio actual: un caso de TB pulmonar que en su casa vivían más de cinco personas fue menos capaz de tener una cepa en conglomerado (OR 0.38, IC95% 0.17-0.87), X^2_{het} 5.0, $p=0.025$, 1gl. La implicación es que se debe considerar la adopción de medidas de prevención y control de la enfermedad entre los que viven en condiciones de hacinamiento y con menos tiempo de residencia, ya que este grupo de población desarrolla TB por infección reciente. La implantación de estas medidas en este grupo puede evitar la transmisión de estas cepas, así como prevenir la aparición de nuevos casos.

En el grupo que no consumía alcohol un caso de TB pulmonar en cuya casa vivían más de cinco personas fue menos capaz de tener cepa en conglomerado (OR 0.40, IC95% 0.19-0.84), X^2_{het} 5.3, $p=0.021$, 1gl (Cuadro 31). Si consideramos hacinamiento como un indicador de nivel socioeconómico, los que viven en peores condiciones y no son consumidores de alcohol, tuvieron menos riesgo

de adquirir una cepa nueva.

Cuadro 31. Análisis de estratificación secuencial del número de personas por hogar asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único.

OR= 0.66		IC95% (0.37-1.19)		X ² mh= 1.94						
Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Tiempo de residencia en el domicilio actual	<16 años		≥16 años		245	0.72	0.71	0.39-1.31	5	0.03
	20	7	12	16						
	50	27	75	38						
	OR 1.54 X ² mh 0.75		OR 0.38 X ² mh 5.2							
Consumo actual de alcohol	No consumía		Sí consumía		263	0.66	0.68	0.38-1.20	5.3	0.02
	18	19	15	7						
	96	41	38	29						
	OR 0.40 X ² mh 5.9		OR 1.64 X ² mh 0.89							

Se observó la relación entre número de personas por hogar y transmisión de cepas de los conglomerados 2-26. Al estratificar por tiempo de residencia, un caso de tuberculosis pulmonar que en su casa vivían más de cinco personas y que había residido 16 años o más en el domicilio actual estuvo menos capaz de tener una cepa en conglomerado (OR 0.34, IC95% 0.14-0.82), X²het 7.5, p= 0.006, 1gl (Cuadro 32).

Cuadro 32. Análisis de estratificación secuencial del número de personas por hogar asociado a transmisión de cepa de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único.

OR= 0.68		IC95% (0.36-1.27)		X ² mh= 0.26						
Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Tiempo de residencia en el domicilio actual	<16 años		≥16 años		181	0.75	0.74	0.40-1.40	7.5	0
	20	7	12	16						
	29	20	53	246						
	OR 1.97 X ² mh 1.66		OR 0.34 X ² mh 5.8							

Se puede ver la relación entre número de personas por hogar y transmisión de cepa Manila frente a genotipo único, se observó principalmente en el grupo donde dormían dos o más personas con el caso: un caso de TB pulmonar que en su casa vivían más de cinco personas tuvo 28% del riesgo de tener la cepa Manila (OR 0.28, IC95% 0.11-0.71), X²het 9.0, p= 0.003, 1gl. Este subgrupo incluyó el 28.5% (76/267) de los pacientes (Cuadro 33). La implicación es que los que vivían en condiciones de mayor hacinamiento presentaron reactivación de una infección pasada.

Cuadro 33. Análisis de estratificación secuencial del número de personas por hogar asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Núm. de personas que duermen con el caso		<2 personas		≥2 personas		129	0.62	0.63	0.32-1.26	9	0
		19	5	14	21						
		18	11	29	12						
		OR 2.32 X ² mh 1.79		OR 0.28 X ² mh 7.2							

Los que vivían en condiciones de hacinamiento, consumidores de alcohol y con menos tiempo de residencia en su domicilio tuvieron mayor riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 9.0, IC95% 1.22-66.4). Las condiciones de hacinamiento caracterizada por grupos familiares de más de cinco personas, pueden favorecer ambientes insalubres o la afectación de la economía familiar, en tanto que el alcoholismo puede producir deterioro nutricional e inmunológico de la persona, que incrementan todos ellos, el riesgo de infección reciente. Hubo menor probabilidad de tener la cepa Manila entre los que dormían en condiciones de hacinamiento, lo cual es compatible con la idea de que este grupo adquirió la tuberculosis por una reactivación de la infección anterior.

Número de personas que duermen con el caso y transmisión de cepas en conglomerado

El 58.6% (173/295) de los casos de tuberculosis dormía en condiciones de hacinamiento. Entre los que dormían con dos o más personas en la misma habitación el 77.1% (118/153) tenía una cepa en conglomerado, entre los que dormían solos o con otra persona la tasa fue de 78.2% (86/110). En el análisis univariado no se encontró evidencia de una relación entre el número de personas que dormían con el caso y cepas en conglomerado.

¿El número de cuartos en la vivienda está asociado a infección reciente?

Uno de cada tres casos (99/295) de tuberculosis vivía en una casa con una habitación. En ese grupo, 69/87 (79.3%) tenía una cepa en conglomerado, para los que vivían en casa con dos o más habitaciones la proporción fue de 76.7% (135/176). La asociación entre número de cuartos por hogar y conglomerado de cepas, se observó principalmente entre los analfabetas: un caso de TB que vivía hacinado tuvo casi nueve veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 8.9, IC95% 2.0-39.1), X²het 11.2, p= 0.001, 1gl (Cuadro 34).

Cuadro 34. Análisis de estratificación secuencial del número de cuartos por hogar asociado a transmisión de cepas en conglomerado frente a genotipo único.

OR= 1.16 IC95% (0.62-2.2) X²mh= 0.23

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Escolaridad	Sí estudió		No estudió		262	1.23	1.28	0.71-2.3	11.2	0
	28	15	13	2						
	119	47	16	22						
	OR 0.74 X ² mh 0.70		OR 8.9 X ² mh 8.5							

De igual forma, el número de cuartos por hogar y transmisión de cepas del conglomerados 2-26 se observó al condierar la escolaridad, un paciente que vivía hacinado y que era analfabeta tuvo siete veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 7.0, IC95% 1.44-34.3), X²het 8.7, p= 0.003, 1gl (Cuadro 35).

Cuadro 35. Análisis de estratificación secuencial del número de cuartos por hogar asociado a transmisión de una cepa de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único.

OR= 1.04 IC95% (0.53-2.0) X²mh= 0.01

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Escolaridad	Si		No		192	1.1	1.13	0.59-2.1	8.7	0
	28	15	13	2						
	80	29	12	13						
	OR 0.68 X ² mh 1.02		OR 7.0 X ² mh 5.8							

Respecto a la cepa Manila, un caso de TB que vivía hacinado y era analfabeta tuvo 14.6 veces el riesgo de tener una cepa Manila (OR 14.6, IC95% 2.5-86.1), X²het 11.5, p=0.001, 1gl, este subgrupo incluyó el 10.5% (28/267) de los casos (Cuadro 36). La implicación es que tener casa con un cuarto y ser analfabeta forman parte de una mala condición económica que pueden incrementar el riesgo de infección con una cepa nueva.

Cuadro 36. Análisis de estratificación secuencial del número de cuartos por hogar asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único.

OR= 1.43 IC95% (0.69-3.0) X²mh= 0.91

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Escolaridad	Si		No		128	1.51	1.5	0.75-3.0	11.5	0
	28	15	13	2						
	39	18	4	9						
	OR 0.86 X ² mh 0.12		OR 14.6 X ² mh 8.8							

Los resultados mostraron de manera consistente que vivir en condiciones de hacinamiento y ser analfabeta son factores que aumentaron el riesgo para tener una cepa en conglomerado o la cepa Manila.

Analfabetismo y transmisión de cepas en conglomerado

Respecto a la escolaridad de los pacientes, 20% (59/295) era analfabeta; 79.4% (166/209) que tenía estudios y 72.2% (39/54) de los que no contaban con ellos, tenía una cepa en conglomerado. La asociación entre escolaridad y conglomerado de cepas se observó al estratificar por número de cuartos en la casa, un caso de TB que no tenía estudios y que vivía en una casa de un cuarto tuvo 3.5 veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado comparado a un caso que sí había estudiado (OR 3.5, IC90% 1.0-12.3), Cuadro 37; en el grupo que vivía en una casa de dos o más cuartos, un caso de tuberculosis que no tenía estudios tuvo 29% del riesgo de tener una cepa en conglomerado comparado a un caso que sí había estudiado (OR 0.29, IC95% 0.13-0.65), X^2_{het} 10.98, $p=0.001$, 1gl (Cuadro 37).

Cuadro 37. Análisis de estratificación secuencial de escolaridad asociada con cepas en conglomerado frente a genotipo único.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Número de cuartos por hogar		≥2 cuartos		un cuarto		262	0.66	0.65	0.34-1.24	10.98	0
		28	13	15	2						
		119	16	47	22						
		OR 0.29 X^2_{mh} 8.96		OR 3.5 X^2_{mh} 2.7							

De manera similar, la relación entre escolaridad y transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 se hizo evidente al tomar en cuenta el número de cuartos en la casa, un caso de TB que no tenía estudios y que vivía en una casa de dos o más cuartos, tuvo 32% del riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 0.32, IC95% 0.13-0.77), X^2_{het} 8.6, $p=0.003$, 1gl (Cuadro 38).

Cuadro 38. Análisis de estratificación secuencial de escolaridad asociado a transmisión de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Número de cuartos por hogar		≥2 cuartos		un cuarto		192	0.66	0.66	0.33-1.34	8.6	0
		28	13	15	2						
		80	14	29	13						
		OR 0.32 X^2_{mh} 6.4		OR 3.4 X^2_{mh} 2.31							

Al considerar el conglomerado de la cepa Manila, un caso de TB que no tenía estudios y que vivía en una casa con dos o más cuartos tuvo 32% del riesgo de tener la cepa Manila (OR 0.32, IC95% 0.13-0.77), X^2_{het} 8.6, $p=0.003$, 1gl, este subgrupo incluyó el 31.5% (84/267) de los pacientes (Cuadro 39).

Cuadro 39. Análisis de estratificación secuencial de escolaridad asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único.

OR= 0.65		IC95% (0.28-1.52)		X ² mh= 0.98						
Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Número de cuartos por hogar	≥2 cuartos		un cuarto		128	0.65	0.64	0.28-1.47	10.3	0
	28	13	15	2						
	39	4	18	9						
	OR 0.22 X ² mh 6.5		OR 3.8 X ² mh 2.5							

Los resultados muestran de manera consistente, que ser analfabeta y vivir en condiciones de hacinamiento fueron factores de riesgo para tener una cepa en conglomerado o la cepa Manila. Esto es compatible con la idea de que la tuberculosis por infección reciente es más frecuente entre las clases económicamente desfavorecidas.

Desempleo o empleo no remunerado y transmisión de cepas en conglomerado

Respecto al empleo y transmisión de cepas en conglomerado, el 35.1% (104/296) de los casos de tuberculosis era desempleado o tenía un empleo no remunerado. Entre los que no tenían empleo remunerado, 74.5% (70/94) tenía una cepa en conglomerado; para los que tenían empleo remunerado fue el 79.4% (135/170).

La relación entre empleo y transmisión reciente fue evidente entre los solteros, un caso de TB pulmonar que no tenía empleo o tenía empleo no remunerado tuvo 13.7 veces el riesgo de tener la cepa Manila comparado con un caso que sí tenía empleo remunerado (OR 13.7, IC95% 1.81-104), X^2_{het} 14.3, $p=0.0002$, 1gl, este subgrupo incluyó el 10.5% (28/267) de los pacientes (Cuadro 40).

Cuadro 40. Análisis de estratificación secuencial de empleo asociado a transmisión de cepa Manila comparando con genotipo único.

OR= 0.86		IC95% (0.42-1.76)		X ² mh= 0.17						
Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Estado civil	Soltero		Casado, unión libre		129	0.9	0.87	0.44-1.70	14.3	0.02
	12	1	23	23						
	8	7	37	18						
	OR 13.7 X ² mh 6.4		OR 0.49 X ² mh 3.1							

La relación entre empleo y transmisión de cepa Manila también fue evidente entre los solteros. Un enfermo desempleado o con empleo no remunerado tuvo cinco veces el riesgo de tener la cepa Manila (OR 5.21, IC95% 1.58-17.2), X^2_{het} 9.7, $p=0.002$, 1gl, este subgrupo incluyó el 24.3% (65/267) de los pacientes (Cuadro 41).

Cuadro 41. Análisis de estratificación secuencial de empleo asociado a transmisión de cepa Manila comparando con otros conglomerados.

OR= 1.22 IC95% (0.67-2.2) $X^2_{mh}= 0.42$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Estado civil	Soltero		Casado, unión libre		205	1.2	1.12	0.63-2.0	9.7	0
	41	9	50	35						
	7	8	37	18						
	OR 5.2 X^2_{mh} 7.3		OR 0.69 X^2_{mh} 1.01							

¿El tipo de vivienda está asociado a infección reciente?

El 29.5% (87/295) de los casos de tuberculosis tenía casa de adobe, madera o lámina; 70.5% tenía casa de cemento. El 73.7% (56/76) que habitaba en casa de material inadecuado y 79.1% (148/187) que vivía en una casa de cemento, tenía una cepa en conglomerado. La asociación entre el material de la casa y cepas en conglomerado fue evidente entre los casos de TB pulmonar diagnosticados en el 2001, un paciente de TB que vivía en casa de cemento tuvo casi tres veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 2.9, IC95% 1.17-7.2), X^2_{het} 4.5, $p=0.034$, 1gl (Cuadro 42). En el 2001 los que residían en casa de buen material tuvieron mayor riesgo de adquirir cepas en conglomerado, es probable que en este tipo de viviendas había menor circulación de aire, favoreciendo la concentración de bacilos.

