

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO

Epidemiología molecular de la tuberculosis en pacientes con diabetes mellitus-
tuberculosis de Orizaba, Veracruz, 1995-2010.

Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Enfermedades Infecciosas

FRANCLES BLANCO GUILLOT

Generación 2013-2017

Directora de tesis:

Dra. Ma. de Lourdes García García.

Asesores de tesis:

Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño

Dr. Eduardo Sada Díaz.

Dra. Judith Miriam Bobadilla del Valle

Cuernavaca, Morelos, Agosto 2017.

DEDICADO ESPECIALMENTE A:

Mi madre, María Julia Guillot Rodríguez, mi vida misma (¡tus años de inmenso esfuerzo no fueron en balde mamá!)

Mi padre, Hermógenes Blanco Peña, junto a María Regla Rosell Pedroso y Odetty Blanco Rosell, agradecido por todo su amor.

Mi esposa, Nancy Contreras Juárez, nada en absoluto sería posible sin ti (todo mi amor eres tú) y muy pronto madre de una niña hermosa (¡ya te esperamos Lena!)

AGRADECIMIENTOS A:

Dra. Ma de Lourdes García, en especial, y a los grupos de trabajo en tuberculosis del INSP sede Tlalpan, INCMNSZ e INER.

Erasmus Contreras Villicaña, María Lilia Juárez Medrano, la abuela y Constantino Contreras Villicaña.

Carlos González e Hilda Guerra (una y otra vez, por siempre!)

RESUMEN

Antecedentes: En la literatura científica reciente se ha demostrado la asociación de la diabetes mellitus con el incremento en el riesgo y la gravedad de la enfermedad de tuberculosis. **Objetivo general:** Determinar si la diabetes mellitus influye en la transmisión de la tuberculosis pulmonar en análisis del nivel de agrupamiento genotípico en el contexto global y geoespacial en una cohorte de pacientes de Orizaba, Veracruz. **Material y métodos:** (Estudio I) Se realizó una búsqueda sistemática en las bases de datos electrónicas MEDLINE y LILACS de 1990 a mayo de 2016. Se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras claves: "tuberculosis AND transmisión" OR "tuberculosis AND diabetes mellitus" OR "*Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology" OR "RFLP-IS6110" OR "Spoligotyping" OR "MIRU-VNTR". El análisis estadístico se basó en un modelo de efectos aleatorios para estimar la RM (de Mantel-Haenszel) del factor diabetes mellitus asociado con el agrupamiento molecular de casos de tuberculosis. Se utilizó un modelo de efectos aleatorios para considerar la variabilidad intra- como inter-estudio. Para evaluar el grado de heterogeneidad de los estudios, bajo la hipótesis nula de ninguna heterogeneidad, se utilizó la prueba estadística Q de Cochran con $p < 0.05$. Para evaluar el impacto de la calidad metodológica de cada estudio y para identificar la influencia de cada estudio, se replicó el metanálisis 6 veces. Se examinó el sesgo de publicación mediante las pruebas de Begg y Egger. Se utilizaron los programas Review Manager v5.3.5 y Comprehensive Meta-Análisis v3. (Estudio II) Se realizó un estudio retrospectivo de cohortes observacionales de pacientes con TB descrito en estudios previos realizados por el Consorcio Mexicano contra la Tuberculosis. El área de estudio incluye 12 municipios en la Jurisdicción de Salud de Orizaba en el Estado de Veracruz, México. Los pacientes con baciloscopías y/o cultivos positivos fueron reclutados a lo largo de los 15 años y se sometieron a evaluaciones epidemiológicas, clínicas (cuestionario estandarizado, examen físico, radiografía de tórax y VIH), microbiológicas y moleculares. Se registraron las direcciones residenciales y puntos de referencia de los pacientes. Dos asistentes de investigación quedaron cegados a los nombres de los participantes y cada residencia fue georreferenciada

dos veces con un dispositivo GPS de mano. Se utilizó la aplicación ArcMap para hacer disponible la información en los mapas que muestran la distribución de los casos georreferenciados en el área de estudio. Los aislados fueron genotipificados utilizando el método de RFLP-IS6110 y spoligotyping si el aislamiento tenía menos de 6 bandas. Los pacientes se consideraron como pertenecientes a conglomerados o participantes en cadenas de transmisión, si dos o más pacientes se diagnosticaron con no más de un año de diferencia aislándose la misma cepa (definida en base a RFLP con IS6110 y spoligotipificación si tenía menos de seis bandas). Asumimos que los casos en conglomerados representaban transmisión reciente y que los casos portadores de aislados cuyo genotipo fue único representaban reactivaciones de infecciones latentes. Se calculó la proporción de casos atribuidos a transmisión reciente de TB mediante el método "n - 1". Se evaluó el nivel de agregación espacial de los pacientes de TB (agrupados por RFLP-IS6110, únicamente) en toda el área de estudio por medio del estadístico I de Moran global. El estadístico Getis-Ord G_i^* es un indicador local de autocorrelación espacial, usado en este estudio para identificar los puntos críticos (hotspot) espaciales de los casos de TB. Entre los pacientes agrupados por RFLP-6110 se utilizaron análisis bivariados para analizar las diferencias sociodemográficas, conductuales, clínicas y bacteriológicas entre los pacientes en hotspots y el resto de pacientes. Mediante regresión logística no condicionada, se investigó si los pacientes con TB/DM pertenecientes a conglomerados moleculares tuvieron mayor probabilidad de ubicarse en puntos críticos ajustando por variables sociodemográficas, conductuales, clínicas y bacteriológicas en comparación con pacientes con TB sin DM pertenecientes a conglomerados moleculares. El análisis de todos los datos fue realizado en STATA v13.1. **Resultados principales:** Estudio I: Esta revisión sistemática y metanálisis consistió finalmente en 6 estudios de cohorte publicados entre 2002 y 2015, que incluyeron a un total de 4076 pacientes con TB pulmonar, de los cuales 13% presentaron TB-DM. . La medida resumen que se obtuvo indicó que no existía asociación entre el diagnóstico de DM y la pertenencia a conglomerados moleculares (Razón de momios (RM) =0.84 (Intervalo de confianza al 95% (IC 95%) 0.40-1.72). Estudio II: La combinación de

información molecular, epidemiológica y datos geoespaciales obtenidos de los casos de la cohorte permitió documentar la existencia de punto crítico geoespacial en el área de estudio. Asimismo, se propuso la concentración de pacientes con y sin diabetes perteneciente a conglomerados genéticos de tuberculosis en uno de los centros de atención ubicado en la zona destacada. Se encontró asociación estadística significativa entre los pacientes TB-DM y la pertenencia a punto crítico geoespacial (7.05 [3.03-16.38], $p < 0.001$). **Conclusión general** Se precisa aquí la necesidad de implementación de nuevos protocolos de estudios (v.gr.: estudios prospectivos de cohortes) que permitan esclarecer la interacción TB-DM en escenarios específicos de transmisión.

TABLA DE CONTENIDO

1-Introducción general	Pág 1
2- Marco teórico	
2.1- Tuberculosis: definición, patogenia y diagnóstico bacteriológico	Pág 2
2.2- Epidemiología de la tuberculosis: aspectos esenciales y contexto actual	Pág 7
2.2.1- Interacción tuberculosis-diabetes mellitus	Pág 10
2.3- Métodos de estudio epidemiológico en tuberculosis	Pág 12
2.3.1- Métodos basados en biología molecular	Pág 14
2.3.2- Análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción basado en el elemento de inserción IS-6110 (RFLP-IS6110)	Pág 16
2.4- Sistemas de información geográfico	Pág 18
2.4.1- Modelos de espacio-tiempo	Pág 19
2.5- Marco conceptual	Pág 21
2.6- Planteamiento del problema	Pág 22
2.7- Justificación	Pág 24
2.8- Objetivo general	Pág 24
2.9- Descripción de la tesis y contribuciones	Pág 24
3- Agrupamiento molecular de pacientes con tuberculosis pulmonar y diabetes mellitus: una revisión sistemática y meta-análisis (estudio I).	
3.1- Introducción	Pág 26
3.2- Material y métodos	Pág 28
3.3- Resultados	Pág 31
3.4- Discusión	Pág 36
3.5- Limitaciones	Pág 39
3.6- Conclusiones	Pág 40
4- Análisis genotípico y espacial de casos de tuberculosis pulmonar y diabetes en el estado de Veracruz, México (estudio II).	
4.1- Introducción	Pág 41
4.2- Material y métodos	Pág 42
4.3- Resultados	Pág 47
4.4- Discusión	Pág 60
4.5- Fortalezas y limitaciones del estudio	Pág 65
4.6- Conclusiones	Pág 65
5- Discusión y conclusiones generales	Pág 66
5.1- Perspectiva futura	Pág 68
6- Referencias bibliográficas	Pág 69

1- Introducción general

En el panorama epidemiológico global de 2014 se estimaron 9.6 millones de casos nuevos con tuberculosis activa (WHO, 2015), de los cuales 1 millón presentaron tuberculosis y diabetes mellitus (TB-DM) (Lönnroth et al., 2014). La proporción estimada de tuberculosis atribuible a diabetes en 2030 será del 12,6% (95% IC 9,2-17,3%) con 14.1% (IC 95% 10.3-19.3%) de casos nuevos, un aumento relativo del 25,5% (23.7% en casos nuevos) en comparación con 2010 (Ruslami et al., 2010).

En la literatura científica reciente se ha demostrado la asociación de la diabetes mellitus con el incremento en el riesgo (Jeon y Murray, 2008; Ruslami, 2010; Jiménez-Corona et al., 2013) y la gravedad de la enfermedad de tuberculosis (Jean-Tyang et al., 2011; Baker et al., 2011; Jiménez-Corona et al., 2013), y se ha reportado también en pacientes con diabetes una mayor frecuencia de tuberculosis pulmonar frente a la extra-pulmonar (Restrepo y Schlesinger, 2014) y mayor extensión en el tiempo de negativización de baciloscopías y cultivos en el curso de tratamiento (Jiménez-Corona et al., 2013; Restrepo y Schlesinger, 2014; Baker et al., 2011; Shariff y Safian, 2015).

En base a toda la evidencia existente sobre la interacción de las enfermedades de tuberculosis y diabetes mellitus, el presente trabajo se ha centrado principalmente en determinar el modo de participación de los pacientes con diabetes en la transmisión de tuberculosis. Así, se presentan aquí los pormenores de dos estudios dirigidos a responder esta interrogante.

2- Marco teórico

2.1- Tuberculosis: definición, patogenia y diagnóstico bacteriológico

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que suele afectar a los pulmones y es causada principalmente por bacterias miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Es una enfermedad en esencia curable por tratamiento multifármaco (American Thoracic Society, 2000).

Las manifestaciones clínicas de la tuberculosis son muy variables y dependen de factores relacionados con el paciente (edad, condición inmunológica, enfermedades coexistentes), la cepa infectante (virulencia, predilección por tejidos específicos) y la interacción hospedero-microorganismo (gravedad de la enfermedad, órganos involucrados) (American Thoracic Society, 2000).

La tuberculosis, que involucra cualquier sitio del cuerpo humano, puede producir síntomas y signos que no están específicamente relacionados al órgano o tejido afectado en sí, sino son de naturaleza sistémica. Entre ellos, la fiebre, la pérdida de apetito y peso, la sudoración nocturna, la debilidad y el malestar general. La manifestación hematológica más común es la anemia, la leucopenia o la leucocitosis de rango leucemoide (American Thoracic Society, 2000).

Basados en modelos experimentales, se han descrito 4 eventos muy bien definidos en la patogénesis de la tuberculosis pulmonar: (i) inhalación del bacilo de Koch (BK); (ii) reclutamiento celular inflamatorio; (iii) control de la proliferación bacilar y (iv) tuberculosis post-primaria (Smith y Moss, 1994). El riesgo de desarrollar la tuberculosis activa es un proceso que se desarrolla en dos fases, comienza con la exposición inicial a la infección por *M. tuberculosis*, seguido por la progresión a la enfermedad (figura 2.1) (WHO, 2014).

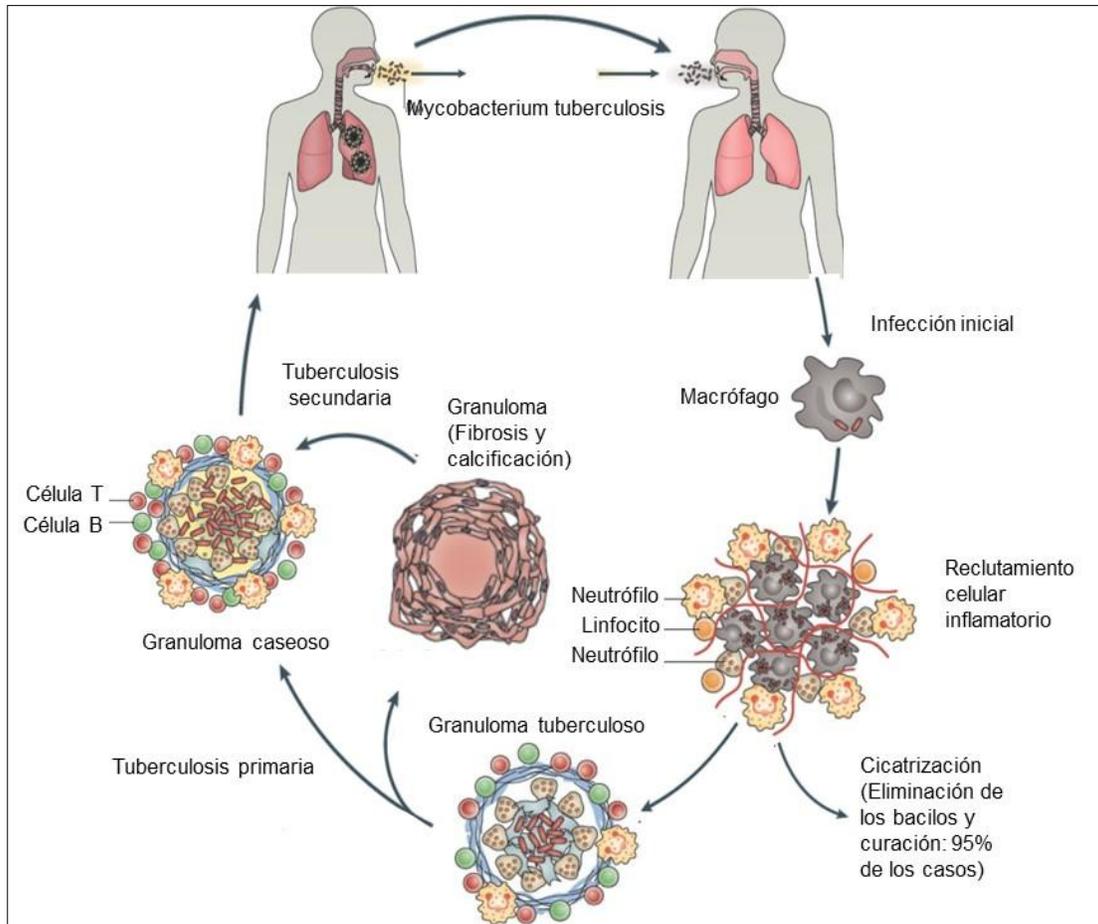


Figura 2.1.- Representación gráfica de la fisiopatología de la tuberculosis pulmonar (adaptado de Nunes-Alves et al., 2014)

Una vez que *M. tuberculosis* supera los mecanismos de defensa broncopulmonares, llega a los alveolos del pulmón y de modo general se deposita en los alveolos de los lóbulos inferiores, aquellos ubicados inmediatamente por debajo de la pleura (llamado chancro de inoculación) (Harrison et al., 2005; Rodríguez, 2013). Esta invasión desencadena una reacción inespecífica, compuesta por leucocitos polimorfonucleares (fagocitos), líquido edema y fibrina, es decir, exudado. El cambio observado en primer término luego de la llegada de los bacilos al alveolo, es una lesión no específica de tipo exudativo (Harrison et al., 2005), fase a la que se le denomina infección primaria y que no conduce a algún tipo de manifestación clínica en el organismo hospedero (figura 2.1) (Harrison et al., 2005).

Esta lesión inicial tiene dos posibilidades evolutivas: cicatrización (eliminación de los bacilos y curación, que ocurre en 95% de los casos) o la progresión (Rodríguez, 2013). La progresión puede hacerse hacia la necrosis del tejido invadido o más común a la formación de una lesión histológica que otorga el nombre a la enfermedad: el granuloma tuberculoso (Harrison et al., 2005; Rodríguez, 2013). Esta formación de granuloma es el rasgo distintivo de la enfermedad primaria (figura 2.1) (Harrison et al., 2005).

El granuloma tuberculoso tiene a su vez dos posibilidades evolutivas: la cicatrización, cual puede hacerse por formación de tejido fibroso (fibrosis), que puede acompañarse de calcificación (depósito de sales de calcio a ese nivel), o la progresión (figura 2.1) (Rodríguez, 2013). Durante esta etapa la multiplicación de los bacilos tuberculosos se efectúa de manera efectiva sin interferencia de los mecanismos de defensa del huésped. Es así que desde el chancro de inoculación los bacilos son transportados por los vasos linfáticos pulmonares a los ganglios ubicados en el hilio pulmonar y el mediastino, lo cual conduce al agrandamiento de dichos ganglios: adenomegalias hiliares y mediastinales (Harrison et al., 2005; Rodríguez, 2013).

El chancro de inoculación, los vasos linfáticos que conducen bacilos tuberculosos y se inflaman (linfangitis) y las adenomegalias hiliares y/o mediastinales conforman el llamado complejo primario (Harrison et al., 2005). Al alcanzar los ganglios regionales, los bacilos tuberculosos pueden irrumpir en la circulación sanguínea y de ahí distribuirse por todo el organismo a diferentes órganos, en especial en los vértices de los pulmones. En esta localización pulmonar constituyen focos metastásicos conocidos como focos de Simón (Harrison et al., 2005; Rodríguez, 2013). Otros órganos comprometidos son: el cerebro y sus cubiertas de envoltura (meninges), riñones y huesos en crecimiento (Rodríguez, 2013), manifestaciones de tuberculosis extrapulmonar (Harrison et al., 2005).

La tuberculosis progresiva primaria puede originar complicaciones locales y/o sistémicas. La multiplicación excesiva de los bacilos en el foco primario y el consiguiente crecimiento del mismo, permiten la llegada de los gérmenes al

torrente sanguíneo en grandes cantidades. Este proceso genera lesiones del tamaño de pequeños granos (granulomas amarillentos de 1 ó 2 mm de diámetro semejante a las semillas de mijo) en distintos órganos, constituyendo la llamada tuberculosis miliar o granulia. La ubicación cerebro-meníngea de estas lesiones es la más letal presentación de tuberculosis (Harrison et al., 2005; Rodríguez, 2013).

La tuberculosis post-primaria, llamada también tuberculosis secundaria, de reactivación o de tipo adulto, se debe a la reactivación endógena de una infección tuberculosa latente y suele localizarse en los segmentos apicales y posteriores de los lóbulos superiores, donde la gran concentración de oxígeno favorece el crecimiento de las micobacterias (figura 2.1) (Harrison et al., 2005). La tuberculosis por reinfección exógena puede producirse en un sujeto previamente infectado, que en un nuevo contacto con un individuo enfermo, puede llegar a desarrollar una nueva clínica de tuberculosis (Rodríguez, 2013). Estas diferentes formas de tuberculosis de tipo adulto son indistinguibles desde el punto de vista clínico y radiológico (Harrison et al., 2005; Rodríguez, 2013).

El diagnóstico de la tuberculosis consta básicamente de dos pasos fundamentales: la identificación de los sospechosos y la realización del estudio diagnóstico. Pueden catalogarse como sospechosos los contactos de enfermos con tuberculosis, sintomáticos respiratorios, individuos inmunodeficientes y personas dentro de comunidades cerradas. Un sintomático respiratorio es toda persona que presente tos y expectoración por más de dos semanas (Crofton et al., 1992; Heifets y Good, 1994).

