

Investigación sobre epidemiología convencional y molecular de tuberculosis en Orizaba, Veracruz, 1995-2008

Ma Eugenia Jiménez-Corona, MC, Dra en C,⁽¹⁾ Lourdes García-García, MC, Dra en C,⁽¹⁾ Alfredo Ponce de León, MC,⁽²⁾ Miriam Bobadilla-del Valle, QFB, Dra en C,⁽²⁾ Martha Torres, QFB, Dra en C,⁽³⁾ Sergio Canizales-Quintero, Biól,⁽¹⁾ Carmen Palacios-Merino, MC,⁽¹⁾ Susana Molina-Hernández, QFB,⁽¹⁾ Rosa Areli Martínez-Gamboa, Dra en C,⁽²⁾ Luis Juárez-Sandino, TI,⁽¹⁾ Bulmaro Cano-Arellano, Ing en C,⁽¹⁾ Leticia Ferreyra-Reyes, MC,⁽¹⁾ Luis Pablo Cruz-Hervert, Lic en Odont,⁽¹⁾ Renata Báez-Saldaña, MC, Dra en C,⁽¹⁾ Elizabeth Ferreira-Guerrero, MC,⁽¹⁾ Eduardo Sada, MC,⁽³⁾ Brenda Marquina, MC,⁽²⁾ José Sifuentes-Osornio, MC.⁽²⁾

Jiménez-Corona ME, García-García L, Ponce de León A, Bobadilla-del Valle M, Torres M, Canizales-Quintero S, Palacios-Merino C, Molina-Hernández S, Martínez-Gamboa RA, Juárez-Sandino L, Cano-Arellano B, Ferreyra-Reyes L, Cruz-Hervert LP, Báez-Saldaña R, Ferreira-Guerrero E, Sada E, Marquina B, Sifuentes-Osornio J.
Investigación sobre epidemiología convencional y molecular de tuberculosis en Orizaba, Veracruz, 1995-2008. *Salud Publica Mex* 2009;51 suppl 3:S470-S478.

Resumen

Se describen los resultados de investigación del Consorcio Mexicano contra la Tuberculosis, en la Jurisdicción Sanitaria de Orizaba, Veracruz, entre 1995 y 2008. Las aportaciones principales de los trabajos se refieren a los siguientes rubros: 1. Epidemiología convencional y molecular (medición de la carga de la enfermedad, tendencias, factores de riesgo y grupos vulnerables; descripción de las consecuencias de la farmacorresistencia e identificación de factores que favorecen la transmisión en la comunidad y en los hospitales). 2. Desarrollo de técnicas rápidas para conservación de muestras respiratorias que permitan el aislamiento y diagnóstico de farmacorresistencia de *M. tuberculosis* en campo. 3. Evaluación de la prueba tuberculínica, respuesta inmunológica al Bacilo de Calmette-Guerin (BCG), biomarcadores de la respuesta inmunitaria y medidas de control. 4. Comentarios en torno a aspectos éticos de la investigación en tuberculosis. Además se describe el impacto en políticas públicas, la transferencia de tecnología, la formación de recursos humanos y las perspectivas a futuro.

Palabras clave: tuberculosis; epidemiología molecular; transmisión; México

Jiménez-Corona ME, García-García L, Ponce de León A, Bobadilla-del Valle M, Torres M, Canizales-Quintero S, Palacios-Merino C, Molina-Hernández S, Martínez-Gamboa RA, Juárez-Sandino L, Cano-Arellano B, Ferreyra-Reyes L, Cruz-Hervert LP, Báez-Saldaña R, Ferreira-Guerrero E, Sada E, Marquina B, Sifuentes-Osornio J.
Research on conventional and molecular epidemiology of tuberculosis in Orizaba, Veracruz, 1995-2008. *Salud Publica Mex* 2009;51 suppl 3:S470-S478.

Abstract

This study describes the achievements of the Mexican Consortium against Tuberculosis, in the Sanitary District of Orizaba, Veracruz, Mexico between 1995 and 2008. In brief, the main results can be classified as follows: 1) Conventional and molecular epidemiology (measurement of burden of disease, trends, risk factors and vulnerable groups, consequences of drug resistance, identification of factors that favor nosocomial and community transmission); 2) Development of diagnostic techniques to detect drug resistance, description of circulating clones and adaptation of simple techniques to be used in the field; 3) Evaluation of usefulness of tuberculin skin test, immunologic responses to BCG, impact of directly observed therapy for tuberculosis (DOTS), and study of immunological biomarkers and 4) Comments on ethical aspects of tuberculosis research. Additionally, we describe the impact on public policies, transference of technology, capacity building and future perspectives.

Key words: tuberculosis; molecular epidemiology; transmission; Mexico

(1) Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México.

(2) Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México, DF, México.

(3) Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. México, DF, México.

Fecha de recibido: 28 de julio de 2008 • Fecha de aceptado: 14 de noviembre de 2008

Solicitud de sobretiros: Dra. Lourdes García-García. Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública. Av. Universidad 655, col. Santa María Ahuacatitlán. 62100, Cuernavaca, Mor. México.
Correo electrónico: garcigarm@gmail.com

La tuberculosis se identifica como una emergencia global desde 1994 y ocupa el primer lugar entre las causas de muerte por enfermedades infecciosas curables. Los países pobres conllevan la mayor carga de enfermedad: casi 80% de los pacientes con enfermedad de reciente diagnóstico reside en las regiones más pobladas del mundo. En México, esta enfermedad continúa representando un problema de salud pública. A pesar de que no ha alcanzado la magnitud que se muestra en otras regiones, las tasas estimadas de enfermedad son de 50 casos por 100 000 habitantes.¹ Los principales obstáculos para lograr un control adecuado incluyen el manejo deficiente de los programas, la falta de adherencia al tratamiento y la resistencia a los medicamentos.²