Cuadro 42. Análisis de estratificación secuencial del material de la casa asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único.

OR= 1.36 IC95% (0.73-2.5) $X^2_{mh}= 0.92$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Año de diagnóstico	2001		2002		213	1.48	1.49	0.76-2.95	4.5	0.03
	12	15	5	15						
	18	65	28	55						
	OR 2.9 X^2_{mh} 5.3		OR 0.65 X^2_{mh} 0.56							

Resultado similar al anterior se observó con las cepas de los conglomerados 2-26, un caso de TB pulmonar diagnosticado en el 2001 y que vivía en una casa de cemento tuvo tres veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 3.1, IC95% 1.13-8.3), X^2_{het} 3.97, $p=0.046$, 1gl (Cuadro 43).

Cuadro 43. Análisis de estratificación secuencial del material de la casa asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único.

Factor		Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het	p
Año de diagnóstico	2001		2002		152	1.56	1.56	0.75-3.2	3.97	0.05	
	12	15	5	15							
	11	42	17	35							
	OR 3.1 X ² mh 4.8		OR 0.69 X ² mh 0.40								

El material de la casa y el año de diagnóstico estuvieron asociados a conglomerado de cepas. Se observó que tener casa de material adecuado y haber sido diagnosticados en el 2001 aumentó la probabilidad de una cepa en conglomerado. Mientras que los pacientes con peor condición socioeconómica desarrollaron TB por reactivación de la infección, posiblemente por el mal estado nutricional e inmunológico. Posiblemente, en las viviendas con material adecuado había menor circulación de aire, contribuyendo a la concentración de bacilos en el ambiente; por otra parte, los pacientes con viviendas de adobe tenían un bajo nivel socioeconómico, lo cual favorece el mal estado nutricional e inmunológico.

¿La falta de vivienda está asociado a infección reciente con la cepa Manila?

Respecto a la tenencia de la casa y transmisión de cepa Manila, el 25.1% (74/295) de los casos de tuberculosis no tenía casa propia. El 79.4% (54/68) que no tenía vivienda y 76.9% (150/195) de los que contaban con ella, tenía una cepa en conglomerado. En el análisis univariado no se encontró mucha evidencia de la relación entre tenencia de la casa y transmisión de cepa Manila (OR 1.18, IC95% 0.61-2.3).

Factores relacionados con el huésped y transmisión de cepas en conglomerado

Sexo del paciente y transmisión de cepas en conglomerado.

El 63.2% (187/296) de los casos de tuberculosis fueron del sexo masculino. Entre los hombres el 80.6% (133/165) tenía una cepa en conglomerado, para las mujeres esta proporción fue de 72.7% (72/99). Al contrastar las características entre los cinco conglomerados más grandes se observó la relevancia de sexo y edad en la transmisión de cepas en conglomerado. Un paciente del sexo masculino tuvo dos veces el riesgo de tener una cepa de los conglomerados uno a tres frente a los otros dos conglomerados (OR 2.4; IC95% 1.0-5.9); al tomar en cuenta la edad, este riesgo se incrementó entre los mayores de 39 años (OR 7.5; IC95% 2.0-28.1), la diferencia con respecto al otro estrato difícilmente se explicó al azar (X²het 5.53, p= 0.0187, 1gl). En el grupo de migrantes el riesgo fue de nueve (OR 9.0; IC95% 2.14-37.8), X²het 5.56, p= 0.0183, 1gl (Cuadro 44).

Cuadro 44. Asociación del sexo del paciente y transmisión de cepas de los conglomerados uno a tres comparando con los otros conglomerados.

	Sexo				n	ORc	ORns	IC95%	X ² het
	Femenino		Masculino						
Conglomerados 4 y 5	12		11		146	2.44	2.35	1.0-5.54	5.53
Conglomerados 1-3	38		85						
Total	50		96						

OR= 2.44 IC95% (1.0-5.94) X²mh= 3.87

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het
Edad	≥40 años		<40 años		146	2.44	2.35	1.0-5.54	5.53
	8	3	4	8					
	16	45	22	40					
	OR 7.5 X ² mh 9.07		OR 0.91 X ² mh 0.02						
Migración	Si migró		No migró		145	2.51	2.67	1.07-6.68	5.56
	9	2	3	9					
	21	42	16	43					
	OR 9.0 X ² mh 9.13		OR 0.90 X ² mh 0.02						

Además, se identificó que es mayor la proporción de pacientes masculinos en el conglomerado tres respecto a los conglomerados cuatro y cinco. Un paciente del sexo masculino tuvo casi siete veces el riesgo de tener una cepa del conglomerado tres frente a los otros dos conglomerados (OR 6.91; IC95% 1.71-27.95); al tomar en cuenta la edad, este riesgo aumentó entre los mayores de 39 años (OR 29.3; IC95% 3.44-249.8), la heterogeneidad entre los subgrupos fue significativa (X²het 3.87, p= 0.049, 1gl), Cuadro 45. La implicación es que los casos del sexo masculino de mayor edad participaron más activamente en la cadena de transmisión correspondiente a la cepa del conglomerado tres.

Cuadro 45. Asociación de sexo del paciente y transmisión de cepas del conglomerado tres frente a los conglomerados cuatro y cinco.

	Sexo				n	ORc	ORns	IC95%	X ² het
	Femenino		Masculino						
Conglomerados 4 y 5	12		11		45	6.91	6.16	1.70-22.35	3.87
Conglomerados 3	3		19						
Total	15		30						

OR= 6.91 IC95% (1.71-27.95) X²mh= 7.35

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X ² het
Edad	≥40 años		<40 años		45	6.91	6.16	1.70-22.35	3.87
	8	3	4	8					
	1	11	2	8					
	OR 29.3 X ² mh 9.56		OR 2.0 X ² mh 0.47						

La relación entre el sexo del paciente y cepa en conglomerado se observó más claramente al estratificar por consumo actual de alcohol: un paciente del sexo masculino tuvo dos veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado comparado con otro del sexo femenino (OR 2.1, IC95% 1.05-4.3), Cuadro 46.

Cuadro 46. Análisis de estratificación secuencial de sexo asociado a cepa en conglomerado frente a genotipo único.

OR= 1.56 IC95% (0.87-2.2) $X^2_{mh}= 2.2$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Consumo actual de alcohol	No		Si		263	1.58	2.1	1.05-4.3	0	-
	25	12	2	20						
	68	71	3	64						
	OR 2.1 X^2_{mh} 3.74		OR 2.1 X^2_{mh} 0.66							
<i>Seleccionando el grupo que no consumía alcohol</i>										
Grupo étnico	Mestizo		Indígena		174	2.1	1.96	0.94-4.1	4.6	0.03
	22	9	3	3						
	59	67	9	2						
	OR 2.8 X^2_{mh} 5.8		OR 0.22 X^2_{mh} 0.28							

Similar al contraste anterior, con las cepas de los conglomerados 2-26 y sexo, consumo actual de alcohol fue un factor distractor epidemiológico. Un caso de TB que era del sexo masculino tuvo dos veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado comparado con un caso del sexo femenino (OR 2.1, IC95% 1.03-4.5). Entre los que no tomaban, un caso de TB del sexo masculino menor de 30 años tuvo ocho veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado con relación a un caso del sexo femenino del mismo grupo de edad (OR 8.0, IC95% 1.60-40.1), X^2_{het} 3.7, $p= 0.056$, 1gl.

Al estratificar por consumo anterior de alcohol, un caso de tuberculosis del sexo masculino que consumía anteriormente alcohol tuvo cinco veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 5.1, IC95% 1.53-17.3), Cuadro 47.

Cuadro 47. Análisis de estratificación secuencial de sexo asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único.

OR= 1.58 IC95% (0.85-2.9) $X^2_{mh}= 2.1$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Consumo actual de alcohol	No		Si		194	1.58	2.2	1.03-4.5	0	0.96
	25	12	2	20						
	45	47	2	41						
	OR 2.2 X^2_{mh} 3.7		OR 2.1 X^2_{mh} 0.49							
<i>Seleccionando el grupo de los que no consumían actualmente alcohol</i>										
Edad	≥30 años		30 años		129	2.2	2.1	0.97-4.6	3.7	0.06
	19	9	6	3						
	40	27	5	20						
	OR 1.43 X^2_{mh} 0.50		OR 8.0 X^2_{mh} 6.4							
Consumo anterior de alcohol	No		Si		128	2.2	2.4	1.07-5.5	2.62	0.1
	16	5	9	7						
	36	15	8	32						
	OR 1.33 X^2_{mh} 0.23		OR 5.1 X^2_{mh} 6.98							

Los resultados muestran que tomando en cuenta la variable de consumo actual de alcohol, ser del sexo masculino tuvo mayor probabilidad de presentar cepa en conglomerado. Entre los no consumidores de alcohol, ser mestizo, menor de 30 años y haber consumido alcohol anteriormente mostraron más riesgo de tener cepa en conglomerado. Es probable que los mestizos jóvenes y consumidores de alcohol están adquiriendo la tuberculosis por infección reciente debido a la práctica de riesgo de estos grupos.

Consumo alcohol y transmisión de cepas en conglomerado

El 32% (95/295) de los casos de tuberculosis consumía actualmente alcohol. Entre los no consumidores el 78.7% (137/174) tenía una cepa en conglomerado, para los que tenían esta condición la proporción fue de 75.3% (67/89). En el análisis univariado no hubo suficiente evidencia de la relación entre consumo actual de alcohol y conglomerado de cepas (OR 0.82, IC95% 0.45-1.50).

Respecto al consumo anterior de alcohol, el 60.7% (179/295) de los casos de tuberculosis consumió anteriormente alcohol. Entre los consumidores el 76.3% (119/156) tenía una cepa en conglomerado, para los que no tenían esta condición la proporción fue de 79.4% (85/107). En el contraste crudo no hubo suficiente evidencia de la relación entre consumo anterior de alcohol y transmisión de cepas en conglomerado (OR 0.83, IC95% 0.46-1.51). Sin embargo, fue un factor distractor de la asociación entre sexo del paciente y tener cepas en conglomerado, por lo que se presume que pueda existir interacción entre consumo de alcohol y sexo.

Estado civil y transmisión de cepas en conglomerado

Se observó la relevancia del estado civil del paciente de TB pulmonar y transmisión de cepas en conglomerado. El 29.1% (86/296) de los casos de tuberculosis estaba soltero. Entre los solteros, 83.3% (65/78) tenía una cepa en conglomerado; para los casados, en unión libre o divorciados la tasa fue de 75.3% (140/186). La relación entre el estado civil y conglomerado de cepas fue evidente entre los pacientes de 30 años o más; un caso de TB que estaba soltero tuvo cuatro veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado con relación a uno casado, en unión libre o divorciado (OR 4.1, IC95% 1.29-13.1), X^2_{het} 4.5, $p=0.034$, 1gl (Cuadro 48).

Cuadro 48. Análisis de estratificación secuencial de estado civil asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único.

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Edad	≥30 años		<30 años		264	1.64	1.88	0.87-4.0	4.47	0.03
	39	3	7	10						
	114	36	26	29						
	OR 4.1 X^2_{mh} 5.7		OR 0.78 X^2_{mh} 0.19							

Se detectó asociación entre el estado civil y transmisión de cepas de los conglomerados 2-26. Un caso de tuberculosis que estaba soltero tuvo dos veces el riesgo de tener una cepa del conglomerado 2-26 comparado con otro caso que estaba casado, en unión libre o divorciado (OR 2.1, IC95% 1.01-4.3). En el grupo que no había migrado, un caso de tuberculosis que estaba soltero tuvo 3.6 veces el riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 3.6, IC95% 1.27-10.3), X^2_{het} 2.7, $p=0.10$, 1gl (Cuadro 49).

Cuadro 49. Análisis de estratificación secuencial de estado civil asociado a transmisión de cepas de los conglomerados 2-26 comparando con genotipo único.

	Estado civil		Total
	Casado, unión libre o divorciado	Soltero	
Genotipo único	46	13	59
Conglomerado 2-26	85	50	135
Total	131	63	194

OR= 2.1 IC95% (1.03-4.2) $X^2_{mh}= 3.8$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Migración	Migró		No migró		193	2	1.97	0.98-3.9	2.7	0.1
	23	8	22	5						
	46	18	39	32						
	OR 1.13 X^2_{mh} 0.06		OR 3.6 X^2_{mh} 5.8							

La asociación entre el estado civil y conglomerado de cepas fue evidente entre los pacientes desempleados o que tenían un empleo no remunerado; un caso de tuberculosis que era soltero tuvo casi diez veces el riesgo de tener la cepa Manila con relación a un casado, en unión libre o divorciado (OR 10.2, IC95% 1.56-67.1). La diferencia con respecto al otro estrato difícilmente se explicó al azar (X^2_{het} 13.3, $p= 0.0003$, 1gl), Cuadro 50. Es posible que las prácticas sociales de los solteros coadyuvaron para adquirir una infección reciente con la cepa Manila.

Cuadro 50. Análisis de estratificación secuencial de estado civil asociado a transmisión de la cepa Manila comparando con genotipo único.

OR= 0.97 IC95% (0.42-2.2) $X^2_{mh}= 0.01$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Empleo	Remunerado		No remunerado		129	0.97	0.96	0.44-2.1	13.3	0
	23	12	23	1						
	37	7	18	8						
	OR 0.36 X_{mh} 3.6		OR 10.2 X_{mh} 5.9							

Entre los pacientes solteros fue más alta la transmisión reciente de TB. En virtud de haber mostrado mayor riesgo de tener una cepa en conglomerado los solteros, mayores de 29 años y nativos de Acapulco, es probable que la conducta social de los pacientes solteros favoreció su participación en cadenas de transmisión reciente.

Edad actual del caso y transmisión de cepas en conglomerado.