El diagnóstico microbiológico de la tuberculosis se basa en la detección del microorganismo por microscopía y cultivo de muestras clínicas. La tinción de Ziehl-Neelsen o baciloscopía, es la técnica fundamental en la detección de casos y control de tratamiento de los programas nacionales. Con un costo bajo y de rápida ejecución, la baciloscopía es una técnica que permite identificar entre 70%-80% de los casos pulmonares positivos (OPS, 2008) o 60%-70% de las muestras de origen respiratorio con resultado positivo al cultivo (Watterson y Drobniowski, 2000). Dada su baja sensibilidad y especificidad, se requiere el complemento del

cultivo bacteriológico de las muestras. Así, es posible incrementar la confirmación del diagnóstico de tuberculosis en aproximadamente 15-20% del total de casos y en 20-30% de los casos de tuberculosis pulmonar. Estas cifras están condicionadas por la situación epidemiológica (OPS, 2008).

El cultivo produce resultados tardíamente, pero permite aislar la cepa responsable del cuadro clínico en el paciente, también constituye el soporte de las pruebas de identificación (bioquímica y molecular) y sensibilidad antibiótica (OPS, 2008).

Existen otros tipos de pruebas para el diagnóstico de tuberculosis, tales como las pruebas serológicas que son ampliamente usadas desde hace décadas, sobre todo en países en vías de desarrollo. Estas pruebas detectan anticuerpos, antígenos y complejos inmunes que evidencien la presencia de infección o enfermedad por tuberculosis (Singh y Espitia, 2007).

El IFN γ y una respuesta inmune tipo Th1 son ampliamente conocidos como marcadores de una inmunidad protectora, sin embargo la presencia de IFN γ realmente correlaciona de manera insuficiente con la protección (Jacobsen et al., 2007).

La OMS hizo un llamado a todos los países a suspender el uso de pruebas serológicas para el diagnóstico de tuberculosis activa. La OMS indica que la evidencia revisada por un grupo de expertos concluye que dichas pruebas proporcionan resultados inconsistentes e inexactos (WHO, 2011).

Por otro lado se han desarrollado técnicas moleculares para lograr los mismos resultados del cultivo con mayor celeridad. Ejemplo de ello son las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, tales como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, siglas en inglés). Algunos de los métodos aprobados por Food and Drug Administration (FDA) son: Amplicor *M. tuberculosis* Test (Roche Diagnostic Systems Inc, New Jersey, USA), Amplified *M. tuberculosis* Direct Test (MTD; Gen-Probe, California, USA) y BD ProbeTec ET Direct TB System (Becton Dickinson, Sparks, Maryland, USA). La prueba Amplicor amplifica el gen 16S de ARN ribosomal usando primers específicos con detección de una reacción

colorimétrica. MTD está basado en la amplificación de transcritos ribosomales de 16S, los cuales son detectados con una sonda ADN. Ambos métodos fueron aprobados para la detección de *M. tuberculosis* en muestras respiratorias con baciloscopía positiva. También existen métodos de PCR en tiempo real, como la prueba MTBC LightCycler (Roche Applied Science, Penzberg, Alemania) (Palomino, 2006) y el Xpert MTB/RIF (plataforma Gene Xpert) (Cepheid, California, EUA). Esta última ha sido recomendada por la OMS para su uso extensivo en la detección simultánea de *M. tuberculosis* y resistencia a rifampicina tanto en el diagnóstico inicial como en seguimiento de casos (WHO, 2011).

2.2- Epidemiología de la tuberculosis: aspectos esenciales y contexto actual

La tuberculosis es transmitida de humano a humano principalmente por vía aérea. La fuente de infección es aquel paciente con tuberculosis pulmonar o laríngea que expectora bacilos por medio de las gotas de Flügge mientras tose, habla, canta, escupe o estornuda (Harrison et al., 2005; Varaine et al., 2010). Estas partículas miden de 0.5 a 10 μm y pueden permanecer hasta 30 minutos en el aire en suspensión, lo cual les permite ingresar hasta la vía aérea pequeña y sacos alveolares, donde tienen contacto con los macrófagos. En la tuberculosis se le llama unidad bacilar a una gota de Flügge que contiene de uno a tres bacilos tuberculosos (Smith y Moss, 1994; American Thoracic Society, 2000).

Las gotas de Flügge son producidas también en el ambiente hospitalario y de laboratorio, en acciones sobre el paciente de tuberculosis como: tratamientos de aerosol, inducción de esputos, broncoscopías, manipulación de lesiones y procesamiento de muestras (esputos, biopsias, secreciones, etc.) (American Thoracic Society, 2000). La infección ocurre cuando estas gotitas son inhaladas por un huésped (Varaine et al., 2010).

Los bacilos tuberculosos forman los núcleos de estas pequeñas gotitas. Las partículas de mayor tamaño, aunque tengan mayor número de bacilos, son menos contagiosas, pues caen por gravedad, o en caso de ser inhaladas, son eliminadas por el sistema mucociliar y la tos (American Thoracic Society, 2000). Otras formas

de infección menos comunes son la inoculación cutánea o contaminación digestiva en caso de tuberculosis bovina (Varaine et al., 2010).

La infecciosidad del paciente con tuberculosis está ligada a la cantidad de bacilos contenidos en su esputo. Los pacientes con baciloscopía positiva (BK+) son los más contagiosos. Aquellos con sólo cultivo positivo y baciloscopía negativa (BK-) son menos contagiosos. Pacientes BK- y cultivo negativo generalmente no son contagiosos. Las formas extrapulmonares de la enfermedad sólo son contagiosas en circunstancias excepcionales. Los niños generalmente no son contagiosos debido a que su tos es débil y tienen menos producción de esputo (Smith y Moss, 1994; Varaine et al., 2010).

Se estima que un paciente con tuberculosis y BK+, no diagnosticado y no tratado, infecta de 10 a 20 personas por año (esto varía de acuerdo al ambiente y estilo de vida de cada persona) (Varaine et al., 2010). Aproximadamente 10% de personas infectadas con el bacilo de la tuberculosis desarrollarán la enfermedad activa durante su vida, con un alto riesgo en los dos primeros años seguidos de la infección. Cerca del 55% de estos pacientes con enfermedad activa tienen una forma pulmonar contagiosa (Smith y Moss, 1994; American Thoracic Society, 2000).

Los mayores factores que contribuyen a la transmisión en tuberculosis son: las características del enfermo, el entorno y duración en que tiene lugar la exposición y la susceptibilidad del hospedero (Varaine et al., 2010). Sin embargo, la transmisión eficiente de *M. tuberculosis* se basa en el daño al pulmón, de tal forma que las cepas con mayor propensión a la severidad de la enfermedad (daño del tejido pulmonar y cavitación) serán capaces de transmitirse más eficientemente. En otras palabras, la virulencia está directamente unida a la transmisión. Por tanto, la virulencia en tuberculosis puede ser conceptualizada como una composición que comprende: (i) habilidad de la cepa para sobrevivir ante la respuesta del sistema inmune del hospedero, (ii) la capacidad para inducir daño tisular, (iii) sobrevivir al proceso de aerosolización fuera del huésped y (iv) transmitirse con éxito e infectar a un nuevo huésped (Coscolla y Gagnéux, 2014).

La tuberculosis representa un problema de salud pública mundial. La OMS estimó una incidencia de 9 millones de casos y 1.5 millones de muertes por tuberculosis en 2013 (WHO, 2014). La mayoría de los casos (56%) estuvieron en el sudeste asiático y la región oeste pacífico. La India y China representaron 24% y 11% del total de casos, respectivamente (WHO, 2014). A excepción de Europa del Este y algunos países africanos, las tasas de prevalencia y mortalidad se han reducido en todo el mundo gracias a las medidas para el tratamiento y control sugeridas por OMS. En 2007 se detectaron 30000 casos nuevos de tuberculosis multidrogorresistente (MDR, resistencia a rifampicina e isoniacida), de los cuales la mayoría se concentraron en Europa del Este y África (particularmente Sudáfrica). Hasta 2008, 55 países y territorios habían reportado a la OMS al menos un caso de tuberculosis extremadamente resistente (XDR, además de resistencia a rifampicina e isoniazida, también son resistentes a cualquier fluoroquinolona y al menos a uno de los tres antibióticos inyectables de segunda línea, capreomicina, kanamicina o amikacina), los cuales son prácticamente intratables (WHO, 2009).

La situación en América Latina es menos preocupante que en regiones como en Asia y África, sin que por ello deje de representar un problema de salud pública. En la región, México ocupa el tercer lugar en cuanto a la incidencia de casos de tuberculosis pulmonar. En el año 2010 se reportó un total de 18 848 casos nuevos de tuberculosis en todas las formas, equivalente a una tasa de incidencia de 16.8 casos por cada 100 mil habitantes, el grupo de edad más afectado fue de 25 a 44 años (34.4%), la mayor proporción de casos fue de tipo pulmonar (81.6%), en el que se registró una media nacional de 13.7 casos por 100 mil habitantes, equivalente a 15,384 casos nuevos, la diferencia por sexo fue muy marcada, siendo para hombres de 17.5 y para mujeres de 10.1 casos nuevos y se presentó al grupo de adultos mayores de 65 años como el más afectado. A nivel de las entidades federativas, 16 estados rebasan la media nacional, entre los que destacan Baja California (54.1/100 000 hab), Tamaulipas (35.9/100 000 hab), Guerrero (32.0/100 000 hab), Nayarit (31.4/100 000 hab), Sonora (31.2/100 000 hab), Sinaloa (29.3/100 000 hab), Veracruz (26.7/100 000 hab), entre otros (DGE,

2012). En cuanto al fenómeno de resistencia antibiótica, México se encuentra entre aquellos que han reportado casos de tuberculosis MDR y XDR (WHO, 2009).

2.2.1- Interacción tuberculosis-diabetes mellitus

La diabetes es una enfermedad sistémica, crónico degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, caracterizada por el aumento de los niveles de glucosa sanguínea (hiperglucemia), causada por un defecto (completo o no) en la secreción o acción de la insulina (Tapia et al., 2006). La diabetes mellitus y su comorbilidad constituyen una importante causa de preocupación en salud pública.

La interacción entre las enfermedades de tuberculosis y diabetes mellitus (TB-DM) fue descrita por primera vez en la historia de la medicina en el tratado escrito por Avicena (980-1037), "Canon de Avicena", en el cual describió las complicaciones de la enfermedad tuberculosa en pacientes con diabetes y como la presencia de la diabetes resultaba en un incremento al riesgo de tuberculosis (Niazi y Kalra, 2012). También, los trabajos realizados por Yugimahamuni, un tradicional sabio de la India, se describía esta asociación por medio de una combinación de síntomas que él denominó "meganoikal". Dichos síntomas incluían obesidad, glicosuria, sed, incontinencia, síntomas respiratorios e inconsciencia (Niazi y Kalra, 2012).

A inicio del siglo XX, el efecto de la diabetes en la tuberculosis fue una preocupación importante en los investigadores, pero esta fue un tanto descuidada durante la segunda mitad de dicho siglo debido a la emergencia de esquemas de tratamiento adecuado para ambas enfermedades (Masjedi et al., 2013).

El número de pacientes con diabetes mellitus a nivel mundial ha sido estimado en alrededor de 382 millones, con cerca de 7 millones de estos clasificados como casos nuevos y 46% no diagnosticados (IDF, 2013). Adicionalmente, hasta 2008, 3.9 millones de personas murieron por diabetes, con 80% de las muertes ocurridas en países de bajos o medianos recursos (Danaei et al., 2011).

El número estimado de pacientes en 2030 será alrededor de 438 millones acorde con la tasa actual de crecimiento poblacional, con 80% de los nuevos casos atribuidos a países en vías de desarrollo. La OMS proyecta a la diabetes mellitus como la séptima causa más importante de muerte en 2030 (WHO, 2011).

En México las encuestas nacionales de salud han demostrado que la prevalencia de personas con diagnóstico previo de diabetes mellitus se ha incrementado en los últimos años pasando de 5.8% en el 2000 a 7.35% en 2006 y 9.17% en 2012 (DGE, 2012). En este último, el número de personas con diagnóstico conocido de diabetes mellitus fue de 6.4 millones, si bien este número podría ser mayor por las personas que no conocían su condición (IDF, 2013).

Los estudios de la asociación TB-DM se centran generalmente en la enfermedad tuberculosa activa. Así investigaciones en diversas partes del mundo, han demostrado que un porcentaje elevado de los pacientes con tuberculosis presentan de forma concomitante diabetes, con prevalencias que van desde el 1.9% hasta un 35% y evidencia viable de que actúa como factor de riesgo para el desarrollo de tuberculosis (WHO, 2014).

La situación actual de la asociación TB-DM en algunas entidades federativas del país indica que el 75% de los casos identificados se concentran principalmente en 13 entidades, 5 de los cuales sobrepasaron la tasa nacional, estos son Guerrero (10.9), Tamaulipas (10.4), Veracruz (7.8), Tabasco (7.7) y Colima (7); y de los cuales la mayor prevalencia se ha presentado en Veracruz 14.3%, Guerrero 8.6%, Tamaulipas 8.6%, Nuevo León 7.2% y Chiapas 5.5% (DGE, 2012).

La información epidemiológica nacional en 2010 indicó que 81% de los pacientes con tuberculosis y diabetes fueron curados, y un adicional de 6.1% completaron el tratamiento. Sin embargo, se estima que 3.1% de los casos son reportados como incumplimiento del tratamiento y 6.1% se reportan como muertes. Además, 0.8% se presentan como referencias, y 1.4% como fracaso del tratamiento. Por lo que es importante hacer énfasis en los casos que fracasaron y abandonaron el

tratamiento, debido a que se trata de población con alta probabilidad de desarrollar resistencia al tratamiento antituberculoso (DGE, 2012).

En México la asociación TB-DM se estudió a través de evaluaciones prospectivas basada en poblaciones con tuberculosis en comunidades del sur, donde se encontró que la tasa de tuberculosis se multiplicó por siete entre las personas con diabetes mellitus, debido a la reactivación y las infecciones de transmisión reciente. Se describió que el aumento de la probabilidad de la tuberculosis debido a la diabetes era comparable a lo que se había encontrado en otros estudios atribuibles a la coinfección con el VIH. Sin embargo debido a que las tasas de prevalencia de diabetes (25%) eran mucho mayores que las tasas de prevalencia de VIH (2%) en esta comunidad, se describió que el impacto real de la diabetes sobre la incidencia de la tuberculosis era mucho mayor que la del VIH (Ponce de León et al., 2004). Algunos autores han referido que, si bien el VIH es con mucho, el factor de riesgo más fuerte para la tuberculosis a nivel individual, la diabetes podría ser más importantes a nivel de poblacional (Ruslami, 2010).

2.3- Métodos de estudio epidemiológicos en tuberculosis

La caracterización de *M. tuberculosis* ha constituido un gran reto para la micobacteriología y en este sentido, ésta se ha encaminado hacia el desarrollo de técnicas que permitan diferenciar las cepas de esta especie aisladas de pacientes involucrados o no en epidemias (van Embden et al., 1993; van Soolingen, 2001).

Durante muchos años esto fue llevado a cabo utilizando diferentes métodos microbiológicos que permitían evaluar las características fenotípicas, siendo los más empleados: (i) determinación de resistencia inusual a drogas (Reves et al., 1981), (ii) serotipaje (Grange y Laszlo, 1990), (iii) electroforesis de enzimas multilocus (Small y van Embden, 1994), (iv) heterogeneidad bioquímica (Hoffner et al., 1993) y (v) la fagotipificación (Jones, 1988). Esta última fue la técnica estándar hasta finales de los años ochenta. Tiene como principales impedimentos el bajo número de fagotipos identificados y la gran laboriosidad (Gicquel, 1993; Snider et al., 1994).

La primera técnica molecular basada en ADN empleada en la caracterización de *M. tuberculosis* fue el análisis de restricción. Esta técnica se basaba en la comparación de los fragmentos de restricción del cromosoma bacteriano separados por electroforesis. Fue aplicada por Collins y de Lisle para diferenciar cepas salvajes y de referencia de *M. tuberculosis* y *M. bovis* BCG (Collins y de Lisle, 1984). Al año siguiente fue utilizada por estos mismos autores para comparar todos los miembros del complejo *M. tuberculosis* (Collins y de Lisle, 1985).

A pesar de ser una técnica simple, la interpretación de los resultados se convertía en una tarea difícil por el gran número de fragmentos generados por las enzimas de restricción empleadas (de mediana frecuencia de corte) en la tipificación de *M. tuberculosis*, además del escaso número de patrones que se podían llegar a diferenciar con estas (Collins y de Lisle, 1985).

Por estas razones se desarrolló la técnica denominada electroforesis en campo pulsado, basada en los polimorfismos de mayor peso molecular relativo generados por endonucleasas con baja frecuencia de corte y separados bajo condiciones especiales de electroforesis por el empleo de un sistema de campos pulsados (Varnerot et al., 1992; Zhang et al., 1992). Esta técnica mejoró sustancialmente la interpretación de los resultados, pero su principal limitación estaba dada en los escasos patrones de polimorfismo que generaba entre las cepas en estudio, además del alto costo de los equipos necesarios (Ross et al., 1992).

El estudio de secuencias de ADN del cromosoma de *M. tuberculosis* ha aportado información genética valiosa, encontrándose dentro de ellas elementos repetitivos específicos del complejo *M. tuberculosis* que han ayudado a su caracterización (van Soolingen, 2001).

El genoma de *M. tuberculosis* (cepa H37Rv) está compuesto de 4 411 529 pares de bases (pb), con un contenido G+C de 65.6% relativamente constante a lo largo del mismo (Cole et al., 1998). En este genoma existen dos tipos de unidades repetidas: (i) unidad intercalada repetida (IR, siglas en inglés), las que pueden

disponerse como repetidas directas y/o repetidas como secuencias de inserción y (ii) unidad repetida en tándem (TR, siglas en inglés), dispuestas en orden ininterrumpido tipo cabeza-cuello (una detrás de otra) (Kreiswirth et al., 2006).

El elemento IS6110 fue aislado inicialmente del cromosoma de *M. tuberculosis* por Thierry y colaboradores (Thierry et al., 1990) y posteriormente se encontró distribuido en todo el complejo *M. tuberculosis* (Hermans et al., 1990). Dependiendo de la especie donde se caracterice se llamará IS6110, IS986 ó IS987; diferenciándose sólo en unos pocos pares de bases (Hermans et al., 1990; Thierry et al., 1990) pudiendo ser considerados en la práctica como idénticos (Hayward, 1995).

IS6110 es un segmento de aproximadamente 1355 pares de bases (Hayward, 1995), su número de copias y la posición en el cromosoma son altamente variables entre una cepa y otra, pudiendo llegar a 20 o más en el caso de *M. tuberculosis* (van Soolingen et al., 2007) aunque se han identificado cepas con una o ninguna copia (Fang y Forbes, 1997). Producto de la amplia distribución de esta secuencia en el genoma de *M. tuberculosis* y su frecuencia de transposición relativamente baja (van Soolingen et al., 2007), es posible obtener patrones simples y estables para la comparación entre cepas empleándola en la técnica de análisis de polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP, siglas en inglés), por lo que dicho elemento es usado con preferencia en estudios epidemiológicos sobre todo en brotes (van Soolingen et al., 2007). Se debe señalar que este elemento es insuficiente para distinguir entre sí cepas de *M. tuberculosis* con pocas (cinco copias o menos) o ninguna copia. Esto ha llevado a la utilización de otros marcadores genéticos alternativos como son: DR, PGRS, entre otros (van Soolingen et al., 2007).