La nueva estrategia *Alto a la Tuberculosis*, formulada por la Organización Mundial de la Salud, tiene como prioridad tanto la investigación biomédica como la investigación operacional que mejore el funcionamiento de los programas y el fortalecimiento de las infraestructuras existentes.^{3,4} Se ha producido un reconocimiento paulatino de la necesidad de que los países y comunidades que sobrellevan la mayor carga de la enfermedad demanden con firmeza nuevas herramientas, participen en la investigación y promuevan el establecimiento de nuevas estrategias de control.⁵ El control de la tuberculosis, de acuerdo con las recomendaciones internacionales para el control de las enfermedades infecciosas en el siglo XXI, deberá enfocarse a mejorar la prevención, el diagnóstico, el tratamiento y las estrategias de control del padecimiento.⁶

De acuerdo con estas recomendaciones, se estableció el "Consortio Mexicano contra la Tuberculosis". El propósito de este artículo es describir los logros en los campos de la investigación biomédica, epidemiológica, clínica, social, informática en salud y desarrollo tecnológico de este grupo. Asimismo, se concluye con la descripción del impacto en políticas públicas, la transferencia de tecnología, la formación de recursos humanos y las perspectivas a futuro.

Material y métodos

En 1995 un grupo de investigadores formó el "Consortio Mexicano contra la Tuberculosis", que integró a investigadores de dos institutos nacionales (el Instituto Nacional de Salud Pública y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán), con la entusiasta participación de los Servicios de Salud del estado de Veracruz, en particular de la Jurisdicción Sanitaria de Orizaba, del Hospital General de Río Blanco, y de la Universidad de Stanford. A lo largo de los años se han sumado otros grupos para colaborar en

proyectos específicos, así como diversas instituciones de excelencia como el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, la Universidad de Medicina y Odontología de Nueva Jersey y el Instituto de Sistemas Biológicos de Seattle, en Estados Unidos; el Colegio Imperial de la Universidad de Londres, en Reino Unido, la Universidad de McGill en Canadá y el Instituto Pasteur en Francia a través de la formación de vínculos profesionales intensos con las mismas. Asimismo, se consiguieron financiamientos nacionales e internacionales por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, los Institutos Nacionales de Salud, el Instituto de Medicina de Howard Hughes y la Fundación Bill y Melinda Gates de Estados Unidos, así como del Wellcome Trust del Reino Unido.

La metodología ya ha sido descrita.⁶⁻⁸ Durante los últimos 13 años se ha llevado a cabo un estudio prospectivo de base poblacional en el sureste de México que cumplió con los criterios requeridos para el uso de conglomerados en la interpretación de la transmisión de la tuberculosis,⁹⁻¹¹ esto es, un estudio prospectivo de la mayoría de casos ocurridos en una región geográfica definida y su relación con datos epidemiológicos.¹² Un comité externo realizó la selección de este sitio de estudio y evaluó los siguientes aspectos:

1. La existencia de un Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis que funcionara de manera adecuada;
2. a pesar de lo anterior, persistencia de tasas altas de tuberculosis,
3. la cooperación por parte de las autoridades locales y
4. relativa cercanía con los laboratorios de referencia.

El comité revisó varios sitios candidatos y acabó por seleccionar Orizaba dado que cumplía con todos los requisitos. El estudio se logró mediante la participación de las unidades de salud del área y con la colaboración del personal de los centros de salud, clínicas y hospitales de todas las instituciones de salud. Entre 1995 y 2008 se estudió a todas las personas residentes en el área de estudio, con más de dos semanas de tos y con baciloscopia positiva o cultivo positivo de *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) en la expectoración. A todos los pacientes se les elaboró historia clínica, se les aplicó un cuestionario estructurado y se les realizó una radiografía de tórax y búsqueda de anticuerpos anti-VIH. Todos los pacientes fueron referidos a las instituciones de salud para recibir tratamiento antituberculoso de acuerdo con lo establecido por el Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis.^{13,14} Hay que destacar que

debido a la forma en que se lleva a cabo el diagnóstico (a partir de sintomatología respiratoria), ha sido muy poco frecuente la detección de casos de tuberculosis extrapulmonar, con excepción de los casos de tuberculosis miliar, que representan un porcentaje reducido (10.4%). Como parte del estudio epidemiológico se visitaron los domicilios de los pacientes en búsqueda de contactos y en su caso aplicar su tratamiento de acuerdo con las normas vigentes. Entre 2000 y 2005 se efectuó un estudio epidemiológico e inmunológico de contactos domiciliarios y comunitarios. De manera adicional, a todos los pacientes reclutados se les dio seguimiento para conocer su evolución clínica y el resultado hasta finalizar el tratamiento. A continuación se investigó el desarrollo de nuevos episodios de tuberculosis y en caso de fallecimiento se investigó la causa de la muerte.

Micobacteriología y genotipificación

Las muestras de expectoración se procesaron para aislar *Mtb* según métodos estandarizados; las cepas fueron genotipificadas y mediante el análisis de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) basada en IS6110 y por espoligotipificación si el patrón de RFLP tenía menos de seis bandas.^{15,16} La información molecular fue transmitida a los epidemiólogos del grupo, quienes investigaron las posibles formas de transmisión entre los pacientes.

Aspectos éticos

Todos los proyectos de investigación planteados contaron con la aprobación de las comisiones de investigación, ética y bioseguridad de las instituciones participantes.