El 72% (213/296) de los casos de tuberculosis tenía más de 29 años de edad. El 78.1% (150/192) del grupo de mayor edad y 76.4% (55/72) de los menores de 30 años tuvo una cepa en conglomerado. La relación entre la edad del paciente y cepa en conglomerado se observó entre los casados, un caso de TB menor de 30 años tuvo 24% del riesgo de tener una cepa en conglomerado (OR 0.24, IC95% 0.06-0.90), X^2_{het} 4.42, $p=0.04$, 1gl (Cuadro 51). Es probable que los jóvenes casados, por su estado civil se involucren menos en prácticas sociales de riesgo que los solteros de la misma edad.

Cuadro 51. Análisis de estratificación secuencial de edad del caso asociado a cepas en conglomerado frente a genotipo único.

OR= 0.91 IC95% (0.48-1.72) $X^2_{mh}= 0.09$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Estado civil	Casado		Soltero, unión libre		264	0.91	0.74	0.36-1.51	4.2	0.04
	3	10	39	7						
	36	29	114	26						
	OR 0.24 X^2_{mh} 4.5		OR 1.27 X^2_{mh} 0.27							

No se obtuvieron resultados significativos de la asociación entre la edad del paciente y cepa en conglomerado 2-26 (Datos no mostrados). La relación entre edad del caso y transmisión de cepa Manila se observó principalmente entre las mujeres; una paciente de TB menor de 30 años tuvo 5.6 veces el riesgo de tener una cepa Manila (OR 5.6, IC95% 1.75-8.4), X^2_{het} 12.6, $p=0.0004$, 1gl, este subgrupo incluyó el 35% (72/205) de los pacientes (Cuadro 52).

Cuadro 52. Análisis de estratificación secuencial de la edad actual del caso de tuberculosis asociada a transmisión de cepa Manila comparando con otros conglomerados.

OR= 1.14 IC95% (0.60-2.2) $X^2_{mh}= 0.16$

Factor	Estrato 1		Estrato 2		n	ORc	ORns	IC95%	X^2_{het}	p
Sexo	Femenino		Masculino		205	1.14	1.14	0.62-2.1	12.6	0
	42	5	58	30						
	15	10	35	10						
	OR 5.6 X^2_{mh} 8.4		OR 0.55 X^2_{mh} 1.98							

Tener menos de 30 años y estar casado fueron factores de menor riesgo para tener una cepa en conglomerado, lo cual indica que los jóvenes solteros están adquiriendo la tuberculosis por infección reciente. No obstante, ser mujer menor de 30 años implicó mayor probabilidad de tener la cepa Manila frente a otras cepas en conglomerado.

Enfermedad concomitante y transmisión de cepa en conglomerado

El 44.6% (132/296) de los casos de tuberculosis tuvieron una enfermedad asociada. El 77.7% (94/121) de los que tenían antecedentes de otra enfermedad y 77.6% (111/143) de los que no lo refirieron, tuvo una cepa en conglomerado. En el análisis univariado no se obtuvo evidencia suficiente de la relación entre enfermedad concomitante y transmisión de cepas en conglomerado (OR 1.02, IC95% 0.55-1.91).

Antecedente de contacto con pacientes de TB y transmisión de cepas en conglomerado

Al considerar todos los pacientes en el análisis de riesgo no encontramos suficiente evidencia entre antecedente de contacto y transmisión reciente. Sin embargo, los datos sobre contacto previo con pacientes de tuberculosis permitió establecer la existencia de conexión epidemiológica en 67 pacientes (45.9%) de los 146 casos en los cinco conglomerados. Diez de estos pacientes eran convivientes cercanos con otros enfermos de TB (conyuge); esta relación epidemiológica fue más frecuente en los conglomerados uno y dos. Estos pacientes posibles fuentes de infección no fueron incluidos en el estudio por no pertenecer a la población estudiada o por no disponer del aislamiento de *M. tuberculosis*.

Antecedente de esposo/a con TB anterior y transmisión de cepas en conglomerado

Se conoce que quienes tienen antecedentes de cónyuge con tuberculosis tienen mayor riesgo de infección reciente por *M. tuberculosis*, sin embargo, no encontramos tal asociación, debido, posiblemente, a la baja proporción de casos en esa situación, veintidós de los 186 casos de tuberculosis tuvieron antecedente de esposo/a con TB pulmonar: 15/21 con antecedentes vs 113/143 sin antecedentes tuvieron una cepa en conglomerado.

Análisis multivariado de factores asociados a cepas en conglomerado

En un primer modelo de regresión logística con variables combinadas se consideró el outcome cepa en conglomerado vs genotipo único, los factores asociados a cepas en conglomerado fueron haber migrado al municipio de Acapulco y vivir en condiciones de hacinamiento (OR 7.2; IC95% 1.36-37.7), ser residente en el área rural y haber vivido menos de 17 años en su comunidad de origen (OR 0.22; IC95% 0.08-0.58). Los factores que salieron del modelo son los siguientes: migrante y residente de área urbana, nativo y residente del área rural, indígena sin empleo, mestizo con empleo, mestizo con estudios, indígena sin estudios, mujer en vivienda hacinada, hombre en vivienda sin hacinamiento, analfabeta en vivienda hacinada, esposo con TB y paciente sin enfermedad asociada, joven residente en área urbana, viejo residente en área rural, joven soltero, mayor de 29 años y casado, migrante con empleo, nativo sin empleo, consumo de alcohol y residente de área urbana, consumo de alcohol y residente de área rural, sin casa y analfabeta, con casa y con estudios.

Es posible que la alta frecuencia de cepas agrupadas y las condiciones de hacinamiento en que se encuentran los migrantes favorezcan la reinfección exógena con una nueva cepa; mientras que los residentes del área rural con menor tiempo de residencia en la comunidad de origen adquirieron la tuberculosis por reactivación de una infección pasada. Una probable explicación es porque en esta área la población se encuentra más dispersa.

Posteriormente, en un segundo modelo de regresión logística se consideró el outcome cepa Manila vs otro genotipo, para identificar los factores específicos a este conglomerado. Los factores independientes asociados a transmisión de cepas del genotipo Manila fueron haber migrado al municipio de Acapulco y residir actualmente en el área urbana (OR 1.95; IC95% 1.01-3.76), ser nativo de Acapulco y residente en el área rural (OR 2.62; IC95% 1.23-5.59), y ser mujer menor de 30 años edad (OR 2.77; IC95% 1.12-6.82), Cuadro 53. Fueron excluidos del modelo ser migrante viviendo en hacinamiento, indígena sin empleo, mestizo con empleo, mestizo con estudios, indígena sin estudios, mujer en vivienda hacinada, hombre en vivienda sin hacinamiento, analfabeta en vivienda hacinada, esposo con TB y paciente sin enfermedad asociada, joven residente en área urbana, viejo residente en área rural, joven soltero, mayor de 29 años y casado, migrante con empleo, nativo sin empleo, consumo de alcohol y residente de área urbana, consumo de alcohol y residente de área rural, sin casa y analfabeta, con casa y con estudios.

Cuadro 53. Modelo de regresión logística incluyendo variables de alto nivel asociadas a transmisión de cepa del genotipo Manila entre los casos de TB pulmonar.

Factor	ORc	ORns	IC95%	Interacción (p=)
Migrante y residente en área urbana	1.81	1.95	1.01-3.76	1
No migrante y residente en área rural	2.52	2.62	1.23-5.59	0.81
Ser menor de 30 años de edad y del sexo femenino	2.52	2.77	1.12-6.82	0.58

Probablemente, la alta frecuencia de este conglomerado y las condiciones socioeconómicas en que se encuentran los migrantes y nativos de estas áreas permiten la reinfección exógena con una nueva cepa. También puede ser que las mujeres jóvenes sean un grupo susceptible porque se encuentran en la etapa reproductiva. Es posible que la cepa Manila sea endémica o que tenga mucho tiempo circulando en el municipio de Acapulco, y que a esto pueda deberse su presencia entre los nativos del área rural. Además, los resultados encontrados son compatibles con la idea de que los inmigrantes que llegan a Acapulco buscan inicialmente el área urbana para vivir, favoreciendo la convivencia entre los nativos y los inmigrantes, lo cual puede contribuir a que los inmigrantes adquieran una infección reciente con la cepa Manila.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Factores de riesgo asociados a tos crónica

El Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis se basa en la búsqueda pasiva de tosedores mayores de 14 años, que presenten tos con expectoración, sin importar el tiempo de evolución (Norma Oficial Mexicana). No obstante, se estima que en México un número importante de TB bacilíferos no se detecta (Báez-Saldaña AR et al, 2003). En nuestro estudio sugerimos que la incidencia de TB está subestimada considerando que el 35% de los tosedores no entregó muestra de expectoración.

Uno de los componentes clave en el control de esta enfermedad es el diagnóstico temprano (Zumla A et al, 2005). Sin embargo, el exámen bacteriológico reveló que una alta proporción de los casos diagnosticados tenía una gran carga bacilar (7 entre 10 pacientes), lo que implica que el diagnóstico de TB se hace en etapas avanzadas de la enfermedad, cuando hay mayor probabilidad de drogorresistencia y, en casos de curación, mayores secuelas.

El pobre acceso a los servicios de salud, así como las barreras geográficas y culturales, contribuyen a incrementar la marginación y aumentar las desigualdades en salud. Las personas indígenas generalmente tienen un bajo nivel socioeconómico, mayor riesgo de enfermar y padecen una carga de enfermedad más grande que las personas no indígenas, en especial por los padecimientos infecciosos (Torres JL et al, 2003). En nuestro estudio todos los casos de tuberculosis diagnosticados fueron personas indígenas.

La tos crónica es un síntoma de enfermedad pulmonar y es la razón más común de visita al médico en Estados Unidos y en otros países desarrollados (Irwin RS et al, 2000). No obstante, algunos pacientes con tos crónica no buscan ayuda por falta de interés o rechazo a la enfermedad (Holmes RL et al, 2004).

En el estudio transversal para la búsqueda activa de casos de tuberculosis y la evaluación de factores de riesgo asociados a tos crónica, se encontró una prevalencia de tosedores crónicos del 10.4% (IC 95% 2.68- 18.12) y la incidencia de tuberculosis pulmonar de 2.4% (10/421). Esta incidencia representa una tasa de 160 por 100 000 habitantes (10/6 242 x 100 000), superior a la de 14.33 y 34.56 por 100 000 habitantes, reportadas en el 2005 para el país y el estado de Guerrero, respectivamente (Dirección General de Epidemiología-SSA); en ambas comparaciones se obtuvo un valor de $p < 0.001$.

En un estudio identificaron que los determinantes de síntomas respiratorios fueron edad, sexo, fumar y país de residencia (Zhang LX et al, 2002). Nosotros encontramos que los factores de riesgo asociados a tos crónica fueron incremento de la edad, sexo femenino; desempleo; residir en la Costa Chica o en Acapulco; grupos tlapaneco, mixteco, amuzgo y mestizo; contacto con enfermo de tuberculosis y antecedente de tuberculosis.

Sin embargo, al tomar en cuenta el efecto de todas las variables en el análisis de regresión logística, los factores de riesgo que se asociaron de forma independiente a mayor riesgo de tos crónica fueron haber tenido antecedentes de tuberculosis, ser mayor de 29 años, residir en la Región de la Costa Chica o Acapulco, antecedente de conocer a algún enfermo de tuberculosis, y no tener empleo o ser ama de casa, empleada doméstica, vendedor ambulante o ayudante.

La asociación de tos crónica y antecedente de TB puede deberse a que muchos de los casos se diagnostican en etapas avanzadas de la enfermedad, lo que ocasiona un mayor daño pulmonar residual, como cavernas y bronquiectasia adquirida, esta última se caracteriza principalmente por tos crónica (Jung-Gi I et al, 1995). En nuestro estudio siete entre diez pacientes presentaron una baciloscopia positiva grado tres, que puede ser un indicador de enfermedad avanzada.

No encontramos evidencia suficiente para afirmar que la tos crónica haya sido debida a reactivación de la infección o a reinfección exógena, porque no se diagnosticó ningún caso entre los que tenían antecedentes de TB. Sin embargo, diversos estudios han investigado la función pulmonar después del tratamiento antifímico y reportan que en áreas con alta incidencia de TB la reinfección exógena puede ser una de las causas de esta enfermedad después de haber terminado el tratamiento (Uribe A et al, 2000). Además, la tuberculosis puede causar daño crónico en la función pulmonar, lo cual incrementa el número de episodios de TB (Hnizdo E et al, 2000). Un estudio realizado en Sudáfrica muestra que la presencia de cavidades después de terminar el tratamiento de TB fue un factor de riesgo para recaídas (Sonnenberg P et al, 2001). Es común y extenso el daño residual en el pulmón de pacientes con tuberculosis multidrogoresistente que terminan el tratamiento, lo cual incrementa el riesgo de recaídas, y disminuye la calidad y esperanza de vida de estos pacientes (de Vallière S et al, 2004). En Pretoria, Sudáfrica, encontraron que en un grupo de 76 pacientes curados después de TB pulmonar severa, el 18% presentó enfermedad pulmonar obstructiva y 24% restrictiva (Plit ML et al, 1998). Una limitante en nuestro estudio es que no se incluyeron otros factores y enfermedades pulmonares que pueden causar tos crónica, tal como fumar, manejo de fertilizantes o insecticidas, padecer asma o enfisema, contaminación del aire y uso de leña para cocinar.

Caracterización molecular de los aislamientos de *M. tuberculosis* en casos de TB pulmonar mediante DRE-PCR y spoligotyping

Durante el periodo de estudio se montó un laboratorio de vigilancia activa para obtener al menos un cultivo de cada paciente con baciloscopia positiva. Se obtuvieron 300 (91%) cultivos de los 330 casos de TB pulmonar. De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM) no se realiza cultivo en forma rutinaria en México, excepto en los pacientes con sospecha de drogorresistencia.