2.3.1- Métodos basados en biología molecular

La premisa básica de los estudios de tipificación molecular ha sido que los aislamientos agrupados con el mismo genotipo representan transmisión reciente, mientras que los aislamientos con genotipo único representan la reactivación de

infección remota (Crawford, 2003). Esta visión es consistente con la observación que cepas aisladas de brotes muestran invariablemente patrones indistinguibles (v.gr.: RFLP-IS6110) y en estudios de poblaciones el nivel de agrupamiento ha estado frecuentemente asociado con factores de riesgo bien descritos para la transmisión de tuberculosis (Small et al., 1994; Kik et al., 2008).

La identificación de aislamientos con el mismo genotipo representa un reto en el estudio de brotes. En todos los sistemas de genotipificación es mucho más fácil y fidedigno demostrar las diferencias, ya que la definición de genotipos emparentados es arbitraria (Crawford, 2003). Una variedad de marcadores son utilizados para el estudio de *M. tuberculosis*. Es muy frecuente que cepas con patrón idéntico usando un marcador determinado pueden ser diferenciadas por medio de un segundo o tercer marcador. La exactitud de un emparejamiento entre cepas dependerá de la especificidad del método o combinación de métodos empleado y la reproducibilidad (Crawford, 2003).

El poder discriminatorio de un marcador molecular depende estrechamente de su estabilidad biológica. Muchos estudios han reportado cambios menores en los patrones moleculares en cepas de *M. tuberculosis* aisladas tanto en casos con relación epidemiológica como en un mismo paciente en diferentes puntos del tiempo. La estabilidad de los patrones moleculares en el tiempo refleja la velocidad de evolución (referido como reloj molecular) de cada marcador genético (Crawford, 2003; Jagielski et al., 2014).

En general, el mejor marcador molecular es aquel que posea un reloj molecular capaz de distinguir casos no relacionados y capture casos vinculados epidemiológicamente. Así, los marcadores moleculares muy rápidos o lentos pueden sub o sobreestimar el nivel de transmisión reciente de la enfermedad, respectivamente (Crawford, 2003; Jagielski et al., 2014).

La selección de un método de genotipificación, en relación a su poder discriminatorio, dependerá en el tipo de investigación en cuestión. Así, un método altamente discriminatorio (reloj molecular rápido) se requeriría para determinar si

una infección es una reactivación de una infección adquirida en el pasado o una reinfección con una nueva cepa. Un método con bajo poder discriminatorio (reloj molecular lento) sería útil en la trazabilidad de cepas a nivel global y estudios evolutivos (Jagielski et al., 2014).

En resumen, la tipificación de cepas del complejo *M. tuberculosis* ha sido usualmente llevado a cabo para uno de los 3 propósitos principales: (i) epidemiología molecular “clásica”, (ii) estudios filogenéticos y evolutivos y (iii) clasificación de cepas. Así, las técnicas de genotipificación existentes no son igualmente adecuadas para todos estos fines (Gagneux, 2013).

2.3.2- Análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción basado en el elemento de inserción IS6110 (RFLP-IS6110)

Este método ha sido ampliamente empleado en la caracterización de *M. tuberculosis* y ha sido considerado por mucho tiempo la tecnología de referencia para estudios epidemiológicos en tuberculosis (van Soolingen et al., 2007).

La técnica de RFLP-IS6110 fue desarrollada por iniciativa de Dick van Soolingen, quién ensayó una secuencia de ADN repetitiva como sonda en el análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción de cepas de *M. tuberculosis* aisladas durante un brote en el sur de Holanda. Para gran sorpresa de él y su grupo encontraron (por primera vez) patrones de RFLP idénticos en cepas de pacientes diferentes (Sêbek, 2000). Este hallazgo le dio una nueva dimensión a la epidemiología de la tuberculosis, siendo posible reconocer cepas de *M. tuberculosis* diferentes y seguir su transmisión en la población a diferentes niveles, desde brotes institucionales a estudios globales de epidemiología (Hermans et al., 1990; Kiers et al., 1997; van Soolingen, 2001).

En un estudio realizado en 1999 en el que tipificaron cepas de 544 pacientes con cultivo positivo persistente de tuberculosis, se estimó que la vida media de los cambios en el patrón de bandas RFLP fue al menos 3,2 años (IC 95 % , 2,1-5,0) (de Boer et al., 1999). Por su parte, Warren y cols. investigaron la estabilidad de las bandas en el patrón RFLP-IS6110 en aislamientos seriados de *M. tuberculosis*

en pacientes residentes en áreas de alta incidencia de tuberculosis, y encontraron una vida media de 8.74 años bajo una tasa constante de cambio. Determinaron un rango de tasa de cambio que podría ser elevada durante la fase temprana de la enfermedad ($t_{1/2}=0.57$ años), cuando la actividad replicativa micobacteriana es presumiblemente alta, o una tasa baja durante la fase tardía ($t_{1/2}=10.69$ años), cuando la duplicación bacteriana es más larga o en la finalización del tratamiento. Por lo tanto, los autores concluyeron que la estabilidad de IS6110 observada está fuertemente influenciada por el tiempo que transcurre entre el inicio de la enfermedad y la colección de la muestra del paciente (Warren et al., 2002).

Los Países Bajos han desarrollado una plataforma de vigilancia de tuberculosis basada en metodología de epidemiología molecular (p.ej: RFLP-IS6110) de todos los aislamientos de *M. tuberculosis* desde 1993. Esta estrategia les ha permitido estimar la transmisión en grupos específicos de riesgo en la población (p.ej.: migrantes; pacientes con VIH/SIDA, hogares de ancianos, etc), enfocar las intervenciones y evaluar su efectividad en la transmisión de la tuberculosis (Lambregts-van Weezenbeek et al., 2003).

Kik y cols, en un estudio de análisis de brotes de tuberculosis ocurridos en Holanda durante el período de 1993-2004, por medio de la metodología RFLP-IS6110/PGRS, determinaron 5 454 casos de pacientes agrupados que compartían iguales perfiles genéticos, de los cuales 1 756 (32%) formaban parte de grupos (pequeños con 2 a 4 pacientes y grandes con 5 o más pacientes) con episodios de tuberculosis dentro de un período de 2 años. Los autores encontraron que los predictores independientes para los grupos grandes eran: tiempo menor de 3 meses entre el diagnóstico de los 2 primeros casos del grupo, uno o ambos de los pacientes fueran jóvenes (menor a 35 años), ambos pacientes vivieran en zona urbana y fueran migrantes procedentes de África sub-sahariana. Así, llegan a la conclusión de que los episodios de tuberculosis donde se involucran grandes grupos de pacientes formando parte de agrupamientos genéticos pueden ser previstos por las características de los pacientes involucrados. El reconocimiento

de tales características pueden ser usadas como alarma temprana para la detección y prevención de grandes brotes de tuberculosis (Kik et al., 2008).

El análisis de los datos obtenidos del estudio de contactos de tuberculosis y la vigilancia en la epidemiología molecular de todos los aislamientos en Holanda durante 7 años (1993-2000), mostró que en 2206 casos de pacientes agrupados por el perfil molecular de sus aislamientos, se logró elevar el número de enlaces epidemiológicos entre pacientes de 462 a 1002 posterior a la implementación de la combinación de dichos datos moleculares y los epidemiológicos (Lambregts-van Weezenbeek et al., 2003).

García y cols apoyados en RFLP-IS6110 y PGRS-RFLP en combinación con investigación epidemiológica, detectaron transmisión reciente de una cepa de *M. tuberculosis* pan-susceptible con progresión rápida a enfermedad en una red social relacionada con bares clandestinos (locales pequeños, oscuros, poco ventilados y con hacinamiento) (García et al., 2000). Los autores destacaron la importancia del empleo de estos métodos a la investigación operacional en salud, pero también consideraron con capacidad al sistema de vigilancia para identificar tales sitios de transmisión.

2.4- Sistemas de información geográficos

La información geográfica es un conocimiento adquirido a través del procesamiento de datos geográficamente referenciados. Un sistema de información geográfica (SIG) es un sistema informático para capturar, almacenar, revisar, integrar, manipular, analizar y mostrar datos relacionados con posiciones en la superficie de la Tierra. Por lo tanto, es una forma de vincular las bases de datos con mapas, para mostrar información, realizar análisis espaciales o desarrollar y aplicar modelos espaciales (WHO, 2016).

En un principio eran denominados como sistemas de información geográfica, pero actualmente por su alcance han sido definidos en un concepto más global como servicios de información geográficos. Estos SIG son (1) la funcionalidad proporcionada por una entidad de programa informático a través de sus interfases

definidas como conjuntos de operaciones y, (2) la provisión de información generalizada de datos geoespaciales. El desarrollo de los SIG está estrechamente relacionado con objetos distribuidos de tecnología e internet (Shekhar y Xiong, 2008).

Los SIG pueden aplicarse en epidemiología para diferentes aspectos: (i) determinación de la situación de salud en un área determinada, (ii) generación y análisis de hipótesis de investigación, (iii) identificación de grupos de alto riesgo a la salud, (iv) planificación y programación de actividades y (v) monitoreo y evaluación de intervenciones. Además, los SIG pueden utilizarse para determinar patrones o diferencias de situación de salud ante perspectivas de agregación particulares, que van desde el nivel continental, pasando por el regional, nacional, departamental o distrital, hasta un nivel local (OPS/AIS, 2002).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y Organización Panamericana de la Salud (OPS) han promovido desde sus inicios el uso de estas herramientas para un mejor apoyo en el análisis espacial de problemáticas en salud. Existen programas informáticos de escritorio de distribución gratuita como: HealthMapper de la OMS, SIGEpi de la OPS, EpiMap (en base a Epi Info) del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, EUA), o el SatScan del Instituto Nacional de Cáncer (NCI, EUA). También existen programas informáticos comerciales, v.gr: ArcGis (Environmental Systems Research Institute (Esri), California, EUA), ClusterSeer, BoundarySeer y SpaceStat (BioMedware, Michigan, EUA) (OPS/AIS, 2002).

Estos programas, en su mayoría, complementan paquetes estadísticos con énfasis en metodologías orientadas a la epidemiología. Con ello se busca sacar mejor provecho al análisis de la información epidemiológica, tratando de contribuir desde ese enfoque a la toma de decisiones (OPS/AIS, 2002).

2.4.1- Modelos de espacio-tiempo

Los modelos espacio-temporales constituyen un enfoque utilizado cuando los datos se recogen en el espacio y el tiempo. Estos enfoques no detectan la causa

de la enfermedad, sino más bien dan una idea de las áreas con alta incidencia que pueden investigarse más a fondo para la relación causal. Además, el método puede identificar el origen de la aparición de enfermedades con respecto a demografía, tiempo y espacio. Los métodos espacio-temporales son útiles en el seguimiento del estado de la enfermedad en una comunidad, ya que pueden proporcionar información sobre el cambio de patrón de la enfermedad a través del tiempo.

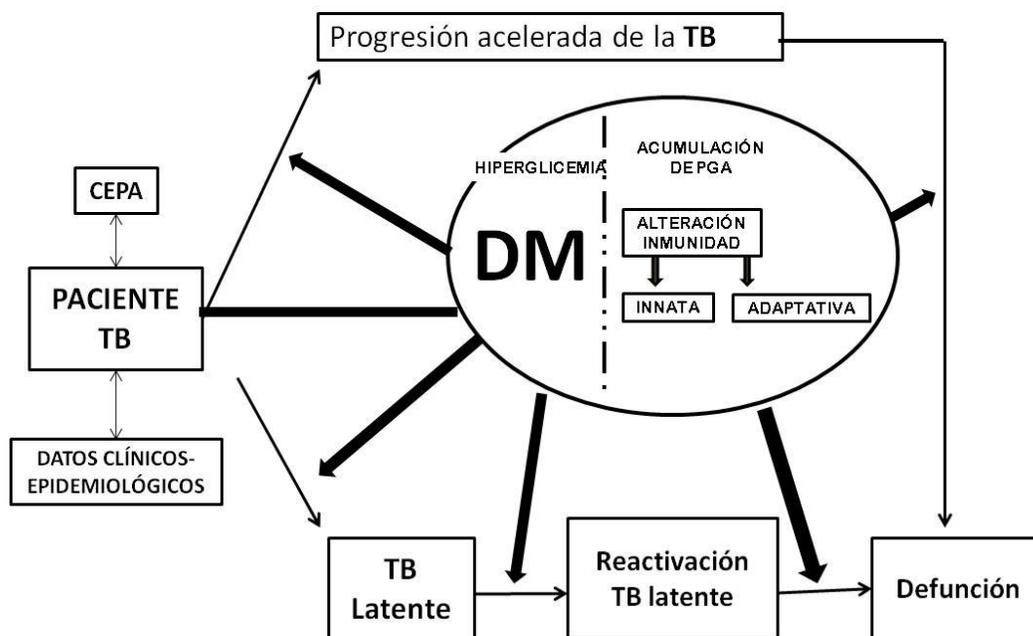
Tiwari y cols investigaron los puntos críticos geoespaciales para la ocurrencia de tuberculosis en el distrito de Almond, La India, usando SIG y exploración espacial estadística, e identificaron áreas con alta incidencia de tuberculosis; por lo que, consideraron a esta metodología potencialmente útil en la detección de verdaderos grupos de pacientes con tuberculosis (Tiwari et al., 2006).

En Portugal, Nunes identificó agrupamientos de tuberculosis utilizando técnicas espacio-temporales en áreas con altas tasas de incidencia, específicamente por medio de exploración espacial estadística (Nunes, 2007). Onozuka y Hagihara predijeron los agrupamientos de tuberculosis en el área de Fukuoka, Japón, entre los casos ocurridos entre 1999 y 2004 utilizando la exploración estadística de espacio-tiempo y reportaron agrupamientos de tuberculosis con un nivel de significación estadística de $p < 0,05$ (método Monte Carlo) (Onozuka y Hagihara, 2007). En Gambia, el 80% de los casos de tuberculosis se encuentra en la parte occidental del país conocida como Greater Banjul, debido a esta elevada incidencia, Touray y cols decidieron llevar a cabo un estudio con el fin de revelar los puntos críticos en esta área en particular. Utilizaron datos agregados para realizar exploración espacial estadística que revelaron importantes agrupaciones de casos de tuberculosis (Touray et al., 2010).

2.5- Marco conceptual

Diversos aspectos de la inmunidad se encuentran alterados en los pacientes con diabetes mellitus. La inmunidad celular innata parece ser la más afectada. La función de los leucocitos polimorfonucleares está disminuida; además la adherencia, la quimiotaxis, la fagocitosis y la destrucción intracelular están disminuidas. La inmunidad celular adaptativa también se ve afectada, con una disminución de la respuesta proliferativa linfocítica a estímulos y a algunos patógenos. Estas alteraciones determinan que algunas infecciones tiendan a ser más comunes o graves en los pacientes con diabetes. Numerosos estudios han reportado la alta prevalencia de la tuberculosis en la comparación entre pacientes con diabetes y pacientes sin diabetes. Teniendo en cuenta el alto porcentaje estimado a nivel global (46%) de casos no diagnosticados con diabetes mellitus y el bajo apego al tratamiento de aquellos pacientes con diabetes (20% a 30%), es más probable la condición de descontrol metabólico que influye directamente en la aparición de diversas complicaciones en estos pacientes. Las alteraciones inmunes presente en los pacientes con diabetes, sobre todo en los mal controlados, predisponen a una susceptibilidad mayor y a una forma más grave de la tuberculosis. De esta forma, se ha reportado que la presencia de diabetes mellitus repercute en la tuberculosis tanto en la progresión acelerada de la enfermedad como en la tuberculosis secundaria o de reactivación y el mal pronóstico (figura 2.2). Esto conlleva a pensar que los pacientes con TB-DM podrían participar en mayor medida en la transmisión reciente de TB, que aquellos sin diabetes.

Figura 2.2- Influencia de la diabetes mellitus en la historia natural de la tuberculosis pulmonar.



2.6- Planteamiento del problema

La diabetes mellitus está asociada al incremento del riesgo de tuberculosis activa en estudios de caso-control y de cohorte realizados en diferentes regiones del mundo. Sin embargo, no existe evidencia para sugerir que la diabetes aumenta la susceptibilidad a la infección asintomática por *M. tuberculosis*. No está bien establecido que el riesgo de tuberculosis se incrementa con un inadecuado control glucémico, aunque esta asociación es plausible y algunas evidencias indirectas soportan esta hipótesis (WHO, 2011).

En México las tasas de prevalencia e incidencia de tuberculosis han disminuido en las últimas décadas; sin embargo la tasa de mortalidad de la enfermedad continúa siendo un problema importante especialmente para los grupos considerados de riesgo en la población (p.ej.: indígenas, migrantes, jornaleros, pacientes con diabetes, y otros), además de la población vulnerable que habita generalmente en áreas marginadas de zonas tanto rurales como urbanas.

Los cambios en el estilo de vida y dieta han contribuido a un incremento en la prevalencia de diabetes en muchos países de bajos y medianos recursos (WHO, 2011). En México, acorde con los datos ofrecidos por la Dirección General de Epidemiología, durante el año 2012 los casos de diabetes mellitus tipo 2 atendidos en unidades hospitalarias se incrementaron en 12.7% (2.195 casos) con respecto al registro de casos reportados en 2011. Además, la principal causa de ingreso hospitalario mostró que 11.7% de los casos se diagnosticaron con necrobiosis (dermatitis de tipo crónico que se presenta en 2 terceras partes de los pacientes con diabetes), lo cual refleja el descontrol glucémico en estos pacientes (DGE, 2012). Esto les constituiría un grave riesgo de padecer diversas complicaciones, entre las que destaca la tuberculosis pulmonar con un 27% del total de casos en 2012 (DGE, 2012).

Contrario a lo que podría pensarse, no se encuentra en la literatura científica muy debatido el tema sobre la utilización de las metodologías moleculares estándar para determinar la frecuencia de transmisión reciente y reactivación de la enfermedad latente de tuberculosis en pacientes con diabetes mellitus. Históricamente, los principales estudios publicados en este tema han estado relacionados con pacientes de tuberculosis e infectados con VIH. Esta tendencia se ha debido principalmente al impacto epidemiológico de la asociación VIH/*M. tuberculosis* en la mayoría de los países.

En este sentido, y como parte de la caracterización de la ocurrencia de tuberculosis y diabetes en poblaciones de alto riesgo, se genera las siguientes preguntas: ¿existe evidencia científica que sustente la hipótesis de que los pacientes con TB-DM participen mayoritariamente en los agrupamientos moleculares que aquellos con solo tuberculosis?, ¿es posible identificar sitios específicos en el área geográfica de la cohorte de Orizaba (1995-2010) con relevancia en el agrupamiento de pacientes con TB-DM?

2.7- Justificación

Diversos estudios han sugerido la asociación de la diabetes mellitus con el incremento en el riesgo (Ponce de León et al., 2004; Jeon y Murray, 2008; Ruslami, 2010; Jiménez-Corona et al., 2013) y la gravedad de la enfermedad de tuberculosis (Singla et al., 2006; Van Crevel et al., 2007; Jean-Tyang et al., 2011; Baker et al., 2011; Jiménez-Corona et al., 2013), lo cual podría conllevar a un inevitable impacto en la salud pública global con fuertes implicaciones en el control de la enfermedad.

2.8- Objetivos

General

Determinar si la diabetes mellitus influye en la transmisión de la tuberculosis pulmonar en análisis del nivel de agrupamiento genotípico en el contexto global y geoespacial en una cohorte de pacientes de Orizaba, Veracruz.

Específicos

- 1) Investigar si la diabetes mellitus constituye un factor para el agrupamiento molecular de casos de tuberculosis pulmonar en poblaciones (Estudio 1).
- 2) Determinar el modo como participan los pacientes con diabetes mellitus en los puntos críticos de agregación espacial de casos de tuberculosis pulmonar en análisis retrospectivo de la cohorte de pacientes 1995-2010 de Orizaba, Veracruz (Estudio 2).