Resultados

Medición de la carga de la enfermedad

A pesar de que durante los años previos al inicio del estudio el programa de control de la tuberculosis había sido adecuado, las tasas de tuberculosis permanecieron altas, lo cual se atribuyó a la existencia de casos crónicos quizá debidos a resistencia farmacológica.¹⁷

Mediante el uso de herramientas de epidemiología convencional y molecular se describió la dinámica de la transmisión de la tuberculosis entre marzo de 1995 y agosto de 1996.⁷ El 35% de la tuberculosis ocurrida en el área correspondió a tuberculosis de transmisión reciente y se describieron microepidemias de tuberculosis en el área; en particular se investigó un brote vinculado a una

red de bares clandestinos. El caso índice correspondió a una anciana limosnara, bacilífera desde 1985, mientras que los casos secundarios se presentaron en meseros, clientes e incluso en la esposa del dueño de uno de estos establecimientos. En este estudio se demostró que a partir de un foco de transmisión dentro de una red social se desarrolló la cuarta parte de la transmisión con progresión rápida a enfermedad.⁷

Factores asociados a mortalidad

El estudio de la mortalidad se realizó en 454 pacientes y abarcó hasta octubre de 2000. Las altas tasas de mortalidad que se observaron durante el tratamiento y seguimiento señalaron que los indicadores que se utilizan de manera habitual subestiman la mortalidad que se observa en estos enfermos.¹⁸ Asimismo, se identificaron los principales predictores de mortalidad por esta causa.

Asociación entre diabetes y tuberculosis

La diabetes y la tuberculosis constituyen dos problemas de salud pública relevantes en México. Mediante el análisis conjunto de pacientes diabéticos diagnosticados entre 1995-2003 y la Encuesta Nacional de Salud 2000 se documentó que los pacientes diabéticos tienen mayor riesgo de tuberculosis (TB) tanto para reactivación de la enfermedad latente, como para la progresión de infección reciente.¹⁹ En estudios preliminares se ha documentado que los contactos que padecen diabetes corren mayor riesgo de desarrollar tuberculosis activa.²⁰ El estudio tiene implicaciones para el control de ambas enfermedades con impacto en ambos programas, ya que en la actualidad las estrategias de control de la tuberculosis no incluyen a la población diabética como grupo en riesgo.²¹

Grupos vulnerables

Con el propósito de determinar si existían diferencias, entre 1995 y 2003 se estudió la frecuencia de tuberculosis de acuerdo con el sexo en 623 pacientes, 41.1% de los cuales era femenino.⁶ En contraste con lo observado en otras regiones, se encontró que los varones tienen mayores tasas de incidencia y mortalidad por tuberculosis, así como mayor frecuencia de abandono y retratamiento. El diseño del estudio permitió identificar algunos factores de riesgo asociados con abandono y mortalidad.⁶

Otro grupo vulnerable es el de las personas coinfectadas con VIH. La frecuencia de coinfección con VIH ha sido relativamente baja, de 1.8% (21/1128); sin embargo,

los pacientes han tenido un pronóstico sombrío a pesar de haber recibido tratamiento combinado.²²

Un grupo también a considerar es el de los contactos domiciliarios de los pacientes con tuberculosis.⁸ Los resultados preliminares demostraron que la frecuencia de reactividad positiva a la tuberculina, de conversión tuberculínica y de tasa de desarrollo de tuberculosis activa fue mayor en los convivientes que en los controles comunitarios. La probabilidad de tener una prueba tuberculínica positiva fue mayor en aquellos contactos cuyo caso índice había recibido retratamiento antituberculoso. La frecuencia de reactividad y desarrollo de enfermedad en los contactos fue menor a la descrita en países con ingresos bajos e intermedios,²³ lo cual podría explicarse por una menor frecuencia de infección por VIH y el tratamiento de tuberculosis latente en menores de cinco años que se administra de acuerdo con la norma oficial.

Descripción de las consecuencias de la farmacorresistencia^{17,18,24-27}

Fue notoria, desde el inicio del estudio, la frecuencia de resistencia farmacológica de los aislados de *Mtb*. Se encontraron tasas altas de resistencia a fármacos, en particular a isoniacida y rifampicina asociadas con falla al tratamiento, retratamiento y muerte.^{25,27,18} No se han diagnosticado participantes portadores de resistencia extendida y se considera que ello es resultado de las diferentes estrategias de control que se han implementado, como el tratamiento acertado estrictamente supervisado (TAES) y el tratamiento con medicamentos de segunda línea a través del Comité de Luz Verde, lo cual revela la necesidad de contar con personal comprometido y con alta capacitación para el manejo de pacientes con recaída y fracaso a esquemas de tratamiento.

Transmisión de tuberculosis nosocomial

La frecuencia de infección tuberculosa que ocurre en los hospitales es un tema difícil de investigar debido a las limitaciones que presenta la reactividad tuberculínica, que es la prueba que se utiliza de manera usual para su investigación. En un estudio realizado en dos hospitales se identificaron factores de riesgo ocupacionales y se demostró la utilidad de esta prueba, a pesar de que la población estudiada tenía prevalencia alta de infección tuberculosa basal y alta cobertura de vacunación con BCG.²⁸ Con este estudio se abre un área de oportunidad para los programas de prevención y control de las infecciones nosocomiales encaminadas al desarrollo de estrategias de bioseguridad permanentes para el personal de salud en contacto con pacientes con tuberculosis.