Los métodos moleculares basados en PCR como el DRE-PCR y el spoligotyping permiten diferenciar entre cepas en conglomerado y con patrones únicos. Se asume generalmente que los casos de TB que presentan cepas de *M. tuberculosis* con idéntico patrón IS6110 aislado de dos o más personas (cepas o patrón en conglomerado) representan infección exógena reciente, mientras que aquellos infectados con cepas cuyos patrones no son observados en otros aislamientos clínicos (patrones únicos) son considerados para representar enfermos por reactivación endógena (van Soolingen D, 2001).

El genoma del DNA de las cepas del complejo de *M. tuberculosis* tiene elementos repetitivos denominados secuencias de inserción (IS), los cuales están presentes en varios sitios y el número de copias es variable. No obstante, algunos aislamientos de *M. tuberculosis* no contienen o tienen muy pocas copias de IS6110 (Narayanan S, 2004). Se ha sugerido que las cepas en conglomerado con un solo fragmento de DNA no pueden ser consideradas como epidemiológicamente relacionadas (Mokaddas E et al, 2002), debido al hecho que el número y tamaño de los fragmentos amplificados en DRE-PCR dependen completamente de la cantidad de copias de los elementos repetitivos, IS6110 y PGRS, y casi el 50% de aislamientos en *M. tuberculosis* de pacientes de TB del sur de Asia tienen menos de dos copias de IS6110 en su genoma (Das S et al, 1995). Por lo tanto, la amplificación de un solo fragmento de DNA de estos aislamientos en DRE-PCR es, probablemente, debido a un bajo número de copias de IS6110 más que de alguna relación específica entre estos aislamientos (Mokaddas E et al, 2002). En nuestro estudio el 6.9% (19/273) no presentó huella genética de los aislamientos tipificados por DRE-PCR, y sólo el 2.2% (6/273) con spoligotyping.

Con la técnica de DRE-PCR, dependiendo del número de aislamientos de *M. tuberculosis* de una comunidad examinada, una gran proporción (10 a 40%) pueden incluir cepas que generen una o dos bandas (Riley LW and Harris E, 1999). En nuestro estudio una alta proporción (58.7%; 149/254) de los aislamiento de *M. tuberculosis* analizados con DRE-PCR presentaron patrones con una o dos bandas, mientras que con spoligotyping no se tuvo esa limitante; por lo tanto, el análisis epidemiológico estuvo basado en 300 pacientes y 267 patrones de spoligotyping, de los cuales encontramos que 26 fueron compartidos por al menos dos pacientes.

La tipificación molecular de los aislamientos de *M. tuberculosis* reveló una alta proporción de pacientes con cepas en conglomerado (77.9%). Esta proporción es un poco más alta a la encontrada en dos comunidades urbanas con alta incidencia de TB en Sudáfrica, el estudio tuvo una duración de seis años e identificaron el 72% de los casos en conglomerado (Verver S et al, 2004). Resultados similares a los anteriores se reportaron en la Isla Gran Canaria de España (Pena MJ et al, 2003). Otro estudio en Sudáfrica y en Guinea Ecuatorial identificaron un menor grado de agrupamiento de 67 y 61.6%, respectivamente (Godfrey-Faussett P et al, 2000; Tundo G et al, 2004). También se han reportado cifras relativamente altas de cepas con genotipos idénticos (31 a 67.7%) en ciudades de países desarrollados como España, Italia, Holanda, Dinamarca, Eslovenia, Canadá y Estados Unidos (Cacho-Calvo J et al, 2005; Moro ML et al, 2002; van Soolingen D et al, 1999; Yang ZH et al, 1995; Zolnir-Dov 2003; Blackwood 2003; Barnes 1997), mientras que en Vancouver, Francia, Londres y Suiza reportan una menor proporción de 17.3 a 27.6% (Hernández-Garduño E et al, 2002; Vachee A et al, 1999; Maguire H et al, 2002; Genewein A et al, 1993).

Los resultados muestran que existe una alta proporción de transmisión reciente en el municipio de Acapulco durante el periodo estudiado. Asumiendo que un conglomerado típico de n personas incluye un caso índice con TB por reactivación endógena y $n-1$ pacientes con TB adquirida recientemente (Small P et al, 1994), estimamos que, por lo menos, el 68% (208-26) de los 267 casos fueron debido a infección reciente que progresó a enfermedad activa. Sin embargo, algunos autores señalan que se deben tomar algunas precauciones al interpretar casos en conglomerado para estimar la verdadera tasa de transmisión de tuberculosis porque depende de las características del huésped y la población estudiada (Murray M, 2002; Murray M and Nardell E, 2002).

La caracterización incompleta de los conglomerados puede ser debida a varias razones: geográficas (migración), de tiempo (duración del estudio) y relacionadas con la muestra (van Soolingen D et al, 1998). También se ha propuesto tomar en cuenta las limitaciones de conglomerado para interpretar los resultados, entre las cuales se deben considerar la predominancia de una cepa local, reactivación simultánea de la infección adquirida remotamente y error en el laboratorio (van Soolingen D et al 1998; Glynn JR et al, 1999). En nuestro estudio la contribución de transmisión reciente está sustentada en lo siguiente: i) la gran diversidad de genotipos entre la población estudiada; ii) las características del área estudiada, tales como la alta prevalencia de TB y la gran movilidad de la población, con base en lo previamente sugerido por Barnes PF y colaboradores (1997), así como en la carga bacilar de los casos y la duración de los síntomas.

El tamaño de los conglomerados varió de 2 a 70 pacientes, sin embargo, la mayoría (21/26) incluyó de 2 a 5 pacientes. Resultados similares se encontraron en la Isla Gran Canaria de España (Pena MJ, 2003). Nuestros hallazgos muestran el impacto de la

diseminación de una cepa en la salud pública: el conglomerado más grande de 70 pacientes incluyó el 33.6% (70/208) de los aislamientos con genotipo compartido, y se observó que el patrón del espoligotipo es igual al previamente reportado como familia Manila de *M. tuberculosis* (Douglas JT et al, 2003). En el estudio realizado en Filipinas el 90% (43/48) de los aislamientos analizados presentó ese genotipo; además, compararon sus patrones con los de la base de datos internacional de patrones de espoligotipos, que contenía 3575 patrones provenientes de 55 países y encontraron una concordancia en 17 de 19 patrones de aislamientos provenientes de pacientes filipinos residentes en Hawaii, siete de Holanda y cuatro de México (Douglas JT et al, 2003).

Estudios previos sobre el análisis filogenético de la distribución de clades (grupos de cepas relacionadas) de los espoligotipos, muestran que la clade EAI (East-African-Indian) tiene antecedentes ancestrales (Filliol I et al, 2006), debido a que pertenece a la raíz más ancestral de todas las clades. Esta clade está formada por varias subespecies entre las que se incluye a la cepa Manila o EAI2-Manila (Brudey K et al, 2006). Es probable que la presencia de la cepa Manila en México se deba sobre todo al gran intercambio comercial que existió entre Filipinas y México, ambos países fueron colonizados por España. Durante la conquista española, algunos orientales (principalmente filipinos) llegaron a México como esclavos de los españoles. En 1565 inició la ruta comercial Filipinas-Acapulco que permaneció hasta 1815; además de la venta de diversas mercancías, comercializaban esclavos procedentes de Filipinas, es posible que algunos de esos esclavos desarrollaran tuberculosis por reactivación de la infección o que hayan desarrollado la enfermedad durante la travesía, lo cual puede explicar la presencia y prevalencia de la cepa Manila.

Otros estudio anteriores muestran que la cepa Manila o EAI es más prevalente en el sureste de Asia, particularmente en Filipinas (73%) (Douglas JT), en Myanmar y Malasia (53%) (Phyu S et al; 2003), y de acuerdo con la base de datos SpolDB4 también esta en Vietnam y Tailandia (32%) (Brudey K et al, 2006).

Otro estudio realizado en California durante 1996-7, también identificó un conglomerado de 73 personas (33%) entre 221 pacientes de tuberculosis. Estos casos no resultaron de una sola fuente de infección o transmisión institucional, por el contrario fue de múltiples fuentes infecciosas que infectaron a otros en la comunidad, la gran mayoría de la transmisión ocurrió dentro de los dos años previos al diagnóstico de la enfermedad. Una examinación detallada del porqué esta cepa de *M. tuberculosis* se propagó tan exitosamente en esta comunidad reveló que fue en gran parte debido a la falla en el estudio de contacto y retraso en el diagnóstico de los pacientes de TB (Chin DP et al, 2000).

Hay diferentes cepas que han sido identificadas como causa de mucha infección reciente en diferentes áreas del mundo, sugiriendo que tienen una mayor transmisibilidad o tienen más probabilidad de causar enfermedad una vez que son transmitidas comparadas con otras cepas, y están asociadas a familias o grupos de aislamientos relacionados, tal como los genotipos de la familia Beijing/cepa W, Haarlem y Africa (Glynn JR et al, 2002; Daley CL et al, 1992; Hermans PW et al, 1995; Kremer K et al, 1999; Qian L et al, 1999; van Soolingen D et al, 1995). En Latino América las cepas conocidas como “cluster strains” son las pertenecientes a las familias Latino-Americana-Mediterránea (LAM), Haarlem (H) y *M. bovis*; mientras que en México son la LAM y la H.

La virulencia del microorganismo o la susceptibilidad genética del individuo pueden jugar un papel importante en la propagación exitosa de una cepa de *M. tuberculosis*. Se ha demostrado que algunas cepas pueden ser más virulentas que otras, como la cepa ‘hiper virulenta’ CDC1551 y HN878 (Manca C et al, 1999; Manca C et al 2001). La cepa Manila, con relación a las otras cepas, puede tener una mayor transmisibilidad o ser más virulenta, debido a que fue responsable de una tercera parte de los casos de TB que tuvieron una cepa en conglomerado. No obstante, proponemos la realización de otros estudios específicos sobre la virulencia de la cepa Manila.

Comparación de los métodos de tipificación utilizados para evaluación de la sensibilidad, especificidad y poder discriminatorio

La comparación de los métodos de DRE-PCR y spoligotyping fue para considerar sus capacidades para predecir agrupamiento entre las cepas de *M. tuberculosis*. Nuestros resultados muestran que el DRE-PCR tiene una baja sensibilidad con relación a el spoligotyping. Estos resultados son debidos, probablemente, al bajo número de copias de IS6110, ya que casi el 60% de las cepas analizadas presentó menos de tres copias de IS6110. Tal como lo describió Riley y Harris (1999), con DRE-PCR una gran proporción (10 a 40%) pueden incluir cepas que generen una o dos bandas, lo cual depende del número de aislamientos de *M. tuberculosis* analizados. Algo similar se observó en un estudio realizado en Asia del Sur en el cual casi el 50% de aislamientos de *M. tuberculosis* tuvo menos de dos copias de IS6110 en su genoma (Das S et al, 1995). Estudios de epidemiología molecular han concluido que una relación clonal no puede ser inferida entre cepas de *M. tuberculosis* que tienen una sola copia de IS6110 (Hermans PW, 1991; Yuen LK et al, 1993). Según Kremer, el DRE-PCR es poco reproducible (Kremer et al, 2005); además, cuando el número de bandas es escaso, los patrones que presentan una o dos bandas no logran un suficiente poder discriminatorio para diferenciar entre aislamientos no relacionados (Friedman CR et al, 1995). Sin embargo, el DRE-PCR mostró un incremento en el índice de discriminación al considerar aislamiento agrupado con un mayor número de bandas en los patrones, mientras que para spoligotyping fue relativamente más bajo (IDHG = 0.907). La especificidad obtenida al considerar patrones con ≥ 3 bandas permite sugerir su utilidad como prueba confirmatoria en la detección de cepas en conglomerado.

Estudios previos sobre spoligotyping muestran que es un método sencillo, altamente reproducible y, comparado con el RFLP, tiene la ventaja específica de alto poder discriminatorio entre las cepas con bajo número de copias de IS6110 (Bauer J et al, 1999; van Soolingen D, 2001). Otra de las ventajas de spoligotyping es que los patrones obtenidos se codifican de forma binaria (espacio hibridizado y no hibridizado), por lo que no requiere de un software especial o personal altamente capacitado para el análisis de los resultados. Nuestros resultados muestran que el spoligotyping tuvo una mayor capacidad para detectar las cepas en conglomerado.

Descripción de los conglomerados identificados por spoligotyping

Se identificaron cinco cepas de *M. tuberculosis* predominantes en la región estudiada, las cuales son responsables de más de la mitad de los casos de TB pulmonar. El caso índice se identificó con base en la fecha de inicio de síntomas; en la mayoría de los conglomerados estuvo relacionado con consumo de alcohol, edad joven (menor de 40 años), sexo masculino, resultado bacteriológico positivo con gran carga bacilar, así como un largo periodo de duración de los síntomas (\bar{X} 4 años, rango de 1.6 a 10 años). En el conglomerado de la cepa Manila con mayor número de pacientes, el caso índice fue un joven de 35 años del sexo masculino, que era drogadicto y alcohólico, que presentó síntomas durante 10 años y TB pulmonar en etapa muy avanzada, y cuya baciloscopia fue positiva grado tres. Generalmente, los casos índices pertenecen al sexo masculino, jóvenes, con algún comportamiento de riesgo (Small PM 1994, van Soolingen D, 1999; Caminero JA, 2001; Pena MJ, 2003) o que han sido diagnosticados tardíamente (Chin DP et al, 2000).