2.9- Descripción de la tesis

El contenido de esta tesis corresponde a dos trabajos de investigación (Tabla 2.1), además de la Introducción (sección 1), Marco teórico (sección 2) y Discusión y conclusiones generales (perspectivas futuras) (sección 5), los cuales son producidos específicamente para esta tesis. Las secciones 3 y 4 se componen de un trabajo de investigación cada uno (estudio 1 y 2). En la sección 6 aparecen

todas las referencias bibliográficas, las cuales están organizadas acorde a la sección que corresponden.

Tabla 2.1.- Publicaciones científicas incluidas en esta tesis en orden cronológico.

Publicación-número (sección)	Autores	Título	Revista (Estado)
I (sección 3)	Francles Blanco-Guillot; Guadalupe Delgado-Sánchez; Norma Mongua-Rodríguez; Pablo Cruz-Hervert; Leticia Ferreyra-Reyes; Elizabeth Ferreira-Guerrero; Mercedes Yanes-Lane; Rogelio Montero-Campos; Miriam Bobadilla-del-Valle; Pedro Torres; Alfredo Ponce-de-León; Jose Sifuentes-Osornio; Lourdes Garcia-Garcia.	Agrupamiento molecular de pacientes con tuberculosis pulmonar y diabetes mellitus: una revisión sistemática y meta-análisis.	Plos one Aceptación condicionada a cambios menores)
II (sección 4)	(Francles Blanco-Guillot); Luis Pablo Cruz-Hervert; Mlucia Castañeda-Cediel; Lourdes García-García; Mercedes Yanes-Lane; Guadalupe Delgado-Sánchez; Leticia Ferreyra-Reyes; Miriam Bobadilla-del-Valle; Sergio Canizales-Quintero; Elizabeth Ferreira-Guerrero; Norma Téllez-Vázquez; Renata Báez-Saldaña; Rogelio Montero-Campos; Norma Mongua-Rodriguez; Rosa Areli Martínez-Gamboa; José Sifuentes-Osornio; Alfredo Ponce-de-León.	Análisis genotípico y espacial de casos de tuberculosis pulmonar y diabetes en el estado de Veracruz, México.	Plos one (enviado)

3- Agrupamiento molecular de pacientes con tuberculosis pulmonar y diabetes mellitus: una revisión sistemática y meta-análisis (estudio I).

3.1- Introducción

La tuberculosis (TB) persiste como un problema importante de salud pública con 9.6 millones de casos nuevos estimados y 1.5 millones de muertes por TB en el mundo (WHO, 2015). Asimismo, se estima que un tercio de la población mundial está infectada con TB latente, donde los individuos están en riesgo de desarrollar la enfermedad activa, particularmente los que tienen un sistema inmunitario dañado o en peligro (Martínez y Kornfeld, 2014).

El efecto adverso de la diabetes mellitus (DM) en la defensa del hospedero contra la TB ha sido reconocido por más de un siglo. Sin embargo, sólo ha sido investigado tal efecto en nuestros días, cuando las tasas de DM se han incrementado de manera dramática a partir de la década de 1980 en los países de bajo y mediano ingresos; en los que además la TB es prevalente (Martínez y Kornfeld, 2014).

Actualmente, se estima que 415 millones de personas viven con DM, un número que se espera se eleve por lo menos a 642 millones hacia el año 2040 (IDF, 2015).

La DM (más prevalente de tipo 2) se asocia con un mal pronóstico en muchas infecciones bacterianas, incluyendo TB. Diversos estudios han sugerido la asociación de DM con el incremento en el riesgo (Ponce de León et al., 2004; Jeon et al., 2008; Ruslami, 2010; Jiménez-Corona et al., 2013; Restrepo y Schlesinger, 2014) y la gravedad de la enfermedad de TB (Jiménez-Corona et al., 2013; Restrepo y Schlesinger, 2014; Singla et al., 2006; van Crevel et al., 2007; Jenn-Tyang et al., 2011; Baker et al., 2011), así como, una mayor frecuencia en pacientes con DM de TB pulmonar frente a la extra-pulmonar (Restrepo y Schlesinger, 2014) y mayor extensión en el tiempo de negativización de baciloscopías y cultivos en el curso de tratamiento (Jiménez-Corona et al., 2013; Restrepo y Schlesinger, 2014; Baker et al., 2011; Shariff y Safian, 2015). Todo

esto podría predecir que pacientes con TB y DM son más contagiosos que los pacientes TB sin DM (Restrepo y Schlesinger, 2014).

Mycobacterium tuberculosis (*M. tuberculosis*) se transmite principalmente desde un paciente con TB pulmonar contagiosa a otras personas por medio de las gotitas respiratorias que la tos, el estornudo o la fonación convierten en aerosol (Harrison et al., 2005). Por más de 30 años, la genotipificación de *M. tuberculosis* ha facilitado la caracterización de cepas (Small y van Embden, 1994; Brudey et al., 2006; Rastogi et al., 2012) y la comprensión de la dinámica de transmisión de la TB en distintos espacios y poblaciones definidas, en conjunción con los métodos de epidemiología convencional (Gurjav et al., 2016; Hoza et al., 2016; van Soolingen et al., 1999; Vynnycky et al., 2001). Los pacientes que comparten una cepa idéntica de *M. tuberculosis* se consideran ser parte de un “conglomerado o grupo” que refleja la transmisión reciente y rápida progresión de la enfermedad de infección exógena reciente. Los patrones genéticos únicos se suponen debidos a la reactivación de infecciones remotas o transmisión reciente de pacientes fuera del período o área de estudio (van Soolingen et al., 1999; Vynnycky et al., 2001).

La mayoría de los estudios publicados han identificado a los grupos de alto riesgo para la transmisión reciente de TB midiendo los factores asociados con el agrupamiento molecular por medio de la comparación de las características de los casos con genotipos únicos y agrupados. En países de baja incidencia de TB han identificado diversos factores de riesgo individuales como son: sexo masculino, edad joven, ciertas nacionalidades, residentes de larga duración procedentes de países endémicos, residentes urbanos, frotis de esputo positivo, consumidores de alcohol o drogas, personas sin hogar, e infectados por VIH (van Soolingen et al., 1999, Small et al., 1994; Borgdorff et al., 2001; Íñigo et al., 2007; Heldal et al., 2003). Mientras que en países de ingresos medios-bajos han sido identificados la edad joven, el encarcelamiento previo y las visitas a entornos sociales (v.gr.: bares) (García et al., 2000). Algunos estudios realizados en países africanos con una alta incidencia de TB han informado una falta de asociación entre la infección por VIH y transmisión de *M. tuberculosis* (Middelkoop et al., 2015; Huang et al.,

2014). Sin embargo, existen escasos estudios epidemiológicos moleculares que describan la interacción TB y DM o siquiera contemplen a la DM entre los factores de riesgo para el agrupamiento de casos.

Un mejor conocimiento sobre la participación del paciente con DM en la transmisión de TB ayudaría a desarrollar estrategias de prevención eficaces dirigidas a esta población de alto riesgo. Por ello, se realizó una revisión sistemática y análisis cuantitativo (meta-análisis) de la literatura para evaluar si el agrupamiento molecular de cepas de pacientes con TB pulmonar en comunidad es incrementada por la comorbilidad con DM.

3.2- Material y métodos

Estrategia de búsqueda

Se realizó una búsqueda sistemática en las bases de datos electrónicas MEDLINE y Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS) de 1990 a mayo de 2016. Se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras claves: "tuberculosis AND transmisión" OR "tuberculosis AND diabetes mellitus" OR "Mycobacterium tuberculosis molecular epidemiology" OR "RFLP-IS6110" OR "Spoligotyping" OR "MIRU-VNTR". Dos revisores, de forma independiente, seleccionaron artículos potencialmente relevantes usando títulos y resúmenes de los 13002 artículos generados en la búsqueda. Se incluyeron las publicaciones en idioma inglés o español que reportaron datos originales de estudios observacionales en los que se evaluó a la diabetes mellitus, entre otros factores de riesgo, para el agrupamiento molecular de casos de tuberculosis. Otros criterios de inclusión fueron: (i) estudios basados en población en zonas definidas geográficamente, en lugar de estudios de investigación de brotes; (ii) uso de genotipificación por RFLP-IS6110, espoligotipos, MIRU-VNTR u otro método de amplificación para identificar agrupación molecular; (iii) genotipificación y análisis de 50 o más casos de tuberculosis pulmonar con duración del estudio de 11 meses o más; (iv) identificación cuantitativa de los factores de riesgo para la agrupación molecular; (v) cobertura de la población de estudio >60% del número

total de casos de tuberculosis pulmonar confirmados por cultivo, y (vi) pacientes con tuberculosis pulmonar confirmados bacteriológicamente. Los criterios de exclusión fueron: (i) tuberculosis causada por micobacterias distintas a *Mycobacterium tuberculosis* y tuberculosis extrapulmonar; (ii) pacientes con tuberculosis pulmonar y positivos a VIH; (iii) pacientes pediátricos con tuberculosis pulmonar; (iv) tuberculosis ocurrida en entornos cerrados (v.gr.: prisiones, asilos, etc.) y (v) diabetes insípida.

Extracción de datos

Los datos fueron obtenidos de forma independiente por dos revisores mediante el uso de un formulario de extracción de datos estandarizado. La información extraída incluyó: diseño del estudio, región, período, características de la muestra de estudio, método de genotipificación, definición de agrupamiento molecular, proporción de casos estudiados mediante métodos moleculares, enlace epidemiológico, método de análisis estadístico, factor de riesgo investigado, razón de momios (RM) e intervalos de confianza (IC) de 95%. En el caso del uso de métodos de genotipificación secundarios, fueron utilizados los resultados de la combinación de los métodos. Las diferencias en los datos extraídos entre los dos revisores fueron reconciliados después de una discusión.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se basó en un modelo de efectos aleatorios para estimar la RM (de Mantel-Haenszel) del factor diabetes mellitus asociado con el agrupamiento molecular de casos de tuberculosis. Se utilizó un modelo de efectos aleatorios para considerar la variabilidad intra- como inter-estudio.

Los casos de pacientes con tuberculosis pulmonar que se presentaron con el mismo genotipo se clasificaron como agrupados y los que presentan genotipos únicos como no agrupados. Para el cálculo de los efectos aleatorios, se incluyó la RM y su IC de 95% extraídos de cada documento.

Análisis de heterogeneidad de los estudios

Para evaluar el grado de heterogeneidad de los estudios, bajo la hipótesis nula de ninguna heterogeneidad, se utilizó la prueba estadística Q (DerSimonian y Laird, 1986) de Cochran con $p < 0.05$, que describe el porcentaje de variabilidad en las estimaciones del efecto debido a heterogeneidad más que a error del muestreo. Los valores de p se obtienen mediante la comparación de la estadística con una distribución χ^2 con $k-1$ grados de libertad (donde k es el número de estudios). La prueba determina si existen diferencias reales que subyacen a los resultados de los estudios (heterogeneidad) o si la variación en los resultados es compatible con el azar (homogeneidad). Adicionalmente se utilizó el método de Hartung-Knapp-Sidik-Jonkman (HKSJ) para comparar con los resultados obtenidos por el método de DerSimonian-Laird, el cual ha sido reportado como un método alternativo en metanálisis con bajo número de estudios (entre 5 y 20), heterogeneidad moderada ($> 50\%$) y tamaños de muestra variados (IntHout et al., 2014).

Análisis de sensibilidad

Para evaluar el impacto de la calidad metodológica de cada estudio y para identificar la influencia de cada estudio, se replicó el metanálisis 6 veces, cada vez eliminando uno de los estudios alternadamente y comparando el resultado con el alcanzado de manera global (Egger et al., 1997; Pigott, 2012).

Evaluación del sesgo de publicación

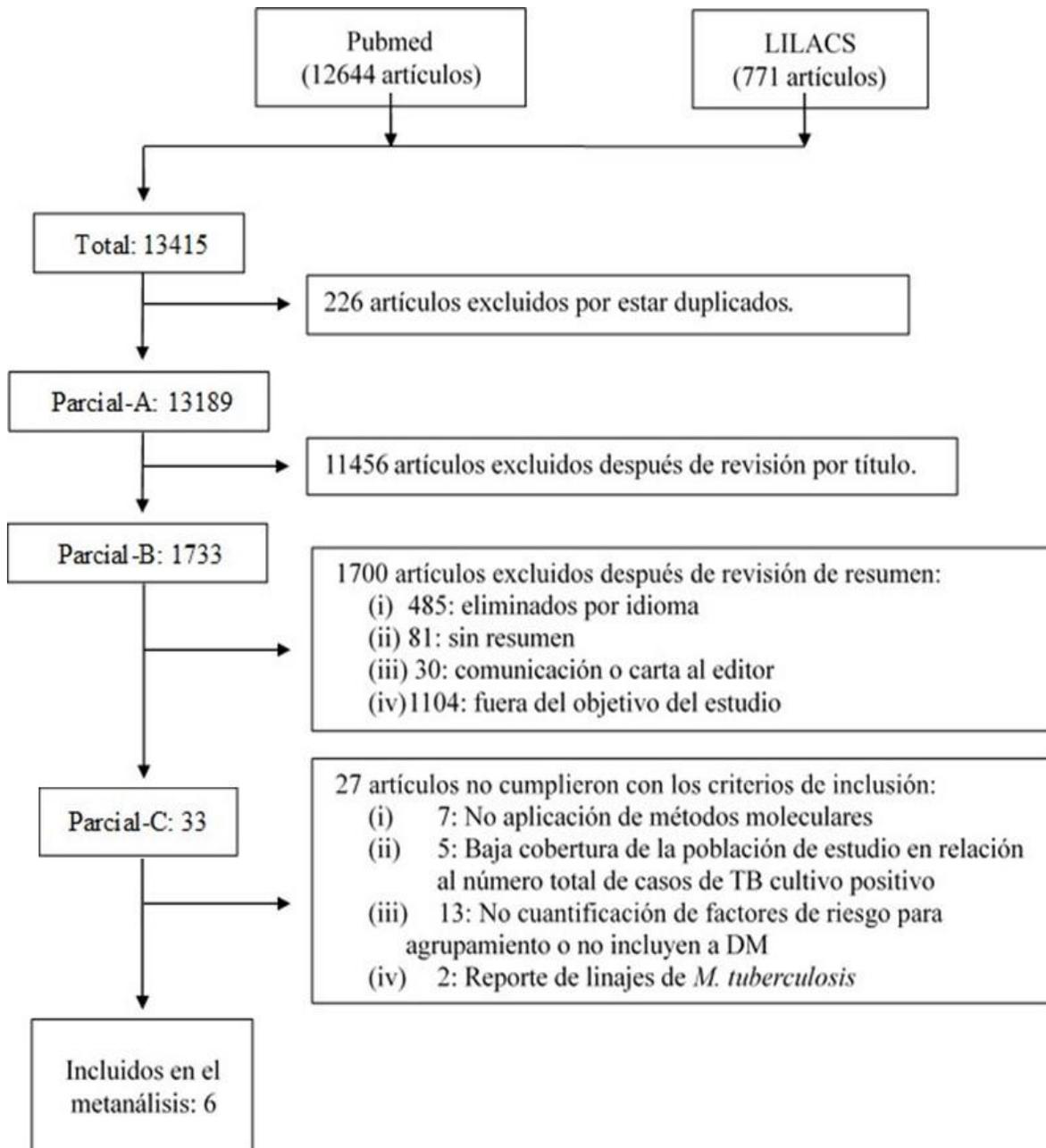
Debido a que la presencia de sesgo de publicación puede conducir a estimaciones sesgadas y conclusiones engañosas que afecta a la validez del metanálisis de estudios observacionales, se examinó el sesgo de publicación mediante las pruebas de Begg (Begg y Mazumdar, 1994) y Egger (Egger et al., 1997). Se comparó el tamaño de la muestra de cada estudio con el tamaño del efecto observado. Se consideró un valor de $p < 0.10$ como estadísticamente significativo (Pigott, 2012).

Se utilizaron los programas Review Manager 5.3.5 (Rev Man para Windows, 2015; The Cochrane La colaboración, Oxford, Reino Unido), Comprehensive Meta-Análisis 3 (CMA v.3, Biostat) (CMA, 2016) y programa R (<https://www.r-project.org>).

3.3- Resultados

La búsqueda electrónica produjo un total de 13415 artículos de los cuales 226 fueron excluidos por duplicidad dejando 13189 potencialmente relevantes. 13156 artículos fueron excluidos después de la revisión por título y resumen y otras razones: (i) idioma diferente al inglés o español, (ii) ausencia de resumen, (iii) carta al editor o comunicación, (iv) fuera del alcance de este estudio. Después de la lectura completa de los 33 artículos restantes, 27 fueron excluidos por las siguientes razones: (i) siete estudios (Alavi et al., 2014; Coker et al., 2006; Dobler et al., 2012; Pérez et al., 2006; Restrepo et al., 2011; Suwanpimolkul et al., 2014; Tian et al., 2014) no utilizaron métodos moleculares para la caracterización, (ii) cinco estudios (Chang et al., 2011; Jagielski et al., 2015; Kanamori et al., 2016; Murase et al., 2010; Stavrum et al., 2014) tenían una baja cobertura de la población estudiada con respecto al número total de pacientes con un cultivo positivo para TB, (iii) 13 estudios (Dawson et al., 2016; Devi et al., 2015; Diab et al., 2016; Chen et al., 2016; Geng et al., 2002; Hu et al., 2016; Kozinska et al., 2016; Kik et al., 2008; Li et al., 2016; Morcillo et al., 2007; Peñuelas-Urquides et al., 2014; Talarico et al., 2011; Pérez-Lago et al., 2016) no mostraron la cuantificación de los factores de riesgo para la agrupación o no incluyeron a DM y (iv) dos estudios (Nogueira et al., 2016; Outhred et al., 2016) informaron solamente los linajes genéticos de *M. tuberculosis*. Finalmente, seis artículos (Jiménez-Corona et al., 2013; Hernández-Garduño et al., 2002; Borrell et al., 2010; Wang et al., 2014; González et al., 2015; Yang et al., 2015) cumplieron con todos los criterios de inclusión para el análisis cuantitativo. La figura 3.1 proporciona el diagrama de flujo del proceso de selección sistemática de la literatura.

Figura 3.1. Flujograma de búsqueda electrónica



Las características generales de los artículos seleccionados están resumidas en la tabla 3.1. Estos incluyeron a seis estudios de cohorte. Dos estudios fueron realizados en China (Wang et al., 2014; Yang et al., 2015) y uno en España (Borrell et al, 2010), Canadá (Hernández-Garduño et al., 2002), México (Jiménez-Corona et al., 2013) y Cuba (González et al., 2015). Entre los seis estudios hubo 4076 casos de tuberculosis pulmonar, de los cuales 13% presentaron comorbilidad con DM. El porcentaje de agrupamiento global de los casos fue 27%, lo cual se encontró de manera similar entre los pacientes con DM (25%) y sin DM (28%). El mayor reporte de los casos (48%) correspondió a uno de los realizados en China (Yang et al., 2015), el cual además, mostró un agrupamiento de 31%. La más alta tasa de incidencia de TB (73/100 000 hab) correspondió a los estudios procedentes de China.

La información de antecedente de diabetes fue obtenida de diversas fuentes: formatos de colección de datos (Yang et al., 2015), programa de control de TB o centro de estadística (Hernández-Garduño et al., 2002; Borrell et al, 2010, González et al., 2015) e historial médico del paciente (Wang et al., 2014). Un solo estudio (Jiménez-Corona et al., 2013) reportó en su metodología el criterio diagnóstico para DM.

Los métodos de genotipificación utilizados en los estudios fueron RFLP-IS6110 y MIRU-VNTR, por lo que hubo diferencias tanto en la definición de los agrupamientos moleculares de los casos como en la identificación del caso índice.