Desarrollo de técnicas rápidas para la conservación de muestras respiratorias que permitan el aislamiento y el diagnóstico de farmacorresistencia de *M. tuberculosis* en campo

En un estudio prospectivo realizado en el laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, se evaluó la utilidad del ensayo del fago reportero de la luciferasa (luciferase reporter mycobacteriophages, LRPs) para pruebas de susceptibilidad a antibióticos de primera línea e identificación de aislados del complejo *Mtb* obtenidos a partir de MGIT-960²⁹ y se logró estandarizar el método.³⁰ En otro estudio se estandarizó el método de preservación de muestras de esputo para mejorar el rendimiento del cultivo en los estudios de campo.³¹ Estos resultados ofrecen la posibilidad de mejorar la calidad en la detección y el diagnóstico de pacientes con tuberculosis. Se propone que estas técnicas resulten de particular utilidad en las áreas rurales de difícil acceso a los servicios de salud, en la mayoría de las cuales se continúa utilizando la fijación de muestras en campo para asegurar su llegada al laboratorio.

Se evaluó, en otro estudio, un ensayo de una prueba rápida, reacción en cadena de polimerasa (PCR), en tiempo real para la detección de mutaciones que confieren resistencia a isoniacida y rifampicina, en aislados clínicos de *Mtb* del norte de India y en México. La prueba tuvo suficiente sensibilidad (89%) y especificidad (99%) para ser utilizada en países con alta prevalencia de tuberculosis.³²

Descripción de clones circulantes en México

Con la tipificación de los aislados por espigotipificación, los autores encontraron aislados que pertenecen a los linajes T1, X1, X3 y Harlem (<http://www.pasteurguadeloupe.fr/tb/spoldb4/spoldb4sorted.pdf>). Se encontró un caso que pertenece a la familia Beijing.

Se ha propuesto que las mutaciones en la posición 306 del gen *embB* de *Mtb* confieren resistencia a etambutol. Con el propósito de evaluar el papel de estas mutaciones, se participó en el estudio de 1 020 aislados clínicos de *Mtb* con diferentes patrones de sensibilidad y origen geográfico, así como la formación de conglomerados por RFLP- IS6110. Las mutaciones de *embB306* no confirieron resistencia a etambutol, aunque se observó que existe asociación entre la presencia de las mutaciones que pueden predisponer al desarrollo de resistencia a múltiples antibióticos y a la capacidad de transmisión del microorganismo.³³

Se analizó también una serie global de cepas de *Mtb* utilizando 212 marcadores del polimorfismo de nucleótidos

(SNP).³⁴ El análisis de grupo identificó seis grupos filogenéticos diferentes (SCG) (grupos de conglomerados de polimorfismos de un solo nucleótido) y cinco subgrupos. El grupo más antiguo (SCG-1) predominó en pacientes provenientes de India, mientras que el SCG-1 y otro grupo ancestral (SCG-2) predominaron en pacientes del este de Asia, lo cual sugiere que el *Mtb* surgió en India y se diseminó al resto del mundo desde el este de Asia. Estas observaciones coinciden con lo señalado por otros autores.^{35,36} La diversidad restringida de SCG y la prevalencia menos ancestral de SCG en la población nativa en Uganda y México hacen suponer que el *Mtb* se introdujo en fecha más reciente en estas regiones. Sin embargo, se requiere un estudio mucho más grande para establecer con certeza el origen y la distribución global del *Mtb*, así como para poder identificar de manera definitiva todos los SCG.

En otro estudio se profundizó en las bases moleculares para la resistencia de *Mtb* a isoniacida.³⁷ La distribución de las mutaciones de resistencia a isoniacida fueron diferentes en aislados monorresistentes en comparación con aislados multifarmacorresistentes (MFR). Estos resultados indican que la interacción entre los genes y los fenotipos farmacorresistentes tal vez influye en la resistencia a isoniacida y la evolución de las cepas MFR.

Identificación de biomarcadores de la respuesta inmunitaria

Estos trabajos están en una fase preliminar y se dirigen en especial a montar la infraestructura que permita, en el plano local, la separación y congelación de células. Estos proyectos tienden a identificar biomarcadores que permitan diferenciar la respuesta inmunitaria entre contactos domiciliarios y pacientes con tuberculosis, así como a diferenciar la respuesta inmunitaria entre pacientes con tuberculosis con y sin diabetes.

Por otro lado, a través del modelo animal ya descrito y publicado de forma amplia por el doctor Rogelio Hernández Pando,³⁸⁻⁴² se correlacionó el comportamiento clínico-epidemiológico de cepas seleccionadas con el comportamiento que presentan en el modelo murino y se logró la caracterización de cuatro fenotipos diferentes.⁴³

Evaluación del Programa de Control^{2,44,45}

El TAES es la principal estrategia para prevención y control de la tuberculosis. Se estudiaron los cambios en las tendencias de tuberculosis después de la implementación de la estrategia TAES en el Programa de Control en Orizaba entre 1995 y 2000.^{2,44} Se encontró que las

tasas de tuberculosis disminuyeron de manera significativa tanto las de reactivación como las de transmisión reciente y, de manera sorprendente, las de tuberculosis farmacorresistente.² La aportación original consistió en documentar que mediante un buen control de la tuberculosis, realizado de acuerdo con los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud, no sólo se logra abatir las tasas de tuberculosis sensible sino también las de tuberculosis resistente; por otro lado, se modifica la sobrevida individual de los enfermos portadores de tuberculosis resistente. El impacto en las políticas públicas se refleja en el reconocimiento de que es necesario conjuntar el TAES con el TAES Plus (inclusión de medicamentos de segunda línea para el tratamiento de la tuberculosis farmacorresistente y estrategias especializadas para su atención) para lograr un control adecuado de la enfermedad.