En San Francisco el estudio de contacto convencional solamente detectó conexión en el 10% de los pacientes en conglomerado, no mostró mucha eficiencia para predecir la transmisión entre inmigrantes, transeúntes o pacientes con SIDA (Small PM, 1994). En nuestro estudio, entre los cinco conglomerados más grandes, los datos de contacto previo con pacientes de tuberculosis permitió establecer la existencia de posible conexión epidemiológica en casi la mitad de los pacientes (se consideró si el paciente de TB había tenido contacto con algún enfermo de TB o si su esposo o esposa había padecido esta enfermedad), de los cuales algunos eran convivientes cercanos, sobre todo tratándose de los conglomerados uno y dos. Estos pacientes, posibles fuentes de infección, no fueron incluidos en el estudio por no pertenecer a la población estudiada o no disponer del aislamiento de *M. tuberculosis*.

Factores de riesgo para la transmisión de cepas en conglomerado entre los casos de TB

Existen pocos estudios realizados en países no desarrollados que combinen la epidemiología convencional y la molecular. Los resultados de este estudio muestran que tener una cepa en conglomerado como una medida de probabilidad de transmisión reciente de TB pulmonar en Guerrero, está claramente asociado con diferentes factores sociales relacionados con la pobreza y comportamientos de riesgo. Migración, hacinamiento, grupo étnico, bajo nivel socioeconómico, edad joven, consumo de alcohol, estado civil soltero, residencia urbana son factores de riesgo para transmisión reciente. Algunos de estos factores ya se habían mencionado en reportes previos y, en función de ello, se ha sugerido fortalecer las estrategias de prevención y control de tuberculosis en estos grupos.

La población de inmigrantes ha contribuido en la transmisión de la tuberculosis, porque se ha observado que la inmigración está asociada al desarrollo de TB por reactivación en varias ciudades europeas (van Deutekom H et al, 1997; Solsona J et al 2001; Moro ML et al, 2002, Diel R et al, 2002, Haldal E et al 2003) y estadounidenses (Alland D et al, 1994; Small PM, 1994; Burman W et al, 1997; Cronin WA et al, 2002). En nuestro estudio la migración es principalmente interna, representa un factor de riesgo para adquirir infección reciente comparado con los nativos, debido a que la mitad de los casos de TB correspondió a personas nacidas fuera del municipio de Acapulco.

Los datos sobre conglomerados entre los grupos indígenas aportan conocimientos nuevos. La mayoría de los indígenas están enfermando por TB debido a una infección reciente, lo cual hace suponer que están adquiriendo cepas nuevas. Los genotipos de los conglomerados 3, 4 y 5 fueron predominantes y de mayor riesgo entre los indígenas comparado con los mestizo, esta asociación fue más fuerte en migrantes y área de residencia urbana. Sin embargo, la distribución de las cepas circulantes fue diferente entre los grupos étnicos, los náhuatl y mixtecos presentaron cepas en conglomerados, aunque con diferentes genotipos; en cambio, los amuzgos no mostraron genotipos en conglomerado. Esta forma de distribución de las cepas circulantes puede indicar que existen distintas formas de transmisibilidad entre los grupos étnicos. Resultados previos muestran que, independientemente de la edad y de ciertos factores sociales, algunas características genéticas podrían favorecer el desarrollo de TB, como ocurre en personas de África (Bellamy R et al, 1998), aunque no siempre es fácil separar estos factores de otros de tipo ambiental o económico.

Existen evidencias de que la susceptibilidad a padecer la tuberculosis está regulada por mecanismos genómicos, que condicionan la persistencia y replicación del *M. tuberculosis* dentro de los macrófagos. Los macrófagos funcionan como un nicho para el bacilo y

son incapaces de cumplir con sus funciones bactericidas tempranas. La susceptibilidad en las fases tempranas de la infección está controlada por el locus BCG, ubicado en el cromosoma 2 humano, en el que se confiere la capacidad de suprimir o no la replicación intracelular de este microorganismo (Radzioch D et al, 1991); en cambio, la fase tardía de la enfermedad está regulada por genes vinculados al complejo de histocompatibilidad (Brett S et al, 1992).

Estudios previos realizados principalmente en Canadá y Estados Unidos muestran que algunas minorías étnicas presentan mayor riesgo de transmisión reciente de tuberculosis (Hernandez-Garduño E et al, 2002; Blackwood KS et al, 2003; Small PM et al, 1994; Bradford WZ, et al; 1998). Hernández-Garduño y colaboradores reportaron que ser indígena canadiense fue el predictor más importante para tener una cepa en conglomerado. Diversos factores pueden contribuir a incrementar el riesgo en esta subpoblación, tales como la pobreza, el hacinamiento, pertenecer a una densa red social, retraso en el diagnóstico y tratamiento, y el pobre nivel de salud (Blackwood KS et al, 2003). Bradford y colaboradores detectaron que en Estados Unidos el grupo afroamericano tuvo más riesgo de tener una cepa en conglomerado. Nuestros resultados muestran que los factores de riesgo para tener una cepa en conglomerado fueron ser indígena y no tener empleo o tener empleo no remunerado. Asimismo, estos factores estuvieron igualmente relacionados con la transmisión del genotipo Manila. En contraste, los indígenas con empleo remunerado al parecer desarrollaron TB pulmonar por reactivación de una infección previa. Los indígenas son un grupo vulnerable en el cual la falta de recursos económicos y otras condiciones sociales en desventaja, como el hacinamiento, contribuyen a incrementar el riesgo de infección reciente por *M. tuberculosis*.

En el área urbana fue más frecuente la TB por transmisión reciente. Entre los pacientes con TB pulmonar los factores de riesgo para tener cepa en conglomerado fueron área urbana, poco tiempo de residencia en el domicilio actual y edad menor de 30 años. Suponemos que en esta área las personas están enfermando por TB como consecuencia de una infección reciente con rápida progresión a enfermedad clínica. Al igual que en otros estudios esto es compatible con la idea de que el riesgo fue mayor entre los jóvenes, probablemente porque están contribuyendo otros factores como el consumo de alcohol y uso de drogas. Resultados similares se han encontrado en Holanda, Alabama, Nueva York, California y Maryland (Barnes CR et al, 1997; Jasmer RM et al, 1999; Tornieporth NG et al, 1997; van Soolingen D et al, 1999; Kempf MC et al, 2005; Cronin WA et al, 2002). Respecto al área de residencia, en Sudáfrica, residir en el área urbana es un factor de riesgo asociado a tener cepa en conglomerado (Verver S et al, 2004), que puede deberse a que en esa área es más elevada la transmisión entre la población consumidora de alcohol, usuarios de drogas y personas sin hogar (Kempf MC et al, 2005).

Respecto a los casos con cepas en conglomerado, nuestros resultados muestran que los factores asociados fueron área de residencia, enfermedad concomitante y migración. Los pacientes de TB del área urbana con otra patología asociada y los nativos tuvieron menor probabilidad de infectarse con la cepa Manila; al parecer, estos grupos tenían comprometido el estado inmunológico favoreciendo la infección reciente con las cepas circulantes de otros conglomerados. Aunque también pueden existir diferencias de transmisibilidad y virulencia de las cepas de *M. tuberculosis*. Estudios previos han mostrado que algunas cepas son más virulentas (Manca C et al, 1999; Manca C et al 2001).

Los factores relacionados con la pobreza tienen un papel preponderante en la epidemiología de la tuberculosis. El hacinamiento y el desempleo contribuyen de manera significativa en el desarrollo de TB (Farnia P et al, 2004). En nuestro estudio, el hacinamiento fue factor de riesgo para desarrollar TB por transmisión reciente aunado a la práctica de consumir alcohol. Generalmente, los consumidores de alcohol frecuentan lugares de mayor riesgo para adquirir una infección reciente, lo cual sugiere que un caso de TB no consumidor de alcohol, a pesar de vivir en condiciones de hacinamiento desarrolló su enfermedad por reactivación de una infección pasada.

Los resultados sugieren de manera consistente que entre los pacientes con bajo nivel socioeconómico (vivienda con un solo cuarto y analfabeta) tuvieron mayor riesgo de tener una cepa en conglomerado y el genotipo Manila. La mala condición socioeconómica de este grupo favorece la susceptibilidad de las personas para infectarse nuevamente con progresión rápida a la enfermedad.

La transmisión reciente también fue más frecuente entre los pacientes de TB que no tenían estudios. Los resultados sugieren que entre los pacientes con bajo nivel socioeconómico (analfabeta y vivienda con un solo cuarto) tuvieron mayor riesgo de tener una cepa en conglomerado. Nuevamente, la mala condición socioeconómica de este grupo favorece la susceptibilidad de las personas para adquirir una infección reciente y desarrollar la enfermedad. Otra posible explicación es que los pacientes con menor nivel educativo abandonan con más frecuencia el tratamiento antifímico, lo cual incrementa el periodo de diseminación de los bacilos y la continuación de la cadena de transmisión. También, ser analfabeta y tener vivienda con un solo cuarto fueron factores de riesgo para tener una cepa del genotipo Manila. Es posible que estos factores favorezcan la infección reciente con la cepa Manila con progreso rápido a enfermedad tuberculosa.

Se ha demostrado que el desempleo es un factor de riesgo asociado independientemente para pertenecer a un conglomerado (Diel R et al, 2002). Nuestros hallazgos sugieren que entre los pacientes solteros sin empleo o empleo no remunerado tuvieron mayor riesgo de tener la cepa Manila. La mala condición socioeconómica y las prácticas sociales de los solteros favorecen la susceptibilidad de las personas para infectarse con la cepa Manila.

Nuestros datos muestran que los pacientes con TB pulmonar que habitaban en casas de material adecuado y fueron diagnosticados en el 2001 tuvieron más riesgo de tener cepa en conglomerado. Probablemente este grupo de personas se vio afectada por el incremento de la circulación de cepas en conglomerado en ese año; también el material de la casa (cemento) puede contribuir a una menor circulación de aire favoreciendo la concentración de bacilos en el ambiente, lo que puede aumentar el riesgo de infección; no obstante, aquéllos diagnosticados el mismo año, que tenían malas condiciones socioeconómicas desarrollaron la enfermedad por reactivación de la infección anterior.

Los factores relacionados con el huésped, incluyendo la edad y sexo, también influyen fuertemente en la transmisión reciente de la tuberculosis. Diversos estudios han reportado que los pacientes de TB del sexo masculino tienen más riesgo de presentar cepas en conglomerado (Yang ZH, 1995; Gutierrez MC et al, 1998; van Soolingen D et al, 1999; Hennesey et al, 2000; Blackwood KS et al, 2003, Kempt MC et al, 2005).

En nuestro estudio encontramos evidencia de una fuerte interacción entre sexo masculino y consumo de alcohol. Suponemos que participaron con mayor frecuencia en cadenas de transmisión principalmente los mestizos, los jóvenes y quienes tenían antecedentes de consumo de alcohol anteriormente; al parecer, estos factores están contribuyendo a incrementar el riesgo de infección reciente. Una posible explicación es que los pacientes del sexo masculino consumidores de alcohol abandonan con más frecuencia el tratamiento antifímico, lo cual incrementa el periodo de diseminación de los bacilos y permite que continúe la cadena de transmisión.

Para disminuir la transmisión reciente de este padecimiento en grupos marginados como el de los alcohólicos, debido a la rápida detección, diagnóstico y control de tuberculosis podría lograrse mediante la participación de redes comunitarias de apoyo para la localización de personas en riesgo de desarrollar TB.

En estudios previos no ha sido reportada la asociación del estado civil del paciente y la transmisión reciente de tuberculosis. Nosotros encontramos que entre los pacientes solteros fue más alta la transmisión reciente de TB. Mostraron mayor riesgo de tener una cepa

en conglomerado los solteros, mayores de 29 años y nativos de Acapulco. Es posible que la conducta social de los pacientes solteros favoreció su participación en cadenas de transmisión.

La mayoría de los estudios de epidemiología molecular reportan que la edad joven está asociada a transmisión reciente (Yang ZH et al, 1995; Maguire H et al, 2002; Cronin WA et al, 2002; Iñigo-Martínez J et al, 2003; Blackwood KS et al, 2003; Zolnir-Dov M et al 2003; Cacho-Calvo J et al, 2005). En nuestro estudio, las mujeres jóvenes tuvieron más riesgo de tener la cepa Manila en relación con cepas de otros conglomerados. Suponemos que mujeres en edad reproductiva y los factores relacionados con la cepa Manila aumentaron el riesgo de enfermar por TB debido a una infección reciente con esta cepa. No obstante, la relevancia de este hallazgo está en que los hombres jóvenes adquirieron una infección reciente principalmente con cepas de otros conglomerados debido, posiblemente, a que participan en mayor número de cadenas de transmisión, por la adopción de conductas de riesgo.

En el análisis univariado estratificado se identificaron diversos factores modificadores de efecto, ésto permitió detectar una gran interacción entre cepa en conglomerado y los factores estudiados tales como migración, hacinamiento, grupo étnico, nivel de escolaridad, desempleo, edad, sexo, estado civil y consumo de alcohol. Tomando en cuenta que difícilmente se pueden separar de manera definitiva factores que en la vida real ocurren juntos, se tomó en consideración la interacción de los factores al hacer el análisis multivariado.

El análisis multivariado puso en evidencia que migración y hacinamiento fueron los factores de riesgo asociados independientemente con transmisión reciente en el municipio de Acapulco. Es reconocido que los migrantes del campo son un grupo vulnerable con una mala condición socioeconómica; generalmente buscan mejores oportunidades de trabajo o educación en ciudades urbanizadas con alta incidencia y morbilidad por TB, a donde llegan a vivir en condiciones de hacinamiento y mala higiene. Todos estos factores contribuyen a aumentar el riesgo de infección reciente por *M. tuberculosis*. Otros factores asociados fueron “protectores” tales como área rural y residir menos tiempo en su comunidad; estos casos presentaron cepas con genotipos únicos, por lo que es más probable que este grupo adquirió la infección en sus comunidades de origen y desarrollaron TB como consecuencia de la reactivación de la infección previa y no debido a infección reciente.