Tabla 3.1.- Características generales de los estudios

Autor y año de publicación	Región de estudio	Período de estudio	Tipo de estudio	Tasa de incidencia (x100 000 hab)	Duración del estudio (meses)	# de sujetos	Cobertura de muestra (%)	Diagnóstico de DM basado en:	Método 1o de genotipificación	Método 2o de genotipificación	Aplicación de 2do método de genotipificación	Definición de cluster	Caso índice del cluster	sujetos en cluster (%)
Hernández-Garduño et al., 2002	Greater Vancouver, british Columbia, Canada	1995-1999	Cohorte	6.0**	50	793	100	Información clínica obtenida en Base de datos de la división para el control de TB.	RFLP-IS6110	Espoligotipaje	< 6 copias de IS6110	≥ 2 cepas con patrón DNA idéntico (≥ 6 copias por RFLP, ó < 6 copias por espoligotipaje.	1er sujeto diagnosticado	17.3
Borrell et al., 2010*	Barcelona, España	2003-2004	Cohorte	21.6	24	115	67.4	Información clínica obtenida en bases de datos del programa de control de TB de Barcelona y departamentos de microbiología de hospitales y centros de atención participantes.	RFLP-IS6110	MIRU-12 loci	< 6 copias de IS6110 ó ≥ 6 bandas con 1 diferente	≥ 2 pacientes con: (i) RFLP-IS6110 ≥ 6 bandas en la misma posición; (ii) RFLP-IS6110 < 6 bandas en la misma posición, pero con idéntico MIRU-12 loci; (iii) RFLP-IS6110 ≥ 6 bandas que difiere en 1 banda, pero con idéntico MIRU-12 loci	Sujeto con inicio de síntomas más temprano con localización pulmonar o aquel que inició tratamiento más temprano (asintomáticos)	32
Jiménez-Corona et al., 2013	Orizaba, Veracruz, México	1995-2010	Cohorte	21**	181	1013	80	(i) Reporte médico previo o medicación de hipoglicemiantes oral o administración de insulina, (ii) Determinación de glucosa (en suero): glucosa ≥ 126mg/dL en ayuno o glucosa ≥ 200mg/dL en muestra aleatoria.	RFLP-IS6110	Espoligotipaje	< 6 copias de IS6110	≥ 2 pacientes infectados dentro del período de un año separados uno del otro, infectados con la misma cepa.	No se indica	28.8
Wang et al., 2014	Beijing, China	2009-2011	Cohorte	73**	48	115	100	Datos clínicos obtenidos del historial médico del paciente.	MIRU-VNTR 24 loci (hasta 28)	No aplica	No aplica	≥ 2 cepas mostrando idéntico patrón MIRU-VNTR	No se indica	17.4
González et al., 2015	La Habana, Cuba	2009	Cohorte	8.2	12	59	61	Información clínica obtenida de la división nacional de estadística/ epidemiología del ministerio de salud pública de Cuba.	MIRU-VNTR 24 loci	No aplica	No aplica	cepas con idéntico patrón genético	No se indica	54.2
Yang et al., 2015	China	2009-2012	Cohorte	73**	36	1948	82	Información clínica obtenida por entrevistadores usando cuestionario estandarizado.	MIRU-VNTR 29 loci	No aplica	No aplica	cepas con idéntico patrón genético	Primer paciente del cluster	31

*se utilizaron los datos reportados para pacientes extranjeros; ** Las tasas fueron tomadas del Banco Mundial (World Bank, 2016).

En la referencia González et al., 2015 se utilizaron los datos de casos de tuberculosis pulmonar proporcionado por Raúl Díaz y Tullia Battaglioli.

El OR global (figura 3.2) del análisis cuantitativo de los pacientes con tuberculosis pulmonar y DM en el riesgo de agrupamiento molecular fue 0.83 (0.52-1.35, 95% IC) (por el método HKSJ, OR=0.84 (0.40-1.72)), lo cual significa que en el marco de esta revisión sistemática y metanálisis no se encontró asociación de la DM con el agrupamiento molecular de casos de tuberculosis pulmonar en comunidad. Se detectó una ligera diferencia entre los métodos de DerSimonian-Laird y HKSJ en el valor de OR e intervalo de confianza, sin repercusión alguna en la interpretación final de los resultados.

El análisis de sensibilidad mostró resultados similares tanto en dirección como en magnitud del efecto y significación estadística (figura 3.3), lo cual indica que el metanálisis es robusto. Existió una heterogeneidad moderada (Higgins y Green, 2011) entre los estudios ($I^2=55\%$, $p=0.05$) (figura #2). Sin embargo, no se encontró sesgo de publicación estadísticamente significativo ($p<0.1$) acorde a las pruebas Beggs ($p=0.353$) y Egger ($p=0.429$).

Figura 3.2 Riesgo de agrupamiento de casos con tuberculosis pulmonar y diabetes mellitus comparado con tuberculosis pulmonar (DerSimonian-Laird).

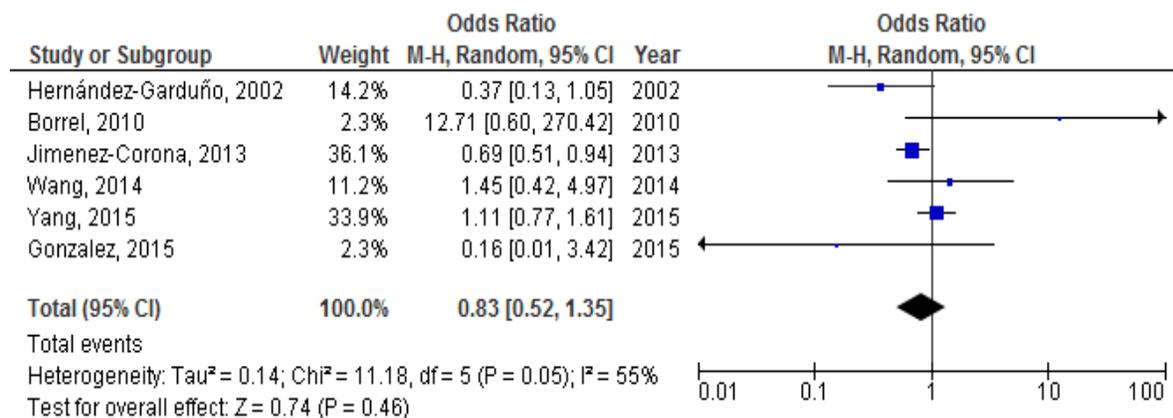
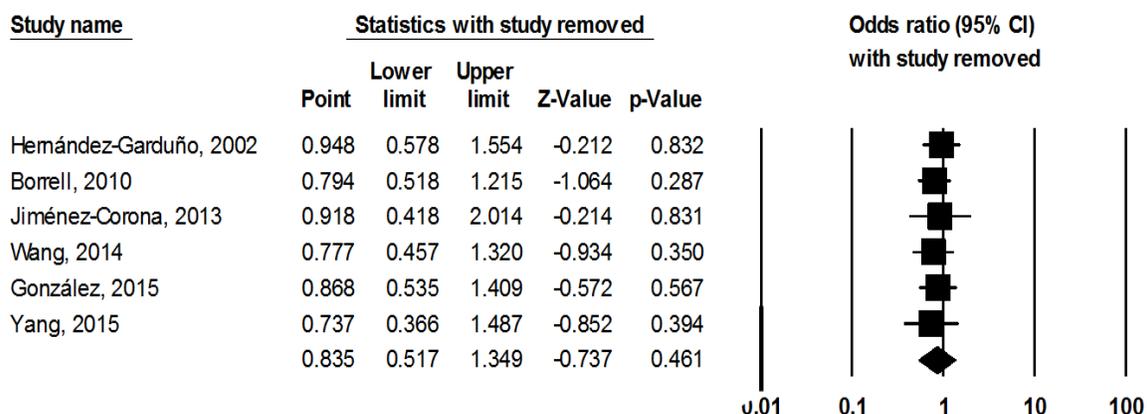


Figura 3.3 Sensibilidad del metanálisis (DerSimonian-Laird).



3.4- Discusión

Esta revisión sistemática y meta-análisis consistió finalmente en 6 estudios de cohorte publicados entre 2002 y 2015, que incluyeron a un total de 4076 pacientes con TB pulmonar, de los cuales 13% presentaron TB-DM. El análisis cuantitativo de estos estudios mostró la no asociación de la DM en el agrupamiento molecular de casos de TB pulmonar en comunidad.

En la literatura se reconoce que la DM aumenta el riesgo de enfermedad y la gravedad de la tuberculosis (Ponce de León et al., 2004; Jeon et al., 2008; Ruslami, 2010; Jiménez-Corona et al., 2013; Restrepo y Schlesinger, 2014, Singla et al., 2006; van Crevel et al., 2007; Jenn-Tyang et al., 2011; Baker et al., 2011), ejerciendo así un significativo impacto negativo en la salud pública, especialmente en los países donde ambas condiciones son frecuentes. Además, si se tiene en cuenta la estimación por OMS que 46% de las personas con diabetes no están diagnosticados y 84% de los diagnosticados proceden de países de bajos y medianos ingresos (IDF, 2013) (con tasas elevadas de TB), la DM sin diagnosticar y no controlada podría ser el principal factor que contribuiría al empeoramiento de la TB relacionada con la DM (Lönnroth et al., 2014). De hecho, el estimado global de casos incidentes de TB atribuibles a DM se ha incrementado substancialmente

en los 22 países responsables del 80% de la carga global de TB (WHO, 2015): 10% en 2010 a 15% en 2013 (Lönnroth et al., 2014), y a su vez, la prevalencia estimada de DM en estos países fue 5.4% en 2010 a 8.2% en 2013 (IDF, 2013).

Recientemente, Yuen y cols. en un estudio de análisis de transmisión reciente en Estados Unidos reportaron que la carga de casos agrupados (atribuidos a transmisión reciente) fue diferente en cada estado y pobremente predicha por la incidencia de tuberculosis (Yuen et al., 2016).

Lönnroth y cols. reportaron a los 10 países con las más elevadas tasas estimadas de incidencia de TB asociada con DM, destacándose India (302 000 casos) y China (156 000 casos) que involucraban entre ambos el 40% del total de casos (Lönnroth et al., 2014). Sin embargo, en el marco de este metanálisis únicamente China se encuentra entre los países de origen de los estudios incluidos, lo cual sugiere un sub-registro de estudios procedentes de los países con esta problemática.

El aumento de la incidencia de la tuberculosis en personas con DM parece ser multifactorial. Los mecanismos precisos por los cuales la DM aumenta el riesgo de infección tuberculosa aún no están claros (Harries et al., 2015). Estudios en modelo de ratón sugieren que una alteración en la respuesta innata a la infección inicial con un resultante retraso en la respuesta efectora inmune adaptativa es un mecanismo clave de la susceptibilidad (Martínez y Kornfeld, 2014). Así, la DM deteriora la inmunidad mediada por células por alterar la función y activación de macrófagos, monocitos y linfocitos, con posibles papeles potenciales de la microangiopatía pulmonar, disfunción renal y deficiencias vitamínicas (Martínez y Kornfeld, 2014; Ruslami, 2010; Restrepo y Schlesinger, 2014). Además, los pacientes con hiperglucemia sostenida parecen estar en mayor riesgo de contraer tuberculosis que aquellos con niveles de glucosa en sangre controlados, lo que sugiere que la hiperglucemia es un determinante importante en esta interacción (Harries et al., 2011; Almeida-Junior et al., 2016; Chiang et al., 2015).

El planteamiento sobre el modo en que participan los pacientes con DM en los agrupamientos moleculares de tuberculosis ha sido muy escasamente debatido en la literatura. Fok y cols., estimaron el impacto de los factores de riesgo frecuentemente investigados en estudios de epidemiología molecular de tuberculosis y encontraron por medio de meta-análisis de 36 estudios a: abuso en el consumo de alcohol, uso de droga intravenosa y la carencia de hogar, como los factores consistentemente significativos en poblaciones de baja incidencia de TB (Fok et al., 2008). Por su parte, Nava-Aguilera y cols., en un estudio de revisión sistemática y metanálisis para identificar los factores de riesgo asociados con transmisión reciente de TB, reportaron como principales factores a: minoría étnica, nativo del país, residente urbano, uso de drogas, consumo excesivo de alcohol, carencia de hogar, encarcelamiento previo, VIH, edad joven, baciloscopía positiva y sexo masculino (Nava-Aguilera et al., 2009).

Sin embargo, en la discusión sobre el papel de la infección por VIH en el agrupamiento molecular de casos de TB, a pesar de que el VIH aumenta el riesgo de desarrollar TB y que la reaparición de la TB en el mundo a principios de 1990 fue atribuido en parte a la epidemia del VIH, en la actualidad continúan reportándose la falta de asociación entre infección por VIH y la transmisión reciente de TB (Middelkoop et al., 2015, Huang et al., 2014; Yuen et al., 2016), lo cual podría explicarse por la disminución en el riesgo de exposición a TB en los pacientes con VIH. Pero el panorama epidemiológico en pacientes con DM es ya radicalmente distinto (Lönnroth et al., 2014; Delgado-Sánchez et al., 2015) y en gran medida aún queda pendiente la planificación de intervenciones dirigidas a comorbilidades de TB, como la diabetes y otras enfermedades no transmisibles.

Existen otros aspectos no debatidos en la literatura como el relacionado con la transmisión de TB ocurridas en instalaciones clínicas de DM. En un estudio realizado en México, 20% de los pacientes con DM y tuberculosis recurrente se debió a reinfección con una cepa diferente de *M. tuberculosis* y es posible que la enfermedad recurrente pueda resultar de la exposición involuntaria a la TB no diagnosticada en las clínicas de DM (Jiménez-Corona et al., 2013).

Los artículos incluidos en este metanálisis basaron su caracterización genotípica en los dos métodos más frecuentemente reportados: RFLP-IS6110 (y Spoligotyping) y MIRU-VNTR (Shabbeer et al., 2012; Jagielsky et al., 2014). Ambos métodos tienen una resolución similar y la idoneidad para detectar la transmisión (Borgdorff y van Soolingen, 2013; Jagielsky et al., 2014, Varma-Basil et al., 2011). De hecho, uno de los programas de control de tuberculosis pionero en la aplicación de RFLP-IS6110 en condiciones operativas, concluyó en una investigación de agrupamiento molecular de 3.975 casos de tuberculosis durante el período de 2004 a 2008 que el nivel de tipificación de los dos métodos no difirió sustancialmente (de Beer et al., 2013).

3.5- Limitaciones

Este estudio está limitado por la necesidad de un acuerdo sobre un estándar metodológico reconocido en la realización de estudios epidemiológicos moleculares basados en la población. Múltiples características de impacto sobre la frecuencia de agrupamiento incluyendo la incidencia de TB, la duración del estudio, la intensidad de seguimiento de contacto, los patrones de migración en el área de estudio, el tamaño de los grupos, la fracción de muestreo, la aparición de cepas endémicas, la frecuencia de cepas con bajo número de copias y la edad de las poblaciones de estudio (Varma-Basil et al., 2011). Se intentó ajustar algunos de estos factores a través de los criterios de selección (diseño del estudio, fracción de la muestra, número de participantes y duración del estudio). Sin embargo, no todos los estudios describieron todas las características o utilizaron definiciones estándar. Por lo tanto, las estimaciones individuales y agrupadas de OR pueden estar subestimadas o sobreestimadas. Otro posible sesgo podría haber ocurrido si las fuentes de diagnóstico de DM eran diferentes. Consideramos que esto es poco probable ya que las fuentes de datos eran conjuntos de datos clínicos o de salud pública. Finalmente, la heterogeneidad de los estudios incluidos puede limitar nuestros resultados. Se realizaron análisis de sensibilidad para evaluar si la asociación variaba excluyendo cada uno de los estudios y se encontraron hallazgos consistentes en los subgrupos.

3.6- Conclusiones

La participación de los pacientes con DM en la cadena de transmisión de TB de progresión rápida a la enfermedad debe investigarse bajo diseños de estudio en áreas o países con alta frecuencia de TB asociada con DM. Se necesitan protocolos de estudio bien establecidos dirigidos a comprender mejor los factores demográficos, clínicos, sociales y geospaciales asociados a la TB en regiones con alta comorbilidad con DM, para comprender mejor la dinámica de transmisión, como se ha propuesto recientemente para la asociación de TB y VIH (Zetola et al., 2016). La investigación debe centrarse en contextos específicos que investiguen si la transmisión de la TB es más probable que ocurra en puntos de reunión como instalaciones clínicas, clubes, campamentos, reuniones religiosas, etc., en particular en países altamente endémicos para ambas enfermedades.

4- Análisis genotípico y espacial de casos de tuberculosis pulmonar y diabetes en el estado de Veracruz, México (estudio II).

4.1- Introducción

La tuberculosis (TB) persiste como un problema de salud pública en el mundo, siendo una de las 10 principales causas de muerte. En 2015 fueron estimados 10.4 millones de casos nuevos y 1.4 millones de muertes por TB (WHO, 2016).

A partir de la década de 1980, las tasas de Diabetes Mellitus (DM), en particular DM tipo 2, han aumentado de manera alarmante (Chen et al., 2012). En la actualidad se estima que 415 millones de personas viven con DM y se espera se eleve a por lo menos 642 millones hacia el año 2040 (IDF, 2015).

Diversos estudios han sugerido la asociación de DM con el incremento en el riesgo (Ponce de León et al., 2004; Jeon y Murray, 2008; Ruslami, 2010; Jiménez et al., 2013; Restrepo y Schlesinger, 2014) y la gravedad de la enfermedad de TB (Jiménez et al., 2013; Reis-Santos et al., 2013; Singla et al., 2006; van Crevel et al., 2007; Jenn-Tyang et al., 2011; Baker et al., 2011), así como, una mayor frecuencia en pacientes con DM de TB pulmonar frente a la extra-pulmonar (Reis-Santos et al., 2013), desenlaces desfavorables y mayor extensión en el tiempo de negativización de baciloscopías y cultivos en el curso de tratamiento (Jiménez et al., 2013; Baker et al., 2011; Shariff y Safian, 2015).

La genotipificación de *M. tuberculosis* ha facilitado la caracterización de cepas (Small y van Embden, 1994; Brudey et al., 2006; Demay et al., 2012) y la comprensión de la dinámica de transmisión de la TB en distintos espacios y poblaciones definidas, en conjunción con los métodos de epidemiología convencional (Van Soolingen et al., 1999; Vynnycky et al., 2001; Hoza et al., 2016).

La evidencia actual sugiere que, además de los factores de riesgos individuales y sociales para el agrupamiento genético de casos de TB identificados en varios estudios (Small et al., 1994; Van Soolingen et al., 1999; Borgdorff et al., 2001;

Heldal et al., 2003; Iñigo et al., 2007; García et al., 2000), varios factores ecológicos, incluyendo geográficos, climáticos, y socioeconómicos, también tienen impactos críticos sobre la prevalencia de TB (Ukwaja et al., 2013; Li et al., 2014; Sun et al., 2015).

Los sistemas de información geográfica (SIG) se han convertido en herramientas importantes en la investigación y planificación de programas de TB (Nana et al., 2014; Dangisso et al., 2015; Guthrie et al., 2016). Los SIG pueden usarse para mapear las tasas de enfermedad, definir poblaciones en riesgo, detectar grupos de enfermedad y mapear los factores de riesgo sociales y ambientales (Nana et al., 2014; Wubuli et al., 2015).

Diferentes grupos de investigación han combinado datos de genotipificación y geoespaciales en TB para caracterizar la distribución de la enfermedad y transmisión dentro de determinados grupos de riesgo y comunidades (Bishai et al., 1998; Gallego et al., 2010; Tuite et al., 2013; Charmie et al., 2015; Gurjav et al., 2016).

Este estudio tuvo el propósito de determinar si los pacientes con diabetes mellitus y tuberculosis pulmonar perteneciente a conglomerados moleculares por RFLP-IS6110 eran más propensos a ser agrupados espacialmente.

4.2- Material y métodos

Población

Se realizó un estudio retrospectivo de cohortes observacionales de pacientes con TB descrito previamente (Jiménez-Corona et al., 2013, Ponce de León et al., 1986). En resumen, el área de estudio incluye 12 municipios en la Jurisdicción de Salud de Orizaba en el Estado de Veracruz, México. El sitio del estudio tiene un área de 618.11 km² y 413.223 habitantes, de los cuales el 26,3% vive en comunidades rurales (Jiménez-Corona et al., 2006).