Utilidad de la prueba de PPD

Se estudió a niños en edad escolar con el propósito de determinar la utilidad de la prueba tuberculínica para detectar infección latente por *Mtb* en una población que ya recibió la vacuna BCG. El estudio concluyó que los resultados de reactividad tuberculínica permiten identificar a niños con infección latente, ya que la asociación del antecedente de exposición y la prueba tuberculínica positiva conserva su valor significativo y con efecto "dosis-respuesta" después de incluir en el análisis el antecedente de vacunación por BCG. Si bien no es posible diferenciar mediante la prueba de derivado proteico purificado (PPD) si la reactividad es atribuible a la vacuna o a una infección reciente, los datos de los autores de esta investigación indican que la reactividad tuberculínica en niños expuestos en fecha reciente a pacientes con tuberculosis activa es atribuible a infección por *Mtb*, quienes podrían beneficiarse con el tratamiento contra la tuberculosis latente.⁴⁵

Evaluación de vacunas⁴⁶

El antecedente de vacunación con BCG muestra eficacia variable para prevenir la tuberculosis. En este estudio, se evaluó la hipótesis de que la variabilidad en la eficacia de la vacuna podría deberse al tipo de cepa de BCG utilizada. Se vacunaron, al nacimiento, niños con tres diferentes tipos de vacunas: BCG (BCG-Brazil [BBCG]), BCG-Denmark [DBCG] o BCG-Japan [JBCG]). Un año después se obtuvieron células mononucleares periféricas de los niños y se determinó la respuesta al filtrado proteínico de *Mtb* mediante PCR de tiempo real. Se encontró que los niños que recibieron las vacunas brasileña y danesa presentaron valores altos de citocinas

características de la respuesta adaptativa (IFN- γ , IL-12 β e IL-27), mientras que los niños vacunados con la vacuna japonesa presentaron mayor expresión de citocinas características de una respuesta proinflamatoria (IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-24). Se analizó IL-27, citocina perteneciente a la familia de IL-12 que incrementa la producción de IFN- γ y que por ello despliega un papel importante en la inducción de la respuesta protectora. No se evaluó la expresión de IL-17, pero se analizó IL-23, la cual es importante en la respuesta inmunitaria temprana (también participa en la inducción de IFN- γ) y modula la respuesta inflamatoria al estimular la producción de IL-17 y mantener la población T_H17. La expresión de TNF fue similar en los tres grupos de estudio. Se concluyó que las diferentes cepas de BCG pueden activar vías inmunitarias distintas, lo cual podría explicar la variabilidad en la eficacia de la vacuna.

Aspectos éticos de la investigación en tuberculosis

A la fecha no existen guías o lineamientos estandarizados para determinar las obligaciones y responsabilidades que deberían enfrentar los investigadores con los participantes en un estudio cuando requieren atención especial (médica, social, política, etc.), es decir, una atención que no se relaciona con los objetivos iniciales del mismo. Estas guías deben garantizar los principios éticos de no causar daño, ser benéficos y actuar con equidad, que constituyen los fundamentos éticos de toda investigación.

Se participó en la discusión sobre los aspectos éticos en dos casos de estudios epidemiológicos de tuberculosis. La discusión se centró en las responsabilidades que deben asumir los investigadores frente a los participantes cuando se presentan necesidades ancilares o de apoyo que no se relacionan con el objetivo del estudio.⁴⁷ Se concluyó que se requieren nuevos marcos éticos y políticos que ayuden a los investigadores a comunicarse con los tomadores de decisiones. De no establecerse esta colaboración, los esfuerzos de unos y otros tendrán un impacto limitado.

Discusión

Las contribuciones científicas del grupo ampliaron el conocimiento sobre la epidemiología molecular de la enfermedad con énfasis en la resistencia, los factores de riesgo y la detección de brotes. Los estudios se apegaron a la investigación con misión; este enfoque se considera indispensable dadas las limitaciones de diagnóstico y tratamiento en que se presenta la enfermedad.

En resumen, las aportaciones principales de los trabajos realizados son las siguientes:

1. Medición de la carga de la enfermedad, tendencias, factores de riesgo y grupos vulnerables.^{6,7,19}
2. Descripción de las consecuencias de la farmacorresistencia.^{17,18,24-27}
3. Asociación entre diabetes y tuberculosis.¹⁹
4. Desarrollo de técnicas diagnósticas de farmacorresistencia y descripción de clonas circulantes en México,^{29,32-34,37} así como la implementación de técnicas sencillas y rápidas para la conservación de muestras respiratorias, que permitan el aislamiento y el diagnóstico de farmacorresistencia de *M. tuberculosis* en el campo.²⁹⁻³¹
5. Identificación de factores que favorecen la transmisión nosocomial y comunitaria de la TB.^{28,8}
6. Evaluación de la prueba de PPD,⁴⁶ de biomarcadores de la respuesta inmunitaria,⁴³ de vacunas⁴⁵ y del programa de control.^{2,44-48}
7. Aspectos éticos de la investigación en tuberculosis.⁴⁷

Cabe destacar que los resultados obtenidos sirvieron como referencia para proponer a la Secretaría de Salud y considerar, en el marco del Grupo Nacional Interinstitucional, algunas modificaciones a las normas oficiales mexicanas relacionadas con el tratamiento y control de la tuberculosis.⁴⁹

Como parte de los trabajos, se transfirió la tecnología para genotipificación de *Mtb* del laboratorio del doctor Peter Small, en la Universidad de Stanford, a los siguientes sitios: a) Laboratorio de micobacteriología del INCMNSZ, dirigido por el doctor José Sifuentes; b) Laboratorio de biología molecular, dirigido por el doctor Hiram Olivera, en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, y c) al laboratorio dirigido por la doctora Blanca Rivera-Chavira en la Universidad Autónoma de Chihuahua.

Asimismo, se transfirió la capacidad de realizar estudios inmunológicos *in vitro* del laboratorio del doctor Young en el Imperial College, en Gran Bretaña, al laboratorio de micobacteriología del INCMNSZ dirigido por el doctor José Sifuentes.