Respecto a la cepa Manila uno de los factores de riesgos asociados a la transmisión de esta cepa fueron ser migrante residente en el área urbana, lo cual es compatible con que en el área urbana exista una mayor transmisibilidad de esta cepa, así como mala condición socioeconómica de los migrantes. Sin embargo, el riesgo más fuerte de transmisión de la cepa Manila fue en los nativos del área rural,

así como en las mujeres más jóvenes. Es probable que las condiciones socioeconómicas de estos grupos, la mayor susceptibilidad de las mujeres y la mayor transmisibilidad de la cepa de ese genotipo, comparada con la transmisibilidad de los genotipos de otros conglomerados, están contribuyendo a incrementar el riesgo de infección reciente por la cepa Manila.

Limitaciones del estudio

En el estudio transversal para la búsqueda activa de casos de tuberculosis y la evaluación de factores de riesgo asociados a tos crónica, una posible limitante es la dirección de la causalidad porque se miden al mismo tiempo el efecto y la exposición, no obstante algunos factores estudiados no cambian con el tiempo como el sexo y grupo étnico. Otra limitante puede ser que no se incluyeron otros factores y enfermedades pulmonares que pueden causar tos crónica, tales como fumar, manejo de fertilizantes o insecticidas, padecer asma o enfisema, contaminación del aire y uso de leña para cocinar. Además, la incidencia de TB puede estar subestimada por haber analizado únicamente el 65% de muestra de expectoración de los tosedores crónicos. De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, en este estudio se definió como tosedor crónico a aquéllos que presentaron tos por dos semanas o más, lo que puede contribuir en una menor sensibilidad de detección de casos por baciloscopia (número de positivos/ total de tosedores); para disminuir este problema, Riley sugiere que se considere como tosedor crónico a aquellos que presenten tos por más de un mes (Riley L comunicación personal, 2006).

En cuanto a los aspectos logísticos para la localización y la obtención de los datos epidemiológicos de los casos de TB, se requirió mayor tiempo que el programado debido a que fue necesario realizar en promedio tres visitas (rango 1-6). Las dificultades presentadas fueron por direcciones que no correspondían, movilidad de la población, horario de trabajo del paciente, abandono de tratamiento, y debido a que algunos pacientes presentaban algunas adicciones como el consumo de alcohol o drogas. Respecto a los casos que habían abandonado el tratamiento se realizaron baciloscopias de control para convencerlos de continuar con su tratamiento antifímico, lo cual fue posible en casi todos los pacientes.

Se usó un diseño estándar establecido para este tipo de investigación para la caracterización molecular de los aislamientos de *M. tuberculosis* y el análisis de epidemiológico de los factores asociados a cepas en conglomerado. Una probable limitante es haber considerado solamente a los casos con baciloscopias positivas e incluido únicamente al 91% de los casos de TB pulmonar diagnosticados durante el periodo de estudio. Las dificultades logísticas impidieron la localización de treinta pacientes, y de veintisiete casos no se obtuvo la confirmación microbiológica por cultivo. Por no haber incluido todos los casos de TB podría estar subestimada la proporción de aislamientos en conglomerado, así como la caracterización de todas las cepas circulantes en el área estudiada.

La técnica de DRE-PCR para la tipificación molecular identificó entre los aislamientos de *M. tuberculosis* una alta proporción (168/274) de patrones con menos de tres bandas, no obstante, se hizo el análisis epidemiológico de factores de riesgo con los resultados de spoligotyping.

Los métodos moleculares tienen limitantes para diferenciar entre reactivación endógena y transmisión reciente de tuberculosis, debido a que no siempre cepa en conglomerado es indicador de transmisión reciente (Murray M, 2002; Murray M and Nardell E, 2002). En nuestro estudio la contribución de transmisión reciente con base en conglomerado está sustentada en: i) la gran diversidad de genotipos entre la población estudiada, ii) las características del área estudiada, tal como la alta prevalencia de TB y la gran movilidad de la población, con base en lo previamente sugerido por Barnes PF y colaboradores (1997), así como en la carga bacilar de los casos y la duración de los síntomas.

Además, el método de tipificación puede causar una mala clasificación de algunos casos. Los aislamientos con patrones idénticos pueden estar compuestos de múltiples subtipos, mientras que aislamientos con patrón único pueden estar en conglomerado y no ser reconocidos por el tamaño de muestra insuficiente y la corta duración del estudio. Sin embargo, cualquier mala clasificación debe aplicarse de igual forma al analizar los factores estudiados y, por lo tanto, no deben afectar las conclusiones del estudio.

Entre los pacientes indígenas no se tuvo evidencia suficiente para conocer si transmiten la cepa en su comunidad, debido a que se identificaron pocos casos de TB en sus comunidades de origen. Esto puede ser motivo de otro estudio.

Conclusiones y contribución al conocimiento

El análisis epidemiológico de los factores de riesgos asociados a tos crónica en cinco regiones del estado de Guerrero aportan información relevante para futuras estrategias de prevención y control de la tuberculosis. La caracterización de los tosedores crónicos confirma en nuestra entidad cuáles son los grupos con más riesgo, incluyendo a las personas con antecedentes de tuberculosis, mayores de 29 años de edad, contacto con algún enfermo de TB y personas con bajo nivel socioeconómico. Se debe incrementar la búsqueda de tosedores crónicos para el diagnóstico temprano e inicio de tratamiento de casos de TB, principalmente en Acapulco y Costa Chica. Estas acciones tendrían impacto en la disminución de la transmisión de tuberculosis pulmonar.

La alta carga bacilar en los casos de TB detectados por búsqueda activa, sugiere que no son suficientes las acciones realizadas para la detección de casos en etapas tempranas. La implicación de este resultado es la necesidad de incluir estrategias para la prevención de recaídas y el daño crónico en la función pulmonar por tuberculosis mediante el diagnóstico oportuno.

La epidemiología molecular de la TB en el estado de Guerrero no había sido analizada, según la revisión sistemática realizada, nuestro estudio es el primero en Guerrero que evalúa factores de riesgo asociados a transmisión reciente de TB, el cual tiene implicaciones para el control de TB en grandes ciudades de países no desarrollados. La tipificación de las cepas circulantes de *M. tuberculosis* en el municipio de Acapulco tiene implicaciones para su referencia a nivel mundial, nacional o estatal.

Entre las de cepas circulantes de *M. tuberculosis* se identificaron 85 genotipos, de los cuales cinco fueron predominantes en más de la mitad de los pacientes de TB. El conglomerado más grande, correspondiente a la cepa Manila, fue responsable de la cuarta parte de los casos registrados durante el periodo de estudio, demostrando el impacto de la diseminación de una cepa en la salud pública.

Las características de los “casos índices” enfatizan la relevancia del diagnóstico temprano y revelaron que el estudio de contacto convencional es necesario pero no suficiente, porque no mostró mucha eficiencia para predecir la transmisión en algunos grupos de riesgo. Para la vigilancia epidemiológica de la tuberculosis se sugiere la aplicación de métodos moleculares como el spoligotyping por su capacidad para predecir conglomerado de cepas (infección reciente).

Existe una alta proporción de transmisión reciente de tuberculosis en el municipio de Acapulco, estimamos que el 68% de los casos fueron por infección reciente que progresó a enfermedad activa. Este puede ser un indicador del funcionamiento del programa de tuberculosis, y se puede utilizar para evaluar el impacto de las acciones realizadas.

Se identificaron los factores de riesgo para la transmisión de la cepa Manila y para la transmisión reciente de TB en el municipio de Acapulco. El análisis epidemiológico reveló que varios factores de riesgos están asociados a cepa en conglomerado; estos factores son relacionados principalmente con la pobreza, conductas de riesgo y con el huésped: Migración, hacinamiento, grupo étnico, bajo nivel socioeconómico, edad joven, sexo masculino, consumo de alcohol, estado civil soltero, residencia urbana fueron factores de riesgo para transmisión reciente.

La tuberculosis entre los migrantes es debida a infección reciente. La mitad de los casos de TB correspondió a personas nacidas fuera del municipio de Acapulco y que desarrollaron la enfermedad por una infección reciente; esto implica que están adquiriendo cepas nuevas. La alta frecuencia de cepas en conglomerado y las condiciones de hacinamiento en que generalmente viven los migrantes contribuyen a la reinfección exógena.

Los indígenas enfermaron por TB principalmente como consecuencia de una infección reciente, lo cual permite suponer que están adquiriendo cepas nuevas. Las cepas de los genotipo 3-5 fueron predominantes entre ellos. Los indígenas sin empleo o con empleo no remunerado presentaron más riesgo de infección reciente con cualquier cepa en conglomerado y con el genotipo Manila, mientras que los indígenas con empleo remunerado desarrollaron la enfermedad por reactivación endógena. La falta de recursos económicos y el hacinamiento contribuyen a incrementar el riesgo de infección reciente por *M. tuberculosis* o a la reactivación de la infección previa. Diversos factores pueden contribuir a incrementar el riesgo en esta subpoblación, incluida la pobreza, hacinamiento, densa red social, retraso en el diagnóstico y tratamiento, incremento de susceptibilidad a la infección debido al pobre nivel de salud.

Residir en el área urbana es un factor de riesgo para desarrollar TB por transmisión reciente. Los pacientes residentes en esa área, jóvenes con poco tiempo de residencia en el domicilio actual tuvieron más riesgo de tener una cepa en conglomerado. Es posible que factores como el consumo de alcohol, uso de drogas y retraso en el diagnóstico hayan contribuido a elevar la diseminación de las cepas de *M. tuberculosis*.

Los pacientes del área urbana con TB asociada a otra patología, y los nativos tuvieron menor probabilidad de infectarse con la cepa Manila, al parecer estos grupos tenían comprometido el estado inmunológico favoreciendo la infección reciente con las cepas circulantes de otros conglomerados.

Los factores relacionados con la pobreza como el hacinamiento, malas condiciones socioeconómicas, analfabetismo y tenencia de la casa están asociados a transmisión reciente de TB. El hacinamiento y consumo de alcohol fueron factores de riesgo para desarrollar TB por transmisión reciente. Suponemos que los consumidores de alcohol frecuentan lugares de mayor riesgo para adquirir una infección reciente. Los pacientes no consumidores de alcohol que vivían en condiciones de hacinamiento desarrollaron la enfermedad por reactivación endógena.

Los pacientes con bajo nivel socioeconómico, quienes habitaban en viviendas con un solo cuarto y que eran analfabetas tuvieron mayor riesgo de tener una cepa en conglomerado, así como del genotipo Manila. El bajo nivel socioeconómico de este grupo pudo favorecer la susceptibilidad de las personas para infectarse nuevamente con progresión rápida a la enfermedad.

No tener estudios fue un factor de riesgo para transmisión reciente, principalmente entre los que vivían hacinados. De igual forma lo fueron para la cepa Manila.

La tenencia de una casa construida con material adecuado y haber sido diagnosticado en el 2001 fueron factores de riesgo para tener cepa en conglomerado, mientras que los diagnosticados el mismo año, con mala condición socioeconómica desarrollaron la enfermedad por reactivación de la infección anterior.

La edad, el sexo, el estado civil y el consumo de alcohol están asociados a infección reciente de *M. tuberculosis*. Existe una fuerte interacción entre sexo masculino y consumo de alcohol. Los mestizos, jóvenes y con antecedente de consumo anterior de alcohol tuvieron más riesgo de tener cepa en conglomerado. Estos pacientes tienen más probabilidad de abandono de tratamiento y participan con mayor frecuencia en cadenas de transmisión.

Los pacientes solteros tuvieron más riesgo de transmisión reciente. Probablemente la conducta social de los que están solteros, son mayores de 29 años y nativos de Acapulco favorece su participación en cadenas de transmisión. Los solteros desempleados o con empleo no remunerado tuvieron mayor riesgo de tener la cepa Manila.

Las mujeres jóvenes tuvieron más riesgo de tener la cepa Manila en relación con cepas de otros conglomerados; en cambio, los hombres jóvenes adquirieron una infección reciente principalmente con cepas de otros conglomerados.

El análisis multivariado reveló que migración y hacinamiento fueron los factores de riesgo asociados independientemente con transmisión reciente. Otros factores asociados fueron área rural y residir menos tiempo en su comunidad; no obstante, estos últimos fueron factores de menos riesgo, por lo que es más probable que este grupo se infectó en sus comunidades de origen y el desarrollo de TB sea como consecuencia de reactivación de una infección previa.

Respecto a la cepa Manila los factores de riesgos asociados a su transmisión fueron migración reciente al área urbana, ser nativo del área rural, así como ser mujer joven. Posiblemente las condiciones socioeconómicas de estos grupos, la susceptibilidad de las mujeres y la mayor transmisibilidad de la cepa del genotipo Manila en relación con las demás cepas circulantes contribuyeron a incrementar el riesgo de infección reciente por la cepa Manila.

Las implicaciones de estos resultados sugieren que el control de la tuberculosis en Guerrero podría mejorarse con la elaboración de estrategias específicas para el incremento en la búsqueda de tosedores, diagnóstico temprano y tratamiento de los casos, con el fin de disminuir la transmisión de esta enfermedad; haciendo énfasis en los grupos vulnerables como son los migrantes e indígenas, y en grupos con alto riesgo de infección reciente y genotipo Manila.

Las estrategias de educación sobre tuberculosis y el estudio de contacto necesitan ser adaptadas a las características de los diferentes grupos de población. En grupos marginados, como el de los alcohólicos, la disminución de la transmisión reciente de tuberculosis podría lograrse mediante la participación de redes comunitarias de apoyo para la localización de personas en riesgo de desarrollar esta enfermedad.