La cobertura de salud en el sitio del estudio es proporcionada por instituciones públicas y privadas. La Secretaría de de Salud del Estado de Veracruz opera a

través de la Jurisdicción Sanitaria número VII (JS-VII) con infraestructura que incluye rural y centros de salud urbanos, un hospital psiquiátrico y un hospital regional certificado. El hospital perteneciente al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado ISSSTE asiste a funcionarios públicos, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) asiste a los que tienen seguridad social a través de unidades de salud familiar y un Hospital de referencia. Existen casas de salud y módulos pertenecientes a la Secretaría de Salud o al IMSS dependiendo del área.

La OMS reportó una incidencia de TB de 21x100 000 hab para México en 2015 (WHO, 2017). La Federación Internacional de Diabetes reportó una prevalencia de 11.5 millones de personas con DM en México (IDF, 2015).

Los pacientes con baciloscopías y/o cultivos positivos fueron reclutados a lo largo de 15 años (1995-2010) y se sometieron a evaluaciones epidemiológicas, clínicas (cuestionario estandarizado, examen físico, radiografía de tórax y VIH), microbiológicas y moleculares. Se incluyeron episodios posteriores en el mismo paciente. Las radiografías de tórax fueron evaluadas independientemente por radiólogos certificados. Se capacitó personal en la administración de cuestionarios estandarizados que incluyeron preguntas previamente validadas. Se realizaron cultivos a: (i) los casos BK+ en el período de 1995 a 2000; (ii) todos los casos (BK- y BK+) en el período de 2000 a 2005 y (iii) todos los pacientes tratados previamente con tuberculosis, así como cualquier caso nuevo de TB considerado de alto riesgo de tener tuberculosis resistente a los fármacos, en el período de 2005 a 2010. Los resultados de la susceptibilidad a los fármacos se pusieron a disposición de los médicos a cargo. Los pacientes recibieron tratamiento en los centros de salud locales.

Se pidió a los pacientes que proporcionaran sus direcciones residenciales y puntos de referencia. Dos asistentes de investigación quedaron cegados a los nombres de los participantes y cada residencia de los pacientes fue georreferenciado dos veces con un dispositivo GPS de mano (eTrex®, Garmin). Las coordenadas reunidas en el campo fueron transcritas a una hoja de cálculo de

Excel y posteriormente transformada en archivo PDF que se utilizaron directamente en el software ArcGIS v9.3. Se utilizó la aplicación ArcMap para hacer disponible la información en los mapas que muestran la distribución de los casos georreferenciados en el área de estudio.

Micobacteriología y genotipificación

El procesamiento de las muestras de expectoración se llevó a cabo mediante técnicas estandarizadas (tinción mediante técnica de Ziehl-Neelsen, cultivo en medio sólido Lowenstein-Jensen y líquido MGIT), identificación de micobacterias y susceptibilidad antimicrobiana con el método radiométrico Bactec (Jiménez-Corona et al., 2013, Ponce de León et al., 1986).

Los aislados fueron genotipificados utilizando el método de análisis de polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción basado en IS6110 (RFLP-IS6110) y spoligotyping si el aislamiento tenía menos de 6 bandas de RFLP-IS6110 (Barlow et al., 2001). Los pacientes se consideraron "agrupados" si dos o más aislamientos de diferentes pacientes fueron identificados dentro de 12 meses entre sí y tenían seis o más bandas IS6110 en un patrón idéntico, o <6 bandas con patrones idénticos IS6110 RFLP y un spoligotipo con el mismo espaciador oligonucleótidos. Los casos con un patrón de genotipo único (diferente de todas los demás patrones moleculares obtenidos en la población de estudio) y el primer caso diagnosticado en cada grupo provienen probablemente de la reactivación de infección latente causada por cepas de *M. tuberculosis* adquiridas en un momento o lugar diferente (Mathema et al., 2006). Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Micobacteriología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Se calculó la proporción de casos atribuidos a transmisión reciente de TB mediante el método "n - 1" según la fórmula: [(número de aislamientos agrupados - número total de grupos) / número total de aislamientos] (Small et al., 1994).

Definiciones

Diabetes Mellitus: Se consideró que los pacientes tenían DM si habían recibido un diagnóstico previo de un médico o una medicación hipoglucémica oral o administración o tratamiento con insulina o tenían > 200 mg/dl de glucosa en un análisis de sangre capilar aleatorio.

Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana: Se ofreció a todos los participantes pruebas y asesoramiento voluntario sobre el VIH. Los resultados fueron informados al paciente. En caso de resultados positivos se le remitió a recibir tratamiento adecuado. Las pruebas para el VIH se realizaron de acuerdo con el Programa de Prevención y Control del VIH de México usando dos pruebas diferentes. Todos los resultados positivos fueron confirmados por Western blot. También se consideró un diagnóstico previo de VIH (WHO, 2007).

TB multirresistente: tuberculosis en la que un microorganismo del complejo *M. tuberculosis* es resistente a la acción tanto de la isoniazida como de la rifampicina (SSA, 2005).

La residencia rural y la falta de vivienda se definieron como en el Censo de Población y Hogares (INEGI, 2010). El consumo de alcohol (>10 bebidas por semana), el consumo de tabaco (>10 cigarrillos por semana), el uso de drogas ilegales (marihuana, cocaína y sus derivados, heroína, metanfetaminas, alucinógenos, inhalantes y otras drogas) Encuesta de Adicciones (NSA) (SSA, 2005).

Análisis espacial

Se evaluó el nivel de agregación espacial de los pacientes de TB (agrupados por RFLP-IS6110, únicamente) en toda el área de estudio por medio del estadístico I de Moran global, el cual es una medida de autocorrelación espacial (Moran, 1950). La autocorrelación espacial identifica los patrones de dependencia espacial calculando la correlación de una variable con ella misma dentro de un espacio

geográfico, lo que significa que el valor de una variable se asocia con los de la misma variable en áreas cercanas.

Los valores de I de Moran oscilan entre -1 y 1, con 1 para la máxima asociación positiva y -1 para la máxima asociación negativa. No hay correlación cuando el valor es cero. Un valor positivo más alto indica una autocorrelación espacial más fuerte, en tanto que los valores negativos indican que los pacientes están a mayor distancia entre sí. La prueba Z-score se utilizó para evaluar la significación de la estimación del estadístico I de Moran. Los pacientes con TB se consideraron espacialmente agregados y estadísticamente agrupados cuando la I de Moran es >0 y Z-score $\geq 1,96$ (Anselin, 2006).

La detección de agregación espacial global, esto es en toda el área de estudio, justificó el posterior análisis de agrupamiento local o punto crítico espacial.

Análisis de punto crítico (hotspot)

El estadístico Getis-Ord G_i^* es un indicador local de autocorrelación espacial (Anselin, 1995), usado en este estudio para identificar los puntos críticos (hotspot) espaciales de los casos de TB. Este estadístico mide el grado de asociación que resulta de la concentración de casos de enfermedad dentro de cierta distancia. Un valor positivo significativo, por ejemplo, $G_i^* \geq 1,96$, implica un agrupamiento con un valor más alto localmente que otras áreas y un agrupamiento bajo como el valor $G_i^* \leq -1,96$ (Getis y Ord, 1992). La significación estadística es del 95%. Es decir, el uso de este estadístico permitió investigar si los miembros de un mismo cluster molecular estuvieron agrupados espacialmente.

Análisis estadístico

Entre los pacientes agrupados por RFLP-6110 se utilizaron análisis bivariados para analizar las diferencias sociodemográficas, conductuales, clínicas y bacteriológicas entre los pacientes en hotspots y el resto de pacientes. Mediante regresión logística no condicionada, se investigó si los pacientes con TB/DM pertenecientes a conglomerados moleculares tuvieron mayor probabilidad de

ubicarse en puntos críticos ajustando por variables sociodemográficas, conductuales, clínicas y bacteriológicas en comparación con pacientes con TB sin DM pertenecientes a conglomerados moleculares. Se construyeron cinco modelos (en general, los pacientes con y sin diabetes, y los pacientes diagnosticados entre 1995 y 2000 y los pacientes diagnosticados entre 2001 y 2010). Las variables incluidas en los modelos se seleccionaron a partir de su significancia estadística ($p < 0.20$) y su plausibilidad biológica. El análisis de todos los datos fue realizado en STATA v13.1.

Aprobación ética

Los participantes proporcionaron su consentimiento informado por escrito para participar en este estudio. La aprobación ética se obtuvo de la Comisión de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública (Número de aprobación 527). Todos los participantes fueron remitidos a centros de salud para recibir tratamiento de acuerdo con las estipulaciones del Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis.

4.3- Resultados

Marco epidemiológico y molecular

En el período de 1995 a 2010 se diagnosticaron 1370 pacientes mayores de 20 años con TB pulmonar. Entre estos 32.84% tenían además diabetes mellitus. La proporción de casos con genotipificación por RFLP-IS6110/Spoligotyping fue 80.7% (1105/1370), de los cuales 31% (342/1105) fueron agrupados y 69% (763/1105) mostraron un patrón único. Las cepas no procesadas por RFLP-IS6110/Spoligotyping (19.34%) se debieron a retraso en la recepción de la muestra en el laboratorio por lejanía del domicilio del paciente y la consiguiente baja calidad de la muestra y contaminación.

La tabla 4.1 muestra la comparación entre los pacientes con y sin información molecular (RFLP-IS6110/Spoligotyping). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a sexo masculino (60% (659/1105) vs 53% (141/265),

p=0.056) o edad (31 (45-59) vs 29 (45-60), p=0.930). Sin embargo, existieron diferencias significativas en: período 2000-2010 (70% (778/1105) vs 61% (162/265), p= 0.003), consumo de alcohol (45% (494/1103) vs 38% (101/265), p= 0.049), diabetes mellitus (34% (380/1105) vs 26% (70/265), p=0.013), resistencia antimicrobiana (78% (739/945) vs 66% (42/64), p=0.02), fiebre (71% (787/1102) vs 64% (169/265), p=0.015) y presencia de cavernas en radiografía (44% (411/942) vs 22% (46/213), p= <0.001).

Tabla 4.1. Comparación de las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con y sin información molecular de RFLP-IS6110.

Características	Total	sin RFLP-IS6110/ Espoligotipo	con RFLP-IS6110/ Espoligotipo	Valor p ^d
	n/total (%)	n/total (%)	n/total (%)	
Sexo masculino	800/1370 (58.0)	141/265 (53.0)	659/1105 (60.0)	0.056
Edad en años (media)	45.5 (18.0)	45.6 (19.5)	45.5 (17.6)	0.945
Escolaridad mayor a primaria	951/1369 (69.0)	184/265 (69.0)	767/1104 (69.0)	0.99
Piso de tierra	268/1370 (20.0)	47/265 (18.0)	221/1105 (20.0)	0.404
Rural	148/1236 (12.0)	30/244 (12.0)	118/992 (12.0)	0.863
Distancia (metros) al centro de salud más cercano (mediana IQR)	701 (422-1045)	744 (478-1173)	696 (413-1034)	0.161
Diagnóstico entre 2000-2010	940/1370 (69.0)	162/265 (61.0)	778/1105 (70.0)	0.003
Derechohabencia	482/1370 (35.0)	106/265 (40.0)	376/1105 (34.0)	0.067
IMC (media)	21.7 (6.0)	23.5 (8.1)	21.2 (5.3)	<0.001
Consumo de alcohol	595/1368 (43.0)	101/265 (38.0)	494/1103 (45.0)	0.049
Hábito de fumar	310/1367 (23.0)	49/264 (19.0)	261/1103 (24.0)	0.075
Uso de drogas ilegales	67/1369 (5.0)	8/265 (3.0)	59/1104 (5.0)	0.115

Desamparados	47/1365 (3.0)	13/263 (5.0)	34/1102 (3.0)	0.138
Presencia de cicatriz de BCG ^a	635/1362 (47.0)	130/262 (50.0)	505/1100 (46.0)	0.279
Infección por VIH ^b	25/1322 (2.0)	3/252 (1.0)	22/1070 (2.0)	0.364
Tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y Tratamiento (días) (mediana IQR)	105 (62-191)	98 (52-188)	107 (65.192)	0.111
Caso Nuevo de TB	1115/1369 (81.0)	207/265 (78.0)	908/1104 (82.0)	0.12
Diabetes Mellitus	450/1370 (33.0)	70/265 (26.0)	380/1105 (34.0)	0.013
# de BAAR ^c en baciloscopía (cruces)				
Paucibacilar	115/1360 (8.0)	6/263 (2.0)	109/1097 (10.0)	<0.001
+	537/1360 (39.0)	180/263 (68.0)	357/1097 (33.0)	
++	385/1360 (28.0)	53/263 (20.0)	332/1097 (30.0)	
+++	323/1360 (24.0)	24/263 (9.0)	299/1097 (27.0)	
Susceptibilidad a drogas	781/1009 (77.0)	42/64 (66.0)	739/945 (78.0)	0.02
Multidrogorresistencia	67/1009 (7.0)	6/64 (9.0)	61/945 (6.0)	0.364
Fiebre	956/1367 (70.0)	169/265 (64.0)	787/1102 (71.0)	0.015
Hemoptisis	450/1362 (33.0)	84/261 (32.0)	366/1101 (33.0)	0.744
Presencia de cavidades en Rayos-X	457/1155 (40.0)	46/213 (22.0)	411/942 (44.0)	<0.001

^aBCG: Bacilo de Calmette-Guérin, ^bVIH: virus de inmunodeficiencia humana, ^cBAAR: bacilo ácido-alcohol resistente, ^dPrueba de X², ^eKruskall Wallis

En la tabla 4.2 se muestran la distribución de pacientes que compartieron patrones RFLP-IS6110/ Spoligotyping acorde al número de integrantes del grupo. En total 342 pacientes agrupados se distribuyeron en 116 patrones RFLP-IS6110/ Spoligotyping que involucraban de 2 a 23 pacientes. El 64.6% de los conglomerados fueron pequeños (2 miembros) e involucraron el 44.4% de los

pacientes. La proporción de casos atribuibles a transmisión reciente de TB en la cohorte de pacientes se estimó en 20.4%.

Tabla 4.2. Descripción de los agrupamientos por RFLP-IS6110/ Spoligotyping.

Categoría	Tamaño de grupo	Número de grupos	Número total de pacientes
A	2	75	152
B	3-5	32	109
C	6-10	6	45
D	11-20	1	15
E	21-23	2	21

En la Tabla 3 se presenta la comparación entre pacientes agrupados y con patrón único por RFLP-IS6110/ Spoligotyping. Las principales diferencias significativas entre ambos estuvieron en: pacientes diagnosticados en el período 2000-2010 (77% (262/342) vs 68%(516/763), $p=0.002$), índice de masa corporal (IMC) (20.7 (+/-4.1) vs 21.4 (+/-5.7)) $p=0.046$), uso de drogas ilícitas (8% (26/342) vs 4% (33/762), $p=0.025$), susceptibilidad antibiótica (82% (250/304) vs 76% (489/641), $p=0.039$) y Multidrogorresistencia (4% (11/304) vs 8% (50/641), $p=0.015$). La presencia de diabetes mellitus no mostró diferencia significativa entre ambos grupos de pacientes (32% (108/342) vs 36% (272/763), $p=0.188$).

Tabla 4.3. Comparación de las características sociodemográficas y clínicas entre pacientes con patrón RFLP-IS6110/ Spoligotyping agrupados y únicos.

Características	Total	Patrón único	Agrupados	Valor p ^d
	n/total (%)	n/total (%)	n/total (%)	
Sexo masculino	659/1105 (60.0)	447/763 (59.0)	212/342 (62.0)	0.286
Edad en años (media)	45.5 (17.6)	46.1 (17.1)	44.0 (18.7)	0.071
Escolaridad mayor a primaria	767/1104 (69.0)	525/762 (69.0)	242/342 (71.0)	0.534
Piso de tierra	221/1105 (20.0)	147/763 (19.0)	74/342 (22.0)	0.362
Rural	118/992 (12.0)	83/691 (12.0)	35/301 (12.0)	0.864
Distancia (metros) al centro de salud más cercano (mediana IQR)	696 (413-1034)	45 (33-59)	42 (28-58)	0.241
Diagnóstico entre 2000-2010	778/1105 (70.0)	516/763 (68.0)	262/342 (77.0)	0.002
Derechohabencia	376/1105 (34.0)	267/763 (35.0)	109/342 (32.0)	0.311
IMC (+/-Desviación estándar)	21.2 (5.3)	21.4 (+/-5.7)	20.7 (+/-4.1)	0.046
Atención en el centro de salud urbano Camerino Z. Mendoza	98/778 (13.0)	57/438 (13.0)	41/340 (12.0)	0.691
Consumo de alcohol	494/1103 (45.0)	326/761 (43.0)	168/342 (49.0)	0.052
Hábito de fumar	261/1103 (24.0)	178/761 (23.0)	83/342 (24.0)	0.751
Uso de drogas ilegales	59/1104 (5.0)	33/762 (4.0)	26/342 (8.0)	0.025
Sin hogar	34/1102 (3.0)	21/761 (3.0)	13/341 (4.0)	0.35
Presencia de cicatriz de BCG ^a	505/1100 (46.0)	346/760 (46.0)	159/340 (47.0)	0.703
Infección por VIH ^b	22/1070 (2.0)	15/737 (2.0)	7/333 (2.0)	0.943
Tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y Tratamiento (días) (mediana IQR)	107 (62-192)	109 (65-197)	105 (62-180)	0.174
Caso Nuevo de TB	908/1104 (82.0)	631/763 (83.0)	277/341 (81.0)	0.555
Diabetes Mellitus	380/1105 (34.0)	272/763 (36.0)	108/342 (32.0)	0.188
# de BAAR ^c en baciloscopia (cruces)				
Paucibacilar	109/1097 (10.0)	66/757 (9.0)	43/340 (13.0)	0.246
+	357/1097 (33.0)	251/757 (33.0)	106/340 (31.0)	0.246

++	332/1097 (30.0)	230/757 (30.0)	102/340 (30.0)	0.246
+++	299/1097 (27.0)	210/757 (28.0)	89/340 (26.0)	0.246
Susceptibilidad a drogas	739/945 (78.0)	489/641 (76.0)	250/304 (82.0)	0.039
Multidrogorresistencia	61/945 (6.0)	50/641 (8.0)	11/304 (4.0)	0.015
Fiebre	787/1102 (71.0)	555/762 (73.0)	232/340 (68.0)	0.119
Hemoptisis	366/1101 (33.0)	246/759 (32.0)	120/342 (35.0)	0.383
Presencia de cavidades en Rayos-X	411/942 (44.0)	273/647 (42.0)	138/295 (47.0)	0.188

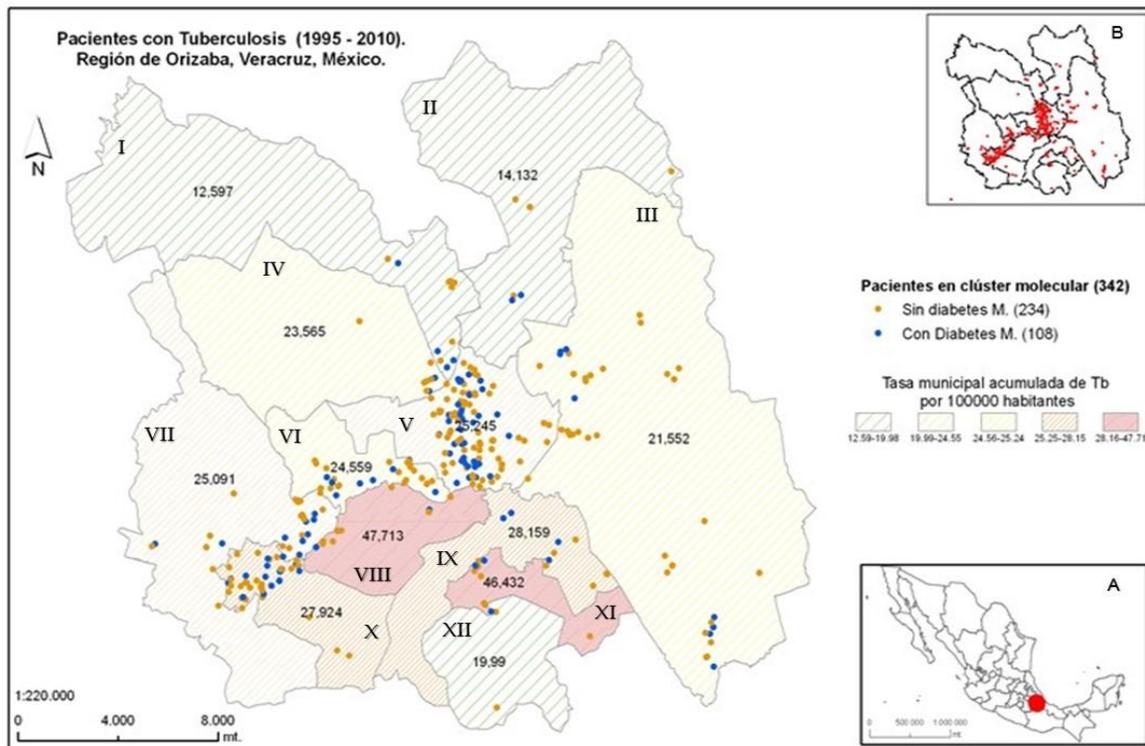
^aBCG: Bacilo de Calmette-Guérin, ^bVIH: virus de inmunodeficiencia humana, ^cBAAR: bacilo ácido-alcohol resistente, ^dPrueba de X², ^eKruskall Wallis.