Se fortaleció la capacidad de realizar cultivos en el ámbito local en el laboratorio del Hospital General de Río Blanco, Veracruz, y se estableció un laboratorio local para la realización de baciloscopias y pruebas inmunológicas tales como separación y preparación de células.

Las actividades de investigación han impactado en el área de capacitación y formación de recursos humanos. Así, recibieron capacitación más de 100 técnicos, distribuidos en los laboratorios del Hospital General

de Río Blanco, Ver; en la Jurisdicción Sanitaria VII en Orizaba, Veracruz; y en el laboratorio de microbiología clínica del INCMNSZ.

La incorporación en los proyectos de investigación ha favorecido la formación de más de 30 estudiantes posdoctorales, 14 maestros en ciencia y en salud pública y cuatro doctores en ciencias.

La perspectiva de investigación futura es profundizar en el estudio del tratamiento de la tuberculosis latente tanto en individuos sanos como en enfermos con diabetes o en personas que viven con VIH. Asimismo, se están explorando las posibilidades de control de la asociación diabetes/tuberculosis, así como la fisiopa-

togenia que explique las bases inmunológicas que la determinan. Las áreas de interés incluyen diagnóstico, prevención y tratamiento. Otro aspecto que se encuentra en estudio son las interacciones entre el agente, el huésped y el ambiente que subyacen a la rápida progresión de infección a enfermedad. Para ello se cuenta con financiamiento de diferentes organismos entre los que se encuentran el CONACyT y la Fundación Bill y Melinda Gates. Se planea extender estos estudios a otras áreas, entre ellas la Ciudad de México y las ciudades de Cuautla y Cuernavaca.

Recientemente se publicó un artículo de revisión sobre las necesidades de investigación en tuberculosis,⁴

Cuadro I
CUMPLIMIENTO DE PRIORIDADES DE INVESTIGACIÓN POR EL CONSORCIO MEXICANO CONTRA LA TUBERCULOSIS

Áreas de investigación	Actividades específicas	Actividades desarrolladas por el Consorcio
Diagnóstico	Mejorar el desempeño del programa de control y crear infraestructura	✓
	Mejorar métodos existentes y desarrollar nuevos métodos diagnósticos	✓
	Desarrollar métodos para evaluar la actividad de la enfermedad	✓
	Reforzar la capacidad de investigación y la investigación operacional	✓
	Establecer y mantener recursos de investigación	✓
Desarrollo de nuevos medicamentos y esquemas de tratamiento	Facilitar la investigación y el desarrollo de medicamentos	✓
	Reforzar la capacidad para desarrollar ensayos clínicos	✓
	Producir información basada en la evidencia, que sirva para adoptar nuevos esquemas de tratamiento	✓
	Adaptar estrategias de tratamiento existentes	✓
	Desarrollar y evaluar marcadores de eventos-resultado y biomarcadores	✓
	Evaluar modelos matemáticos para simular eficacia y costos	~
Investigación social y agenda global	Reducir el riesgo y vulnerabilidad a la tuberculosis en grupos específicos	✓
	Evaluar el efecto de la pobreza en la búsqueda de atención a la salud	~
	Evaluar los efectos de la inequidad de género	✓
	Identificar el efecto de los factores comunitarios en los servicios de salud y el programa TAES	✓
Investigación operacional	Estrechar los vínculos entre investigadores, programas de control nacionales, ministerios de salud y otros colaboradores	✓
	Involucrar a todos los proveedores de atención	✓
	Empoderar a los pacientes y a la comunidad	~
	Permitir y promover la investigación	✓
	Evaluar estrategias que promuevan la adherencia	✓
Estudios de inmunopatogenia	Evaluar el uso de inmunoterapia adyuvante	~
	Desarrollar estrategias para detectar y manejar el síndrome de reconstitución inmunitaria	~
	Investigar y usar la información sobre inmunopatogenia	✓
	Identificar correlatos de protección inmunitaria	✓
	Investigar la diversidad geográfica en el estado inmunitario preexistente de poblaciones blanco para vacunas	✓
Desempeño del programa y creación de infraestructura	Creación de infraestructura individual e institucional en los países menos desarrollados	✓
	Enfocarse a colaborar con países más desarrollados	✓

Fuente: adaptado de referencia 4

✓ Área incluida en la agenda de investigación del Consorcio

~ Área no incluida en la agenda de investigación del Consorcio

que se refieren a los campos de diagnóstico, tratamiento, aspectos sociales y operacionales, inmunopatogenia, conducción de programas y formación de recursos humanos, todos los cuales se describen en el cuadro I y se señala la participación del grupo autor en estudios de investigación en cada una de las actividades específicas propuestas. De este análisis se desprende que sobre todo es necesario extender estas investigaciones hacia las áreas sociales relativas al empoderamiento de comunidades y pacientes. Es evidente la necesidad de que la investigación en este campo sea multidisciplinaria y colaborativa, que considere las necesidades de la población afectada y que de manera fundamental se refleje en el cambio de políticas y estrategias de control para finalmente abatir la enfermedad.

Agradecimientos

Por su invaluable colaboración, a los Servicios de Salud de Veracruz, la Jurisdicción Sanitaria de Orizaba, el Hospital General de Río Blanco y a los pacientes. Estos estudios fueron financiados por la Secretaría de Salud de México, los Institutos Nacionales de Salud de EUA (A135969 y K01TW000001), el Wellcome Trust (176W009), el Howard Hughes Medical Institute (55000632) y el CONACyT (G26264M, 30987-M; SALUD-2003-CO1-132-A-1; SEP-2004-CO1-47499).