Nosotros proponemos la realización de investigaciones sobre los factores de virulencia de la cepa Manila y análisis de drogosensibilidad, así como otros estudios que evalúen los factores de riesgos asociados a esta cepa, además de evaluar en toda la entidad durante un periodo más largo la dinámica de transmisión de tuberculosis. También se requiere evaluar el daño crónico en la función pulmonar de los enfermos de tuberculosis pulmonar después de terminar el tratamiento antifímico.

REFERENCIAS

- Agasino, C.B., Ponce de Leon, A., Jasmer, R.M., Small, P.M. (1998). Epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* strains in San Francisco that do not contain IS6110. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2:518-20.
- Báez-Saldaña, A.R., Péres-Padilla, J.R., Salazar-Lezama, M.A. (2003). Discrepancias entre los datos ofrecidos por la Secretaría de Salud y la Organización Mundial de la Salud sobre tuberculosis en México, 1981-1998. *Salud Publica Mex*, 45:78-83.
- Balandrano-Campos, S., Anzaldo-Flores, G., Peña-Flores, G.P., y Betancurt-Murillo, X. (1996). Manual de procedimientos de laboratorio: Tuberculosis. Secretaría de Salud, México, D. F.
- Barnes, P.F., Cave, M.D. (2003). Molecular epidemiology of tuberculosis. *N Engl J Med*, 349:1149-56.
- Barnes, P.F., Yang, Z., Preston-Martin, S., et al. (1997). Patterns of tuberculosis transmission in central Los Angeles. *JAMA*, 278:159-63.
- Bauer, J., Yang, Z., Poulen, S., Andersen, A.B. (1998). Results from 5 years of nationwide DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates in country with a low incidence of *M. tuberculosis* infection. *J Clin Microbiol*, 36:305-8.
- Bauer, J., Andersen, A.B., Kremer, K., Miornes, H. (1999). Usefulness of spoligotyping to discriminate IS6110 low-copy-number *Mycobacterium tuberculosis* complex strains cultured in Denmark. *J Clin Microbiol*, 37:2602-6.
- Begg, C.B., Mazumdar, M. (1994). Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics*, 50:1088-1101.
- Bifani, P.J., Mathema, B., Liu, Z., Moghazeh, S.L., et al. (1999). Identification of a W variant outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* via population-based molecular epidemiology. *JAMA*, 282(24):2321-7.
- Bishai, W.R., Graham, N.M.L., Harrington, S., et al. (1998). Molecular and geographic patterns of tuberculosis transmission after 15 years of directly observed therapy. *JAMA*, 280(19):1679-84.
- Blackwood, K., Al-Azem, A., Elliott, L.J., Hershfield, E.S., and Kabani, A.M. (2003). Conventional and molecular epidemiology of tuberculosis in Manitoba. *BMC Infectious Diseases*. 3:18. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/3/18>
- Braden, C.R., Templeton, G.L., Cave, M.D., Valway, S., Onorato, I.M., Castro, K.G., Moers, D., Yang, Z., Stead, W.W., Bates, J.H. (1997). Interpretation of restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from state a large rural population. *J Infect Dis*, 175:1446-52.
- Bradford, W.Z., Koehler, J., El-Hajj, H., et al. (1998). Dissemination of *Mycobacterium tuberculosis* across the San Francisco bay area. *J Infectious Diseases*, 177:1104-7.
- Brudey, K., Driscoll, J., Rigouts, L., et al. (2006). *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiology*, 6:23.
- Burgos, M.V., Pym, A.S. (2002). Molecular epidemiology of tuberculosis. *Eur Respir J*, 20(suppl 36):54S-65S.
- Cacho-Calvo, J., Astray-Mochales, J., Pérez-Meixeira, A., et al. (2005). Ten year population-based molecular epidemiological study of tuberculosis transmission in the metropolitan area of Madrid, Spain. *Int J Tuberc Lung Dis*, 9(11):1236-41.
- Chen-Yuan, C., Riley, L.W. (2005). Exogenous reinfection in tuberculosis. *Lancet Infect Dis*, 5:629-36.
- Chin, D.P., Crane, C.M., Diul, Y.M., Sun, S.J., Agraz, R., Taylor, S., Desmond, E., Wise, F. (2000). Spread of *Mycobacterium tuberculosis* in a community implementing recommended elements of tuberculosis Control. *JAMA*, 283(22):2968-74.
- Cole, S.T., Brosch, R., Parkhill, J., et al. (1998). Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 393:537-44.
- Comstock, G.W. (1982). Epidemiology of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis*, 125 (Suppl):8-15.

- Daley, C.L., Small, P.M., Schecter, G.F., Schoolnik, G.K., McAdam, R.A., Jacobs, W.R. Jr., Hopewell, P.C. (1992). An outbreak of tuberculosis with accelerated progression among persons infected with the human immunodeficiency virus. An analysis using restriction-fragment-length polymorphism. *N Engl J Med*, 326:231-5.
- Das, S., Paramasivan, C.N., Lowrie, D.B., Prabhakar, R., and Narayanan, P.R. (1995). IS6110 restriction fragment length polymorphism typing of clinical isolates *M. tuberculosis* from patients with pulmonary tuberculosis in Madras, South India. *Tuberc Lung Dis*, 76:550-4.
- de Vallière, S., Barker, R.D. (2004). Residual lung damage after completion of treatment for multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 8(6):767-71.
- DerSimonian, R., Laird, N. (1986). Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*, 7:177-88.
- Diel, R., Schneider, S., Meywald-Walter, K., et al. (2002). Epidemiology of tuberculosis in Hamburg, Germany: Long-term population-based analysis applying classical and molecular epidemiological techniques. *J Clin Microbiol*, 40(2):532-9.
- Egger, M., Smith, G.D., Schneider, M., Minder, C. (1997). Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*, 315:629-34.
- Egger, M., Smith, G.D., Phillips, A.N. (1997). Meta-analysis: Principles and procedures. *BMJ*, 315:1533-7.
- Erikson, M., Benner, R., Danielsson, N. (1997). Clinical manifestations and epidemiological of childhood tuberculosis in Stockholm 1976-95. *Scan J Infect Dis*, 29:569-72.
- Fang, Z., Doig, C., Kenna, D.T., Smittipat, N., Palittapongarnpim, P., Watt, B., and Forbes, K. J. (1999). IS6110-mediated deletions of wild-type chromosomes of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Bacteriol*, 181(3):1014-20.
- Farnia, P., Mohammadi, F., Reza, M., et al. (2004). Evaluation of tuberculosis transmission in Tehran using RFLP and spoligotyping methods. *J Infection*, 49:94-101.
- Felten, M.K., Rath, T., Magdorf, K., Klett, M., Leichsenring, M. (1998). Childhood tuberculosis in Germany between 1985 y 1994: comparison of tree selected patients groups. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2:797-803.
- Ferreira, M.M.C., Ferrazoli, L., Palaci, M., et al. (1996). Tuberculosis an HIV infection among female inmates in Sao Paulo, Brazil: a prospective cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 13:177-83.
- Frieden, T.R., Woodley, C.L., Crawford, J.T., Lew, D., and Dooley, S.M. (1996). The molecular epidemiology of tuberculosis in New York City: the importance of nosocomial transmission and laboratory error. *Tubercle and Lung Disease*, 77:407-13.
- Friedman, C.R., Stoekle, M.Y., Johnson, W.D. Jr., and Riley, L.W. (1995). Double-Repetitive-Element PCR method for subtyping *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *J Clin Microbiol*, 33(5):1383-4.
- Friedman, C.R., Quinn, G.C., Kreiswirth, B.N., et al. (1997). Widespread dissemination of a drug susceptible of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*, 176:478-84.
- Galbraith, R. (1988). A note on graphical presentation of estimated odds ratios from several clinical trials. *Stat Med*, 7:889-94.
- García-García, M.L., y Valdespino-Gómez, J.L. (1994). Tuberculosis. En: Valdespino Gómez JL, Velasco-Castrejón, O., Escobar-Gutiérrez, A., et al. (1994). *Enfermedades tropicales en México: diagnóstico, tratamiento y distribución geográfica*. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE) de la Secretaría de Salud, México, 9:215-26.
- Genewein, A., Telenti, A., Bernasconi, C., et al. (1993). Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community. *Lancet*, 342:841-4.
- Glynn, J.R., Bauer, J., de Boer, A.S., Borgdorff, M.W., Fine, P.E., Godfrey-Faussett, P., et al. (1999). Interpreting DNA fingerprinting clusters of *Mycobacterium tuberculosis*. European concerted action on molecular epidemiology and control of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 3:1055-60.
- Glynn, J.R., Vynnycky, E., Fine, P.E. (1999). Influence of sampling on estimates of clustering and recent transmission of

Mycobacterium tuberculosis derived from DNA fingerprinting techniques. *Am J Epidemiol* 149:366-371.

Glynn, J.R., Whiteley, J., Bifani, P.J., Kremer, K., van Soolingen, D. (2002). Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *Emerg Infect Dis*, 8:843-9.

Godfrey-Faussett, P., Sonnenberg, P., Shearer, S.C., Bruce, M.C., Mee, C., Morris, L., Murray, J. (2000). Tuberculosis control and molecular epidemiology in a South African gold-mining community. *The Lancet*, 356:1066-71.

Godfrey-Faussett, P., Mortiemer, P.R., Jenkins, P.A., Stoker, N.G. (1992). Evidence of transmission of tuberculosis by DNA fingerprinting. *BMJ*, 305:221-3.

Goguet de la Salmoniere, Y.O., Li, H.M., Torrea, G., Bunschoten, A., van Embden, J., Gicquel, B. (1997). Evaluation of spoligotyping in a study of the transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*. 35:2210-4.

Goyal, M., Lawn, S., Afful, B., Acheampog, J.W., Griffin, G., Shaw, R. (1999). Spoligotyping in molecular epidemiology of tuberculosis in Ghana. *J Infect*, 38:171-5.

Gutiérrez, M.C., Vincent, V., Aubert, D., et al. (1998). Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France, and surrounding area. *J Clin Microbiol*, 36(2):486-92.

Harris, E. (1998). *Mycobacterium tuberculosis*. En: *A Low-Cost Approach to PCR: Appropriate Transfer of Biomolecular Techniques*. Ed Nazreen Kadir. Oxford University Press, New York, 5.1.5.:118-132.

Heldal, E., Dahle, U.R., Sandven, P., et al. (2003). Risk factors for recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J*, 22:637-42.

Hermans, P.W.M., van Soolingen, D., Bik, E.M., de Hass, P.E.W., Dale, J.W., van Embden, J.D.A. (1991). Insertion element IS87 from *Mycobacterium bovis* BCG is located in a host-spot integration region for insertion element in *Mycobacterium tuberculosis* complex strain. *Infect Immun*, 59:2695-705.

Hermans, P.W.M., van Soolingen, D., Dale, J.W., et al. (1990). Insertion element IS986 from *Mycobacterium tuberculosis*: a useful tool for diagnosis and epidemiology tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 28:2051-8.

Hermans, P.W.M., Messadi, F., Guebrexabber, H., et al. (1995). Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia and the Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. *J Infect Dis*, 171:1504-13.

Hernandez-Garduño, E., Kunimoto, E., Wang, L., et al. (2002). Predictors of clustering of tuberculosis in Greater Vancouver: a molecular epidemiologic study. *CMAJ*, 167(4):349-52.

Hnizdo, E., Singh, T., Churchyard, G. (2000). Chronic pulmonary function impairment caused by initial and recurrent pulmonary tuberculosis following treatment. *Thorax*, 55:32-8.

Holmes, R.L., Fadden, C.T. (2004). Evaluation of the patients with chronic cough. *American Family Physician*, 69(9):2159-66.

Hueber, R.E., Good, R.C., Tokars, J.I. (1993). Current practices in mycobacteriology: Results of a survey of state public health laboratories. *J Clin Microbiol*, 31(4):771-5.

Iñigo-martínez, J., Chaves-Sánchez, F., Arce-Arnáez, A., et al. (2000). Transmisión reciente de la tuberculosis en Madrid: utilidad de las técnicas moleculares. *Med Clin (Barc)*, 115:241-5.

Iñigo-Martínez, J., Arce-Arnáez, A., Chaves-Sánchez, F., Palenque-Mataix, E., Burgoa-Arenales, M. (2003). Patrones de transmisión de la tuberculosis en un área sanitaria de Madrid. *Rev Esp Salud Publica*, 77:541-51.

Irwin, R.S., Madison, J.M. (2000). The diagnosis and treatment of cough. *N Engl J Med*, 343:1715-21.

Im, J.G., Iton, H., Lee, K.S., Han, M.C. (1995). CT-pathology correlation of pulmonary tuberculosis. *Crit Rev Diagn Imaging*, 36:227-85.