Distribución espacial y análisis de punto crítico.

La distribución geoespacial global de los 342 pacientes agrupados por RFLP-IS6110 se muestra en la figura 4.1. Entre ellos hubo 234 pacientes sin DM y 108 pacientes con DM (tabla 4.3). Se observó concentración de pacientes ubicados principalmente en el municipio de Orizaba y extendido hacia los municipios de Río Blanco, Nogales y Camerino Z. Mendoza. A pesar de que municipios como Huiloapan de Cuauhtemoc y Tlilapan presentan mayores tasas de incidencia, la presencia en estos municipios de pacientes en agrupamientos genéticos no es notoria.

En cuanto a la distribución de los patrones genéticos, de los 116 agrupamientos moleculares (tabla 4.2), 10 tuvieron el primer caso identificado en los municipios de Mendoza y Nogales, sumando entre ambos el 17% de los casos índice para cada agrupamiento. En Mendoza se concentraron además 2 de los 15 casos y 12 de los 21 casos que corresponden a los agrupamientos moleculares más numerosos (D y E).

Figura 4.1. Distribución geográfica global de los pacientes agrupados por 342 RFLP-IS6110 en el área de estudio.



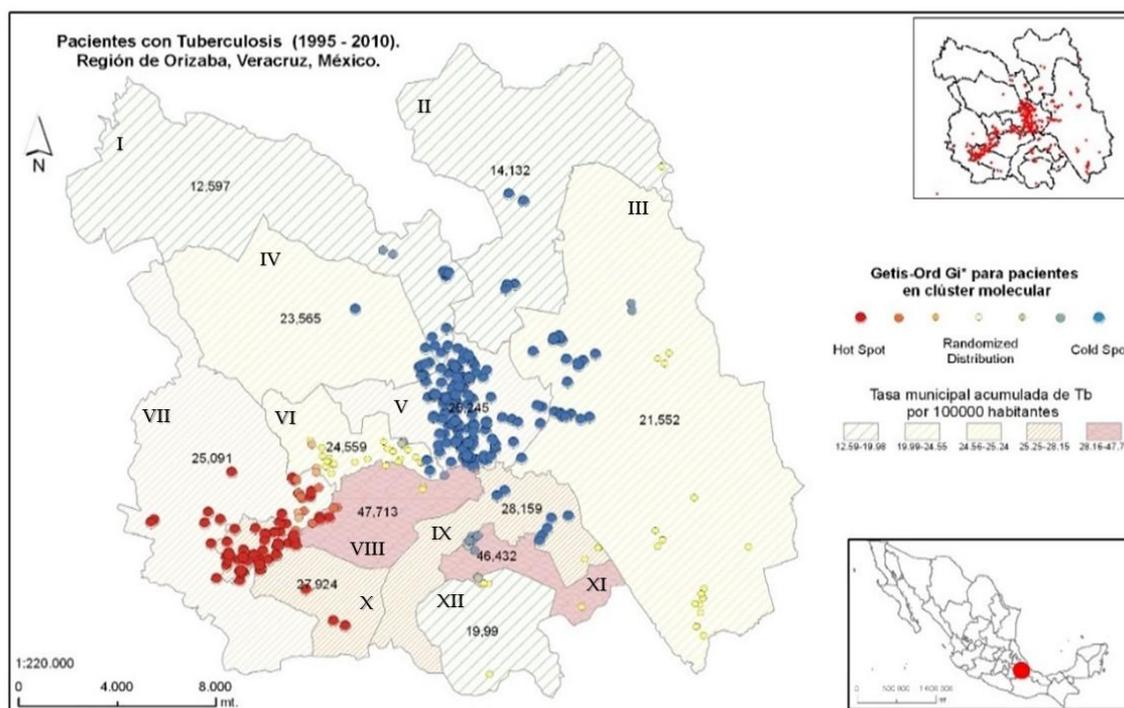
A: Ubicación del área de estudio en México. B: distribución de pacientes agrupados. Los puntos amarillos indican pacientes agrupados sin DM. Los puntos azules indican pacientes agrupados con DM. El patrón tramado indica las tasas de TB en cada municipio (el patrón de rayas verde espaciado indica tasas más bajas, el patrón de sombreado rojo cerrado indica tasas más altas). El número dentro de cada municipio muestra la tasa exacta. Municipios: Mariano Escobedo (I), Atzacan (II), Ixtaczoquitlán (III), Ixhuatlancillo (IV), Orizaba (V), Río Blanco (VI), Nogales (VII), Huiloapan (VIII), Rafael Delgado (IX), Camerino Z. Mendoza (X), Tlilapan (XI) y San Andrés Tenejapan (XII).

El análisis I de Moran global para los pacientes agrupados por RFLP-IS6110 detectó autocorrelación espacial (índice Moran=0.035468, valor Z=7.0, p=0.00). En otras palabras, la distribución de los pacientes agrupados por RFLP-IS6110 en el área de estudio no fue aleatoria, con significancia estadística

En cuanto al análisis espacial local, se reveló agrupamiento estadísticamente significativo de los pacientes en conglomerados de RFLP-IS6110 identificando área de concentración (punto crítico) y área de dispersión (punto frío). El

estadístico G_i^* mostró que el punto crítico (hotspot) para agrupación espacial de estos pacientes se ubicaba en el municipio Camerino Z. Mendoza. Mientras que el municipio de Orizaba fue identificado como un área de dispersión; esto es, que la distancia entre los pacientes agrupados por RFLP-IS6110 ubicados en dicha área es mucho mayor y la frecuencia de agregación ahí es mucho menor (figura 4.2). Así, 14.6% (50/342) de los pacientes agrupados por RFLP-IS6110 formaron parte del área de punto crítico espacial, de los cuales 60% (30/50) eran pacientes con diabetes.

Figura 4.2. Análisis espacial local de los pacientes agrupados por RFLP-IS6110 en el área de estudio.

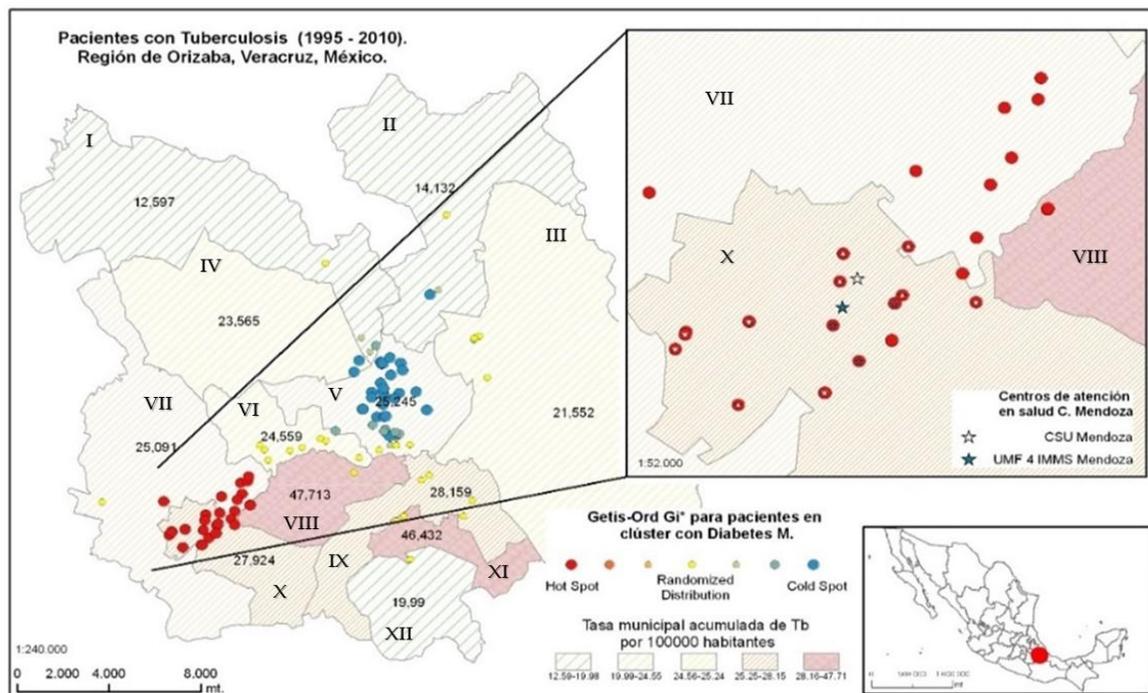


La escala muestra valores de puntuación Z: cuanto mayor es la puntuación z, más intensa es la agrupación de valores altos rojo. Para puntuaciones z negativas estadísticamente significativas, cuanto menor sea el puntaje z, más intensa será la agrupación de valores bajos (punto frío), mostrada en azul. La distribución aleatoria (entre -1.96 y 1.96) se muestra en amarillo. 25% (86/342) de los pacientes tenían una puntuación Z por encima de 1,96 en comparación con los pacientes en el resto de los municipios que tenían un menor puntaje Z-valor, lo que indica que la suma de los pacientes más cercana a cada grupo molecular no se distribuyó aleatoriamente. Mariano Escobedo (I), Atzacan (II),

Ixtaczoquitlán (III), Ixhuatlancillo (IV), Orizaba (V), Río Blanco (VI), Nogales (VII), Huiloapan (VIII), Rafael Delgado (IX), Camerino Z. Mendoza (X), Tlilapan (XI) y San Andrés Tenejapan (XII).

En el análisis espacial local para los pacientes TB con DM (108/342) agrupados por RFLP-IS6110 se detectó como área de riesgo para agrupamiento espacial (punto crítico) al municipio Camerino Z. Mendoza (figura 4.3) identificado ya en el análisis previo (figura 4.2). La ampliación del área de punto crítico mostró a los pacientes TB con DM vinculados mayoritariamente (38% (11/29)) a uno de los centros de atención (centro de salud urbano Mendoza) (figura 4.3).

Figura 4.3. Análisis espacial local en los pacientes TB con DM agrupados por RFLP-IS6110 en el área de estudio.

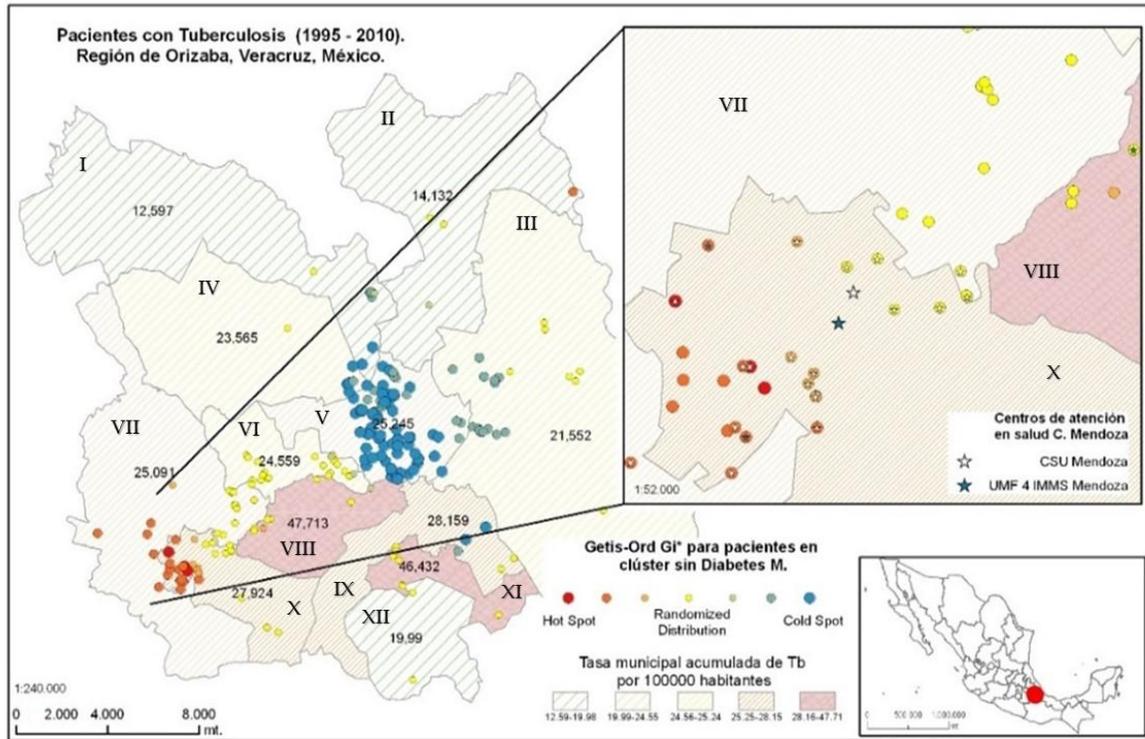


Escala de valores Z como en la Figura 2. El Getis-Ord Gi * mostró un hotspot ubicado en Camerino Z. Mendoza y Nogales. El 27 por ciento de los pacientes (29/108) con diabetes mostraron puntuaciones z por encima de 1,96 (puntos rojos). En el resto de los municipios, los valores de puntuación z son menores que 1,96 que indican una distribución espacial aleatoria (manchas de puntos amarillos) o un punto frío (manchas azules). (41/108) de los pacientes con diabetes mostraron puntuaciones z por debajo de -1,96 Azul) y 88% (36/41) en el municipio de Orizaba. En la figura se muestran dos centros

de salud (Centro de Salud Urbana de Mendoza), Unidad Médica Familiar 4, IMSS (estrella azul)). La estrella en el centro de cada punto indica el centro de salud al que asisten. 38% (11/29) atendieron al Centro de Salud Urbano de Mendoza, el 10% (3/29) la Unidad Medico Familiar 4 (IMSS) y el 52% (15/29) se atendieron en un centro de salud diferente. Mariano Escobedo (I), Atzacan (II), Ixtaczoquitlán (III), Ixhuatlancillo (IV), Orizaba (V), Río Blanco (VI), Nogales (VII), Huiloapan (VIII), Rafael Delgado (IX), Camerino Z. Mendoza (X), Tlilapan (XI) y San Andrés Tenejapan (XII).

Por su parte, el análisis espacial local en los pacientes TB sin DM (234/342) agrupados por RFLP-IS6110 identificó al municipio Camerino Z. Mendoza como un punto crítico de agregación espacial, aunque ligeramente más disperso que lo observado para los pacientes con TB/DM, indicado en el mapa temático como puntos rojos de menos intensidad (figura 4.4) en comparación al mapa correspondiente a los pacientes TB con DM (figura 4.3). De igual modo, la ampliación del área de punto crítico mostró a los pacientes TB sin DM vinculados mayoritariamente (40% (8/20)) a uno de los centros de atención (centro de salud urbano Mendoza) (figura 4.4).

Figura 4.4. Análisis espacial local en los pacientes TB sin DM agrupados por RFLP-IS6110 en el área de estudio.



Escala de valores de Z como en la Figura 2. Solamente el 8,5% (20/234) de los pacientes sin diabetes tenían un puntaje Z-Getis-OrdGi* superior a 1,96 en comparación con los pacientes del resto de los municipios que tenían un valor Z más bajo. En el resto de los municipios, los valores z-score son menores que 1,96 indicando una distribución espacial aleatoria (manchas de puntos amarillos) o un punto frío (manchas azules). Los resultados del hotspot se muestran en zoom. 40% (8/20) asistieron al Centro de Salud Urbano de Mendoza, el 10% (2/20) la Unidad Médica Familiar 4 (IMSS) y el 50% (10/20) asistieron a un centro de salud diferente. Mariano Escobedo (I), Atzacan (II), Ixtaczoquitlán (III), Ixhuatlancillo (IV), Orizaba (V), Río Blanco (VI), Nogales (VII), Huiloapan (VIII), Rafael Delgado (IX), Camerino Z. Mendoza (X), Tlilapan (XI) y San Andrés Tenejapan (XII).

La tabla 4.4 muestra la comparación entre los pacientes agrupados por RFLP-IS6110/ Spoligotyping pertenecientes a punto crítico (hotspot) con los pacientes no incluidos en punto crítico. Las principales diferencias significativas entre ambos están en: distancia al centro de salud (958mt (486-1462) vs 627mt (410-918),

p=0.005), Clínica de salud Camerino Z. Mendoza (49% (24/49) vs 6%(17/29), p=<0.001) y Diabetes mellitus (60% (30/50) vs 27% (78/29), p=0.001).

Tabla 4.4. Comparación de las características sociodemográficas y clínicas entre pacientes agrupados por RFLP/ Spoligotyping incluidos y no en punto crítico espacial.