Referencias

1. Tapia R, Ruiz C, Ferreira E. Epidemiology of tuberculosis in Mexico. México: McGraw-Hill/Interamericana 1995:761-788.
2. DeRiemer K, García-García L, Bobadilla-del-Valle M, Palacios-Martínez M, Martínez-Gamboa A, Small PM, et al. Does DOTS work in populations with drug-resistant tuberculosis? *Lancet* 2005;365(9466):1239-1245.
3. Baker EN, Arcus VL, Lott JS. Protein structure prediction and analysis as a tool for functional genomics. *Appl Bioinformatics* 2003;2(3 Suppl):S3-10.
4. Onyebujoh P, Rodríguez W, Mwaba P. Priorities in tuberculosis research. *Lancet* 2006;367(9514):940-942.
5. Raviglione MC, Uplekar MW. WHO's new stop TB strategy. *Lancet* 2006;367(9514):952-955.
6. Jiménez-Corona ME, García-García L, DeRiemer K, Ferreyra-Reyes L, Bobadilla-del-Valle M, Cano-Arellano B et al. Gender differentials of pulmonary tuberculosis transmission and reactivation in an endemic area. *Thorax* 2006;61(4):348-353.
7. García-García M, Palacios-Martínez M, Ponce-de-León A, Jiménez-Corona ME, Jiménez-Corona A, Balandrano-Campos S et al. The role of core groups in transmitting *Mycobacterium tuberculosis* in a high prevalence community in Southern Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4(1):12-17.
8. Jiménez Corona M, García-García M, Ponce-de-León A, García-Sancho C, Sifuentes-Osornio J, Ferreyra-Reyes L et al. Infección tuberculosa en contactos de pacientes con tuberculosis pulmonar. Prevalencia, incidencia y factores de riesgo. X Encuentro Nacional de Investigadores de la Secretaría de Salud. Acapulco, Gro., 26-29 de octubre, 2005.

9. Glynn JR, Vynnycky E, Fine PE. Influence of sampling on estimates of clustering and recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* derived from DNA fingerprinting techniques. *Am J Epidemiol* 1999;149(4):366-371.
10. Godfrey-Faussett P. Interpretation of cluster studies of tuberculosis. *Lancet* 1999;353(9151):427-428.
11. Murray M, Alland D. Methodological problems in the molecular epidemiology of tuberculosis. *Am J Epidemiol* 2002;155(6):565-571.
12. II Censo de Población y Vivienda 2005. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). México 2006.
13. 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* 1995:20-29.
14. Modificación a la 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* 2000:20-29.
15. Van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993;31(2):406-409.
16. Yang ZH, Ijaz K, Bates JH, Eisenach KD, Cave MD. Spoligotyping and polymorphic GC-rich repetitive sequence fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* strains having few copies of IS6110. *J Clin Microbiol* 2000;38(10):3572-3576.
17. García-García ML, Small PM, García-Sancho C, Mayar-Maya ME, Ferreyra-Reyes L, Palacios-Martínez M et al. Tuberculosis epidemiology and control in Veracruz, Mexico. *Int J Epidemiol* 1999;28(1):135-140.
18. García-García ML, Ponce-De-León A, García-Sancho MC, Ferreyra-Reyes L, Palacios-Martínez M, Fuentes J et al. Tuberculosis-related deaths within a well-functioning DOTS control program. *Emerg Infect Dis* 2002;8(11):1327-1333.
19. Ponce-De-León A, García-García ML, García-Sancho MC, Gomez-Perez FJ, Valdespino-Gomez JL, Olaiz-Fernandez G et al. Tuberculosis and diabetes in southern Mexico. *Diabetes Care* 2004;27(7):1584-1590.
20. Jiménez-Corona M, García-García M, Ponce-de-León A, DeRiemer K, Cano-Arellano B, Bobadilla-del-Valle M et al. Aspectos clínicos y epidemiológicos de la asociación de TB pulmonar y diabetes mellitus. XXXI Congreso de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica A.C., IX Congreso de la Asociación Mexicana para el Estudio de Las Infecciones Nosocomiales A.C. 2006, Monterrey, Nuevo León.
21. Murray M. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: a systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med* 2008;5(7):1-11.
22. García-García ML, García-Sancho MC, Ponce de León-Garduno A, Palacios-Martínez M, Ferreyra-Reyes L, Kato-Maeda M et al. Impact of HIV infection on delayed mortality of tuberculosis patients in Mexico. XIV International Conference AIDS. Editore M 2002:237-241.
23. Morrison J, Pai M, Hopewell PC. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2008;8(6):359-368.
24. DeRiemer K, García García ML, Ponce de León Garduno A, Sifuentes Osornio J, Small PM. Classification of drug-resistant tuberculosis. *Lancet* 2000;356(9245):1931-1932.
25. García-García ML, Jiménez-Corona ME, Ponce-de-León A, Jiménez-Corona A, Palacios-Martínez M, Balandrano-Campos S et al. *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance in a suburban community in southern Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4(12 Suppl 2):S168-170.
26. García-García ML, Ponce de León A, Jiménez-Corona ME, Jiménez-Corona A, Palacios-Martínez M, Balandrano-Campos S et al. Clinical consequences and transmissibility of drug-resistant tuberculosis in southern Mexico. *Arch Intern Med* 2000;160(5):630-636.
27. García-García ML, Sifuentes-Osornio J, Jiménez-Corona ME, Ponce-de-León A, Jiménez-Corona A, Bobadilla-del Valle M et al. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Orizaba, Veracruz. Implications for