- Kanchana, M.V., Cheke, D., Natyshak, I., Connor, B., Warner, A., Martin, T. (2000). Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for the recovery of mycobacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 37:31-6.
- Kato-Maeda, M., Rhee, J.T., Gingeras, T.R., et al. (2001). Comparing genomes within the species *Mycobacterium tuberculosis*. *Genome Res*, 11:547-54.
- Kempf, M.C., Dunlap, N.E., Lok, K.H., Benjamin, W.H., Keenan, N.B., and Kimerling, M.E. (2005). Long-term molecular analysis of tuberculosis in Alabama, a state characterized by a largely indigenous, low risk population. *J Clin Microbiol*, 43(2):870-8.
- Kiers, A., Drost, A.P., van Soolingen, D., Vee, J. (1997). Use of DNA fingerprinting in international source case finding during a large outbreak of tuberculosis in the Netherlands. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1:239-45.
- Kremer, K., van Soolingen, D., Frothingham, R., et al. (1999). Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J Clin Microbiol*, 37:2607-18.
- Kulaga, S., Behr, M.A., Schwartzman, K. (1999). Genetic fingerprinting in the study of tuberculosis transmission. *Can Med Assoc*, 161:165-9.
- Lambert, M.L., Hasker, E., van Deun, A., Robertfroid, D., Boelaert, M., van der Stuyft, P. (2003). Recurrence in tuberculosis: relapse or reinfection?. *Lancet Infect Dis*, 3:282-7.
- Lasso-Echeverría, F. (1998). Diagnóstico de salud del estado de Guerrero. Primera edición. Talleres de Programas Educativos, S.A. de C.V. México.
- Lazuardo, M., Ashkin, D. (2000). Phthisiology at the dawn of the new century: A review of tuberculosis and the prospects for its elimination. *Chest*, 117:1455-73.
- Levy, H., Feldman, C., Sacho, H., et al. (1989). A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest*, 95:1193-7.
- Lambrechts-van Weezenbeek, C.S.B., Jansen, H.M., Nagelkerke, N.J.D., van Klingeren, B., Veen, J. (1998). Nation surveillance of drug-resistant tuberculosis in the Netherlands: risk factors and treatment outcome. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2(4):288-95.
- Lockman, S., Sheppard, J.D., Braden, C.R., et al. (2001). Molecular and conventional epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in Botswana: a population-based prospective study of 301 pulmonary tuberculosis patients. *J Clin Microbiol*, 39(3):1042-7.
- L'Abbé, K., Detsky, A., O'Rourke, K. (1987). Meta-analysis in clinical research. *Ann Intern Med*, 107:224-33.
- Maguire, H., Dale, J.W., McHugh, T.D., et al. (2002). Molecular epidemiology of tuberculosis in London 1995-7 showing low rate of active transmission. *Thorax*, 57:617-22.
- McShane, H. (2005). Co-infection with HIV and TB: double trouble. *Int J STD AIDS*, 16:95-101.
- Mistry, N.F., Iyer, A.M., D'Souza, D.T., Taylor, G.M., Young, D.B., Antia, N.H. (2002). Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from multiple-drug-resistant tuberculosis patients from Bombay, India. *J Clin Microbiol*, 40:2677-80.
- Mokaddas, E., Ahmad, S., Aval, A.T. (2002). Molecular fingerprinting of isoniazid-resistant *M. tuberculosis* isolates from chest diseases hospital in Kuwait. *Microbiol Immunol*, 46(11):767-71.
- Moro, M.L., Salamina, G., Gori, A., Penati, V., Sacchetti, R., Mezzetti, F., Infuso, A., Sodano, L. (2002). Two year population-based molecular epidemiological study of tuberculosis transmission in the metropolitan area of Milan, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 21:1114-22.
- Murray, M. (2002). Determinants of cluster distribution in the molecular epidemiology of tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99:1538-43.
- Narayanan, S. (2004). Molecular epidemiology of tuberculosis. *Indian J Med Res*, 120:233-47.

- Pena, M.J., Caminero, J.A., Campos-Herrero, M.I., et al. (2003). Epidemiology of tuberculosis on Gran Canaria: a 4 year population study using traditional and molecular approaches. *Thorax*, 58:618-22.
- Perkins, M.D., Kritski, A.L. (2002). Diagnostic testing in the control of tuberculosis. *Bulletin of the World Health Organization*, 80(6):512-3.
- Phyu, S., Jureen, R., Ti, T., Dahle, U.R., Grewall, H.M. (2003). Heterogeneity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Yagon, Myanmar. *J Clin Microbiol*, 41(10):4907-8.
- Pineda-Garcia, L., Ferrera, A., and Hoffener, S.E. (1997). DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* strains from patients with pulmonary tuberculosis in Honduras. *J Clin Microbiol*, 35(9):2393-7.
- Plit, M.L., Anderson, R., van Rensburg, C.E., et al. (1998). Influence of antimicrobial chemotherapy on spirometric parameters and pro-inflammatory indices in severe pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J*, 12:351-6.
- Qian, L., van Embden, J.D.A., van der Zanden, A.G.M., Weltevereden, E.F., Duanmu, H., Douglas, J.T. (1999). Retrospective analysis of the Beijing family of *Mycobacterium tuberculosis* in preserved lung tissues. *J Clin Microbiol*, 37:471-4.
- Reider, H.L., Cauthen, G.M., Comstock, G.W., et al. (1989). Epidemiology of tuberculosis in the United States. *Epidemiol Rev*, 11:79-98.
- Riley, L.W., and Harris, E. (1999). Double Repetitive Element Polymerase Chain Reaction Method for Subtyping *Mycobacterium tuberculosis* strains. In: Ollar RA and Connell ND. *Molecular Mycobacteriology*. Eds Marcell Dekker, Inc., 7:153-68.
- Ross, B.C., Raios, K., Jackson, K., and Dwyer, B. (1992). Molecular cloning of a highly repeated DNA element from *Mycobacterium tuberculosis* and its use as an epidemiology tool. *J Clin Microbiol*, 30:942-6.
- Schulger, N.W., Rom, W.N., (1994). Current approaches to the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 149:264-7.
- Secretaría de Salud de Guerrero. Dirección General de Epidemiología. Boletines epidemiológicos anuales. Mexico: Secretaría de Salud, 1990-2005.
- Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. Boletines epidemiológicos anuales. Mexico: Secretaría de Salud, 1990-2005.
- Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-1993, para la prevención y control de la tuberculosis en la atención primaria a la salud. Diario Oficial de la Federación, 1995:1-12.
- Sepkowitz, K.A., Raffalli, J., Riley, L., Kiehn, T.E., and Armstrong, D. (1995). Tuberculosis in the AIDS era. *Clin Microbiol Rev*, 8:180-99.
- Septkowitz, K.A., Friedman, C.R., Hafner, A., et al. (1995). Tuberculosis among urban health care workers: A study using restriction fragment length polymorphism typing. *Clinical Infectious Diseases*, 21:1098-102.
- Sharnprapai, S., Miller, A.C., Suruki, R., Corkren, E., Etkind, S., Driscoll, J., McGarry, M., Nardell, E. (2002). Genotyping analyses of tuberculosis cases in US and foreign-born Massachusetts Residents. *Emerging Infectious Diseases*, 8(11):1239-45.
- Sharp, S.E., Lemes, M., Erlich, S.S., Poppiti, R.J. Jr. (1997). A comparison of the Bactec 9000MB system and the septi-check AFB system for the detection of mycobacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 28:69-74.
- Sharp, S.E., Lemes, M., Sierra, S.G., Poniecka, A., Poppiti, R.J. Jr. (2000). Lowenstein-Jensen media. No longer necessary for mycobacterial isolation. *Am J Clin Pathol*, 113:770-3.
- Small, P.M., Hopewell, P.C., Singh, S.P., et al. (1994). The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. *N Engl J Med*, 330(24):1703-9.

- Small, P.M., and van Embden, J.D.A. (1994). Molecular epidemiology of tuberculosis. *In* Tuberculosis pathogenesis protection and control. *American Society for Microbiology*, Bloom BR (ed.), Washington, D.C., 569-82.
- Small, P.M., and Moss, A. (1998). Molecular epidemiology and the new tuberculosis. *Braz J Med Biol Res*, 31(3):369-72.
- Small, P.M., Hopewell, P.C., Singh, S.P., et al. The contemporary epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based (CB1) study using conventional and molecular methods. <http://molepi.stanford.edu/nejournal94.article.html>. Revisado el 1/02/2000.
- Solsona, J., Cayla, J.A., Verdú, E., et al. (2001). Molecular and conventional epidemiology of tuberculosis in an inner city district. *Int J Tuberc Lung Dis*, 5(8):724-31.
- Sonnenberg, P., Murray, J., Glynn, J.R., Shearer, S., Kambashi, B., Godfrey-Faussett, P. (2001). HIV-1 and recurrence, relapse, and reinfection of tuberculosis after cure: a cohort study in South African mineworkers. *Lancet*, 358:1687-93.
- Sudre, P., Pfyffer, G.E., Bodmer, T., et al. (1999). Molecular epidemiology of tuberculosis among HIV-Infected persons in Switzerland: a countrywide 9-year cohort study. *Infection*, 27:323-30.
- Talbot, E.A., Moore, M., McCray, E., Binkin, N.J. (2000). Tuberculosis among foreign-born persons in the United States, 1993-1998. *JAMA*, 284(22):2894-900.
- Thierry, D., Brisson-Noel, A., Vincent-Levy-Frebault, V., Nguyen, S., Guesdon, J.L., Gicquel, B. (1990). Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis. *J Clin Microbiol*, 28:2668-73.
- Thierry, D., Cave, M.D., Eisenach, K.D., Crawford, J.T., Bates, J.H., Gicquel, B., and Guesdon, J.L. (1990). IS6110, as IS-like element of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Nucleic Acids Res*, 18:88.
- Tornieporth, N.G., Ptachewich, Y., Poltoratskaia, N., et al. (1997). Tuberculosis among foreign-born persons in New York City, 1992-1994: implications for tuberculosis control. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1(6):528-35.
- Torres, J.L., Villoro, R., Ramírez, T., Zurita, B., Hernández, P., Lozano, R., Franco, F. (2003). La salud de la población indígena en México. *Caleidoscopio de la salud*, 41-55.
- Uribe, A., Molina, G., Resurrección, V., Figueroa, M. (2000). Bronquiectasias y limitación funcional de la tuberculosis pulmonar curada. *Anales de la Facultad de Medicina*, 61(4):309-14.
- Vacheé, A., Vincent, P., Savage, C., et al. (1999). Molecular epidemiology of tuberculosis in the Nord Department of France during 1995. *Tubercle and Lung Disease*, 79(6):361-6.
- Valdespino-Gómez, J.L., y García-García, M.L. (1994). Epidemiología de las enfermedades tropicales en México. En: Valdespino Gómez JL, Velasco Castrejón O, Escobar Gutiérrez A, et al. *Enfermedades tropicales en México: diagnóstico, tratamiento y distribución geográfica*. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) de la Secretaría de Salud, México, 1:3-19.
- Valway, S.E., Sanchez, M.P., Shinnick, T.F., et al. (1998). An outbreak involving extensive transmission of a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med*, 338:633-9.
- van Soolingen, D., Qian, L., de Haas, P.E.W., et al. (1995). Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. *J Clin Microbiol*, 33:3234-8.
- van Soolingen, D., Borgdorff, M.W., de Haas, P.E.W., Sebek, M.M.G.G., Veen, J., Dessens, M., Kremer, K., and van Embden, J.D.A. (1999). Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: A nationwide study from 1993 through 1997. *J Infect Dis*, 180(3):726-36.
- van Soolingen, D., Hermans, P.W., de Haas, P.E., Soll, D.R., van Embden, J.D. (1991). Occurrence and stability of insertion sequences in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 29:2578-86.
- van Soolingen, D., de Haas, P.E.W., Hermans, P.W.M., Groenen, P.M.A., and van Embden, J.D.A. (1993). Comparison of various

repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*, 31:1987-95.

van Soolingen, D. (2001). Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements. *J Intern Med*, 249:1-26.

van Deutekom, H., Gerritsen, J.J.J., van Soolingen, D., van Ameijden, E.J.C., van Embden, J.D.A., Coutinho, R.A. (1997). A molecular epidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam. *Clinical Infectious Diseases*, 25:1071-7.

Veen, J. (1992). Microepidemics of tuberculosis: the stone-in-the-pond principle. *Tuber Lung Dis*, 73:73-6.

Verver, S., Warren, R.M., Much, Z., et al. (2004). Transmission of tuberculosis in a high incidence urban community in South Africa. *International Journal of Epidemiology*, 33:351-7.

Weis, S.E., Moonan, P.K., Pogoda, J.M., Turk, L., King, B., Freeman-Thompson, S., Burges, G. (2001). Tuberculosis in the foreign-born population of Tarrant County, Texas, by immigration status. *Am J Respir Crit Care Med*, 164:953-7.

Wilkinson, D., Pillay, M., Crump, J., Lombard, C., Davies, G.R., Sturm, W. (1997). Molecular epidemiology and transmission dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* in rural Africa. *Tropical Medicine and International Health*, 2(8):747-53.

Wilson, S.M., Nava, E., Morales, A., Godfrey-Faussett, P., Gillespie, S., and Nei, I A., (1993). Simplification of the polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in the tropics. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 87:177-80.

World Health Organization Report. Global Tuberculosis Control: Surveillance, planning, Financing. WHO report 2006. Geneva World Health Organization Report (WHO/HTM/TB/2006.362).

Yang, Z.H., de Haas, P.E.W., Wachmann, C.H., van Soolingen, D., and van Embden, J.D.A. (1995). Molecular epidemiology of tuberculosis in Denmark in 1992. *J Clin Microbiol*, 33(8):2077-81.

Yuen, L.K.W., Ross, B.C., Jackson, K.M., Dwyer, B. (1993). Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains from Vietnamese patients by Southern blot hybridization. *J Clin Microbiol*, 31:1615-8.

Zhang, M., Gong, J., Yang, Z., et al. (1999). Enhanced capacity of a widespread strain of *Mycobacterium tuberculosis* to grow in human macrophages. *J Infect Dis*, 179:1213-7.

Zhang, L.X., Enarson, D.A., He, G.X., Li, B., Chan-Yeung, M. (2002). Occupational and environmental risk factors for respiratory symptoms in rural Beijing, China. *Eur Respir J*, 20:1525-31.

Zolnir-Dovc, M., Poljak, M., Erzen, D., and Sorli, J. (2003). Molecular epidemiology of tuberculosis in Slovenia: Results of a one-year (2001) Nation-wide study. *Scand J Infect Dis*, 35:863-8.

Zumla, A., Grange, J. (1998). Tuberculosis. *BMJ*, 316:1962-4.

Anexos disponibles escribiéndole a la autora: enava@ciet.org