- the tuberculosis prevention and control program. *Rev Invest Clin* 2001;53(4):315-323.
28. García-García ML, Jiménez-Corona A, Jiménez-Corona ME, Ferreyra-Reyes L, Martínez K, Rivera-Chavira B et al. Factors associated with tuberculin reactivity in two general hospitals in Mexico. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22(2):88-93.
29. Banaiee N, Bobadilla-del-Valle M, Riska PF, Bardarov S, Jr., Small PM, Ponce de Leon A et al. Rapid identification and susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from MGIT cultures with luciferase reporter mycobacteriophages. *J Med Microbiol* 2003;52(Pt 7):557-561.
30. Banaiee N, Bobadilla Del-Valle M, Bardarov S, Jr., Riska PF, Small PM, Ponce De Leon A et al. Luciferase reporter mycobacteriophages for detection, identification, and antibiotic susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in Mexico. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):3883-3888.
31. Bobadilla-del Valle M, Ponce de Leon A, Kato-Maeda M, Hernandez-Cruz A, Calva-Mercado JJ, Chavez-Mazari B et al. Comparison of sodium carbonate, cetyl-pyridinium chloride, and sodium borate for preservation of sputa for culture of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2003;41(9):4487-4488.
32. Varma-Basil M, El-Hajj H, Colangeli R, Hazbon MH, Kumar S, Bose M et al. Rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from India and Mexico by a molecular beacon assay. *J Clin Microbiol* 2004;42(12):5512-5516.
33. Hazbon MH, Bobadilla-del Valle M, Guerrero MI, Varma-Basil M, Filliol I, Cavatore M et al. Role of embB codon 306 mutations in *Mycobacterium tuberculosis* revisited: a novel association with broad drug resistance and IS6110 clustering rather than ethambutol resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(9):3794-802.
34. Filliol I, Motiwala AS, Cavatore M, Qi W, Hazbon MH, Bobadilla del Valle M et al. Global phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* based on single nucleotide polymorphism (SNP) analysis: insights into tuberculosis evolution, phylogenetic accuracy of other DNA fingerprinting systems, and recommendations for a minimal standard SNP set. *J Bacteriol* 2006;188(2):759-772.
35. Kulkarni S, Sola C, Filliol I, Rastogi N, Kadival G. Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients with pulmonary tuberculosis in Mumbai, India. *Res Microbiol* 2005;156(4):588-596.
36. Singh UB, Suresh N, Bhanu NV, Arora J, Pant H, Sinha S et al. Predominant tuberculosis spoligotypes, Delhi, India. *Emerg Infect Dis* 2004;10(6):1138-1142.
37. Hazbon MH, Brimacombe M, Bobadilla-del Valle M, Cavatore M, Guerrero MI, Varma-Basil M et al. Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(8):2640-2649.
38. Hernandez-Pando R, Orozco H, Arriaga K, Sampieri A, Larriva-Sahd J, Madrid-Marina V. Analysis of the local kinetics and localization of interleukin-1 alpha, tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta, during the course of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunology* 1997;90(4):607-617.
39. Hernandez-Pando R, Orozco H, Sampieri A, Pavon L, Velasquillo C, Larriva-Sahd J et al. Correlation between the kinetics of Th1, Th2 cells and pathology in a murine model of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunology* 1996;89(1):26-33.
40. Hernandez-Pando R, Pavon L, Arriaga K, Orozco H, Madrid-Marina V, Rook G. Pathogenesis of tuberculosis in mice exposed to low and high doses of an environmental mycobacterial saprophyte before infection. *Infect Immun* 1997;65(8):3317-3327.
41. Infante E, Aguilar LD, Gicquel B, Pando RH. Immunogenicity and protective efficacy of the *Mycobacterium tuberculosis* fadD26 mutant. *Clin Exp Immunol* 2005;141(1):21-28.
42. Jarnagin JL, Luchsinger DW. The use of fluorescein diacetate and ethidium bromide as a stain for evaluating viability of mycobacteria. *Stain Technol* 1980;55(4):253-258.
43. Marquina-Castillo B, García-García L, Ponce de León A, Jiménez Corona M, Bobadilla-del Valle M, Cano-Arellano B et al. Virulence, immuno-pathology and transmissibility of selected strains of *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model. *Immunology*. E pub a head of print: 22 dec 2008.
44. Jacobson LM, García-García M, Hernández-Avila JE, Cano-Arellano B, Small PM, Sifuentes-Osornio J et al. Changes in the geographical distribution of tuberculosis patients in Veracruz, Mexico, after reinforcement of a tuberculosis control programme. *Trop Med Int Health* 2005;10(4):305-311.
45. Wu B, Huang C, García L, Ponce de Leon A, Osornio JS, Bobadilla del Valle M et al. Unique gene expression profiles in infants vaccinated with different strains of *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin. *Infect Immun* 2007;75(7):3658-3664.
46. García-Sancho FM, García-García L, Jiménez-Corona ME, Palacios-Martínez M, Ferreyra-Reyes LD, Canizales-Quintero S et al. Is tuberculin skin testing useful to diagnose latent tuberculosis in BCG-vaccinated children? *Int J Epidemiol* 2006;35(6):1447-1454.
47. Dickert N, DeRiemer K, Duffy PE, García-García L, Mutabingwa TK, Sina BJ et al. Ancillary-care responsibilities in observational research: two cases, two issues. *Lancet* 2007;369(9564):874-877.
48. García-García ML, Mayar-Maya ME, Ferreyra-Reyes L, Palacios-Martínez M, Alvarez-García C, Valdespino-Gomez JL. Efficacy and efficiency of antitubercular treatment in health jurisdictions of Morelos. *Salud Publica Mex* 1998;40(5):421-429.
49. Ferreira E. Programa "México libre de tuberculosis", pautas para el tratamiento y retratamiento de tuberculosis. *Boletín Epidemiología* 2002;19(26).