Características	Total	No pertenencia a punto crítico espacial	Pertenencia a punto crítico espacial	Valor p ^d
	n/total (%)	n/total (%)	n/total (%)	
Sexo masculino	212/342 (62.0)	185/292 (63.0)	27/50 (54.0)	0.208
Edad en años (media)	44.0 (18.6)	43.4 (18.8)	47.9 (17.3)	0.113
Escolaridad mayor a primaria	242/342 (71.0)	205/292 (70.0)	37/50 (74.0)	0.586
Piso de tierra	74/342 (22.0)	64/292 (22.0)	10/50 (20.0)	0.761
Rural	35/301 (12.0)	30/260 (12.0)	5/41 (12.0)	0.903
Distancia (metros) al centro de salud más cercano (mediana IQR)	657 (433-976)	627 (410-918)	958 (486-1462)	0.005
Diagnóstico entre 2000-2010	262/342 (77.0)	222/292 (76.0)	40/50 (80.0)	0.54
Derechohabiciencia	109/342 (32.0)	94/292 (32.0)	15/50 (30.0)	0.759
IMC (media)	20.7 (4.1)	20.7 (3.9)	21.0 (4.8)	0.545
Atención en el centro de salud urbano Camerino Z. Mendoza	41/340 (12.0)	17/291 (6.0)	24/49 (49.0)	<0.001
Consumo de alcohol	168/342 (49.0)	144/292 (49.0)	24/50 (48.0)	0.864
Hábito de fumar	83/342 (24.0)	74/292 (25.0)	9/50 (18.0)	0.263
Uso de drogas ilegales	26/342 (8.0)	25/292 (9.0)	1/50 (2.0)	0.106
Sin hogar	13/341 (4.0)	13/292 (4.0)	0/49 (0.0)	0.132
Presencia de cicatriz de BCG ^a	159/340 (47.0)	141/291 (48.0)	18/49 (37.0)	0.128
Infección por VIH ^b	7/333 (2.0)	6/285 (2.0)	1/48 (2.0)	0.992
Tiempo (días) transcurrido entre el inicio de los síntomas y Tratamiento (mediana IQR)	105 (62-180)	100 (61-180)	108 (64-193)	0.455
Caso Nuevo de TB	277/341 (81.0)	238/292 (82.0)	39/49 (80.0)	0.751
Diabetes Mellitus	108/342(32.0)	78/292 (27.0)	30/50 (60.0)	<0.001

# de BAAR ^c en baciloscopía (cruces)				
Paucibacilar	43/340 (13.0)	38/290 (13.0)	5/50 (10.0)	0.746
+	106/340 (31.0)	88/290 (30.0)	18/50 (36.0)	
++	102/340 (30.0)	86/290 (30.0)	16/50 (32.0)	
+++	89/340 (26.0)	78/290 (27.0)	11/50 (22.0)	
Susceptibilidad a drogas	250/304 (82.0)	212/256 (83.0)	38/48 (79.0)	0.544
Multidrogorresistencia	11/304 (4.0)	11/256 (4.0)	0/48 (0.0)	0.144
Fiebre	232/340 (68.0)	197/290 (68.0)	35/50 (70.0)	0.772
Hemoptisis	120/342 (35.0)	98/292 (34.0)	22/50 (44.0)	0.153
Presencia de cavidades en Rayos-X	138/295 (47.0)	112/252 (44.0)	26/43 (60.0)	0.052

^aBCG: Bacilo de Calmette-Guérin, ^bVIH: virus de inmunodeficiencia humana, ^cBAAR: bacilo ácido-alcohol resistente, ^dPrueba de X², ^eKruskall Wallis.

El análisis multivariado controlado por variables sociodemográficas y clínicas (tabla 4.5) mostró que el diagnóstico de DM (7.04 OR, (3.03-16.38) $p < 0.001$) y recibir atención en el centro de salud urbano de Camerino Z. Mendoza (18.04 OR (7.35-44.28), $p < 0.001$) se asociaron con la ubicación en un punto crítico. .

Al realizar modelos multivariados estratificando por el diagnóstico de DM, se encontró que todos los pacientes con DM acudieron al centro de salud urbano de Camerino Z. Mendoza. Los pacientes sin DM pertenecientes a un hotspot tuvieron una mayor probabilidad de acudir al centro de salud urbano de Camerino Mendoza (8.012 OR (2.63-24.44), $p < 0.001$) (Table 4.5).

Al estratificar por el período de diagnóstico, se encontró que en el período de 1995 a 1999: la distancia al centro de salud más cercano (2.38 OR (1.28 -4,42) $p < 0,01$), la presencia de DM (7.112 OR (2.70-18.72), $p < 0.001$) y recibir atención en el centro de salud urbano de Camerino Z. Mendoza (23,35 OR (8,13-67,10), $p < 0,001$) se asociaron a la ubicación en punto crítico. Mientras que el análisis en el período comprendido entre 2000 a 2010, el diagnóstico de DM (12.85 (1.19-138.65) $p < 0.05$) y la atención en el centro de salud urbano de Camerino Z.

Mendoza (17.08 (1.55-188.77) $p < 0.05$) se asociaron a punto crítico espacial (tabla 4.5).

Todos los modelos se ajustaron por sexo, edad, nivel socioeconómico (utilizando como indicador la residencia con piso de tierra), derechohabiencia, la distancia al centro de salud más cercano y el recibir atención en el centro de salud urbano Camerino Z. Mendoza.

Tabla 4.5. Análisis multivariado para los factores asociados con la pertenencia a punto crítico espacial.

Características	Total	Pacientes con DM	Pacientes sin DM	Período 1995-1999	Período 2000-2010
	OR ^a	OR ^a	OR ^a	OR ^a	OR ^a
	(IC ^b 95%)				
n	339	92	233	260	57
Sexo Femenino	1.098	0.783	1.604	1.202	0.811
	[0.52,2.33]	[0.21,2.95]	[0.56,4.63]	[0.52,2.79]	[0.09,7.40]
Edad (años)	1	0.982	1.006	1	1.011
	[0.98,1.02]	[0.93,1.03]	[0.98,1.03]	[0.98,1.03]	[0.93,1.10]
Diabetes mellitus	7.047***	----	----	7.112***	12.85*
	[3.03,16.38]	----	----	[2.70,18.72]	[1.19,138.65]
Piso de tierra	0.894	0.413	1.242	0.523	6.544
	[0.34,2.34]	[0.05,3.68]	[0.40,3.86]	[0.17,1.60]	[0.59,72.16]
Sin derechohabiencia	1.124	1.19	0.828	0.878	1
	[0.49,2.56]	[0.35,3.99]	[0.25,2.75]	[0.35,2.19]	[1.00,1.00]
Distancia (metros) al centro de salud más cercano	1.538	1.24	1.587	2.380**	1.115
	[0.96,2.47]	[0.43,3.59]	[0.97,2.59]	[1.28,4.42]	[0.72,1.73]
Atención en el centro de salud urbano Camerino Z. Mendoza	18.04***	Omitido	8.012***	23.35***	17.08*
	[7.35,44.28]	----	[2.63,24.44]	[8.13,67.10]	[1.55,188.77]
Diagnóstico entre 2000-2010	1.74	2.136	1.912	----	----
	[0.65,4.69]	[0.43,10.66]	[0.43,8.50]	----	----

^aRM= Razón de momios; ^bIC95% = Intervalo de confianza al 95%; Valor de $p = * p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

4.4- Discusión

La combinación de información molecular, epidemiológica y datos geoespaciales obtenidos de los casos de la cohorte permitió documentar tanto la existencia de

conglomerados espaciales en el área de estudio como la posible concentración de pacientes con TB-DM perteneciente a conglomerados genéticos en uno de los centros de atención ubicado en la zona destacada. Esto último, si bien especulativo, es un hallazgo interesante vinculado a la aplicación de SIG al análisis de esta cohorte de pacientes reportada previamente (Jiménez-Corona et al., 2013) Lo anterior permitió obtener una nueva perspectiva del contexto epidemiológico de estos pacientes con TB-DM. Así, este estudio sugiere una especial atención a los centros de atención médica (clínicas y hospitales) que pueden llegar a convertirse en puntos de transmisión de TB en pacientes en riesgo por inmunosupresión como podría ser el caso del paciente con DM (Restrepo y Schlesinger, 2014).

La frecuencia de DM entre los pacientes con TB del estudio fue alta (32.84%), congruente con lo informado previamente para México al analizar 12 años del registro de TB nacional (Delgado-Sánchez et al., 2015) y también en otros países del mundo (Wu et al., 2016; Ko et al., 2016; Suwanpimolkul et al., 2014).

Los aislamientos pertenecientes a conglomerados moleculares de genotipos idénticos se han considerado infecciones de reciente adquisición (Small et al., 1994). Sin embargo, este supuesto no siempre es correcto, pues existen contextos epidemiológicos donde el agrupamiento no implica transmisión reciente, por ejemplo, casos de TB en personas inmigrantes infectadas en sus países de origen con una cepa genéticamente homogénea a la cepa caracterizada en una base de datos nacional (Hermans et al., 1995), o pacientes no inmigrantes que pueden haber sido infectados varios años o décadas antes con una cepa que se encuentra en ese momento bajo estudio (Braden et al., 1997), o simplemente la tipificación por RFLP-IS6110 puede ser incapaz de diferenciar dos cepas no idénticas (estabilidad del marcador molecular) (van Deutekom et al., 2005). Por tanto, el agrupamiento por sí mismo no demuestra que la transmisión ocurrió y su demostración depende del muestreo adecuado de la población, la incidencia de TB y las características de la población estudiada (v.gr.: grupo de edad, movilidad

de la población, duración de la residencia, estado inmunológico, enfermedades concomitantes, entre otros) (Glynn et al., 1999a; Glynn et al., 1999b).

La proporción de pacientes en conglomerados moleculares de genotipos idénticos (31%) y de transmisión reciente (20.4%) fue más bajo que lo reportado en Acapulco, donde detectaron 77.9% de agrupamiento y 68% de infección reciente (Nava-Aguilera et al., 2011) Sin embargo, estos datos fueron comparable con otros estudios: en Baltimore, EUA, determinaron 46% de agrupamiento con 32% atribuido a transmisión reciente (Bishai et al., 1998) y otro estudio analizando los datos del sistema de vigilancia de TB nacional estadounidense indicó 23.1% de agrupamiento de casos (Moonan et al., 2012); en Vitória, Brasil, encontraron 48.1% de agrupamiento con 34.2% asociado a transmisión reciente (Ribeiro et al., 2015); en Londres, Reino Unido, estimaron entre 2010-2012 un 46% de agrupamiento y 34% de transmisión reciente (Hamblion et al., 2016); en Holanda determinaron porcentajes similares de agrupamiento (46%) y transmisión (35%), en el período 1993 a 1997 (van Soolingen et al., 1999) y en Ontario, Canadá (Tuite et al., 2013), Tokio, Japón (Izumi et al., 2015) e isla Hong Kong (Chang-Yeung et al., 2005), reportaron 23.1%, 43.7% y 27.3% de agrupamiento de casos de TB, respectivamente. Así, un estudio de metanálisis (Houben y Glynn, 2009) describió una gran variación en las proporciones de agrupamiento, de 6% a 86%, en 46 estudios, mientras que Fok y cols (Fok et al., 2008) describieron proporciones de transmisión reciente que oscilaron entre 4% y 60% con una mediana de 28% en análisis de 35 estudios.

El bajo porcentaje de agrupación y transmisión reciente atribuible encontrada en este estudio podría estar relacionado con una morbilidad global mucho más baja o con los efectos de las diferentes intervenciones programáticas, tales como, la investigación de contacto, las iniciativas de detección dirigidas o las tasas de cumplimiento de estrategia TAES (García-García et al., 2000; Jacobson et al., 2005; DeRiemer et al., 2005).

En relación al tamaño de los conglomerados detectados en el estudio, se destaca la preponderancia de los agrupamientos pequeños conteniendo 2 individuos

(64.6%), lo cual también ha sido reportado en otras cohortes de pacientes con valores de 51.3%, 52.9%, 56% y 58.8% (van Soolingen et al., 1999; Ribeiro et al., 2015; Hamblion et al., 2016; Tuite et al., 2013). Recientemente, se ha propuesto denominar a los agrupamientos pequeños (menos de 5 individuos) como eventos de transmisión reciente limitada, a partir de la hipótesis de que las poblaciones en las que la transmisión está efectivamente limitada por los esfuerzos de control de la TB difieren de las poblaciones en las que la transmisión no controlada es más común (Yuen et al., 2016). No obstante, un aspecto de suma importancia a tener en cuenta al aplicar esta definición sería el hecho de que algunos agrupamientos podrían ser mal clasificados como más pequeños de lo que realmente son por no contemplar un área geográfica más amplia en el estudio. Además, los grupos clasificados como pequeños cerca del final del período de estudio pueden ser realmente grandes transcurrido un tiempo mayor.

Coincidiendo con lo encontrado en nuestro estudio, se ha descrito que el uso de drogas se asocia a la pertenencia a conglomerados moleculares (Ellis et al., 2002; van Soolingen et al., 1999; Smith et al., 2017). Dos estudios de revisión sistemática y metanálisis mostraron como importantes factores de riesgo, además del uso de drogas, a: abuso en el consumo de alcohol y la carencia de hogar en poblaciones de baja incidencia de TB en el caso del primero (Fok et al., 2008) y minoría étnica, nativo del país, residente urbano, sin hogar, encarcelamiento previo, alcohol, VIH, edad joven, sexo masculino y la baciloscopía positiva en el otro estudio (Nava-Aguilera et al., 2009). A diferencia de otros estudios (Hu et al., 2011; Yang et al., 2015) el índice de masa corporal mostró diferencias significativas entre los pacientes agrupados y con patrón único de la cohorte.

En relación a la DM, no hubo diferencias significativas entre los pacientes en agrupamiento y con patrón único de RFLP-IS6110/ Spoligotyping en el estudio (32% (108/342) vs 36% (272/763), $p=0.188$). De hecho, no hemos encontrado evidencia de asociación entre la DM y la agrupación molecular de casos de TB pulmonar por medio de un estudio de revisión sistemática y metanálisis realizado

reciente (OR global=0.83 (IC 95% 0,52-1,33), $I^2=54\%$, $p=0.05$) (artículo en prensa).

El análisis geoestadístico espacial de autocorrelación, identificó claramente un área (municipio Camerino Z. Mendoza) de punto crítico espacial donde los casos de TB pertenecientes a agrupamientos genéticos se encontraban congregados espacialmente. En concordancia con la distribución de pacientes TB-DM dentro del área de punto crítico, la cual fue representada en una tendencia más franca (puntos coloreados en rojo) (figura 3) en comparación con los pacientes TB sin DM (figura 4), el análisis multivariado (tabla 5) mostró que la DM fue un factor asociado a punto crítico espacial en la cohorte de pacientes (7.04 OR, (3.03-16.38) $p<0.001$).

Los casos incluidos en el área de punto crítico geoespacial representaron el 15% del total de pacientes agrupados por RFLP-IS6110/ Spoligotyping. Por ende, esto indica que la gran mayoría de los pacientes agrupados por RFLP (85%) se encontraron fuera del área de conglomerado espacial (municipio Camerino Z. Mendoza). Prussing y cols reportaron 29% y 44% de pacientes agrupados molecularmente dentro de las dos áreas de agrupamiento geoespacial identificada en su estudio, aunque la mayoría de los conglomerados de genotipos estuvieron fuera de dichas áreas (Prussing et al., 2013). De ahí que, los autores concluyeran que la transmisión reciente no explica la mayoría de la agrupación geoespacial detectada en su estudio, lo que sugiere que la agrupación geoespacial se modifica en gran medida por los determinantes sociales (Prussing et al., 2013). Una conclusión similar podría aplicarse en los resultados aquí presentados.

4.5-Fortalezas y limitaciones del estudio

Una de las fortalezas de este estudio es haber incorporado los datos geoespaciales de los pacientes de la cohorte y lograr un análisis más integrador, destacando el papel de los pacientes con TB-DM. Además, se integró el análisis de sujetos con información molecular completa e incompleta incluyendo la variable clave del estudio (diabetes mellitus) como sustento en la interpretación de los

resultados, lo cual ha sido sugerido para el manejo de datos perdidos en estudios de epidemiología molecular (Desai et al., 2011).

Las limitaciones incluyen el uso de datos secundarios y los problemas inherentes a la calidad de los datos. Los datos de salud espacial podrían tener incertidumbre en la ubicación, aunque fueron tomados en más de una ocasión en el punto de residencia de los pacientes en el momento del diagnóstico y corroborada su validez a partir de una selección aleatoria que confrontó las direcciones registradas con la ubicación de los puntos del gps, sub-notificación y diagnóstico erróneo. No se tomaron en cuenta el control de la glucemia, las complicaciones o el tiempo de evolución de la DM. El diseño de este estudio (tipo descriptivo) no permite afirmar que haya ocurrido la transmisión de tuberculosis entre los pacientes de la cohorte con y sin diabetes mellitus en el centro de atención. Podrían existir otros sitios de concentración (v.gr.: sociales, iglesias, etc) donde se haya dado lugar la exposición. Estos hechos deben considerarse en la interpretación de los hallazgos aquí obtenidos.

4.6- Conclusiones

Se aplicó con éxito una combinación de análisis sociodemográfico, clínico, genotípico y geoespacial para estudiar la TB, demostrando así el potencial de esta estrategia en los programas de control. Se encontró asociación entre los pacientes TB-DM y la pertenencia a punto crítico geoespacial en la cohorte de estudio. Los patrones de genotipificación de cepas fueron útiles para proporcionar información sobre distribución y características epidemiológicas, que pueden aplicarse para permitir un mejor seguimiento de los pacientes y definir estrategias para la prevención de la enfermedad.

5- Discusión y conclusiones generales

En este trabajo se determinó, en primera instancia, la no asociación entre la diabetes mellitus y el agrupamiento molecular de casos de tuberculosis pulmonar en poblaciones como resultado de una revisión sistemática y metanálisis. Teniendo en cuenta la posible implicación de eventos de transmisión reciente en aquellos grupos de pacientes compartiendo un genotipo idéntico de *M. tuberculosis*, los resultados de la revisión sistemática y meta-análisis no probaron la hipótesis que identifica a la diabetes como un factor determinante en la transmisión. No obstante, es importante señalar que la aseveración de no asociación entre tuberculosis y diabetes quedó limitada debido fundamentalmente a la carencia de protocolos de estudio (con calidad metodológica) dirigidos a comprender de manera específica la interacción entre ambas enfermedades.

El vínculo entre la diabetes mellitus y el aumento del riesgo de tuberculosis ha sido reconocido desde hace ya algún tiempo (Dooley Chaisson, 2009). En la literatura se han planteado dos mecanismos principales en el riesgo asociado a tuberculosis de pacientes con diabetes mellitus: (i) el metabolismo desregulado de la glucosa presente en estos pacientes resulta en hiperglucemia y resistencia a la insulina, lo cual estimula la actividad replicativa de *M. tuberculosis* (Dooley Chaisson, 2009) y (ii) el aumento en la inflamación por macrófagos residentes en el tejido adiposo activados por ácidos grasos libres e intermedios lipídicos, asociados a la resistencia a la insulina, promueve un ambiente proinflamatorio generalizado que favorece la progresión a la enfermedad de tuberculosis (Wellen y Hotamisligil, 2005; Shoelson et al., 2006; Mao et al., 2011).

Algunos estudios han reportado que el control glucémico deficiente ($HbA1c \geq 7\%$) está asociado con un mayor riesgo de enfermedad avanzada y más grave de la tuberculosis, positividad y conversión más lenta de baciloscopias, además de un efecto negativo en la terminación de tratamiento, curación y recaídas en pacientes con tuberculosis pulmonar (Mi et al., 2013; Chiang et al., 2015; Mahishale et al., 2017).

El estimado global de casos incidentes de tuberculosis atribuibles a diabetes mellitus se ha incrementado substancialmente en los 22 países responsables del 80% de la carga global de tuberculosis (WHO, 2015): 10% en 2010 a 15% en 2013 (Lönnroth et al., 2014). Así, varios estudios han demostrado que los individuos con diabetes tienen un riesgo 3 veces mayor de tuberculosis y mayor riesgo de mortalidad, retraso en la conversión de la baciloscopía, fracaso del tratamiento y recaídas, así como desarrollo de resistencia a fármacos antifímicos (Jeon y Murray, 2008; Baker et al., 2011; Baker et al., 2012; Gil-Santana et al., 2016). Los pacientes con TB-DM también son más propensos a tener tuberculosis cavitaria (Reis-Santos et al., 2013; Gil-Santana et al., 2016). Mientras que el VIH/SIDA aumenta el riesgo de tuberculosis hasta 20 veces, la creciente prevalencia de diabetes podría tener un impacto relativamente mayor en el control de la TB en el futuro (Restrepo y Schlesinger, 2014; Lönnroth et al., 2014).

En este trabajo también se determinó que los pacientes con TB-DM involucrados en agrupamientos moleculares de la cohorte 1995-2010 de Orizaba, además se encontraron asociados significativamente al punto crítico de agregación espacial. Sin embargo, la mayoría de los pacientes con tuberculosis en conglomerados moleculares con y sin diabetes se encontraron fuera de del punto crítico espacial; por tanto, el agrupamiento molecular de casos por sí mismo no explica la agregación espacial en esta cohorte, lo cual ha sido referido en otras investigaciones (Prussing et al., 2013).

Así, se ha mostrado en este trabajo dos análisis complementarios entre sí, dirigidos a explicar la interacción TB-DM. En las limitaciones de ambos estudios se muestran las variables confusoras de importancia para un posterior análisis. Las debilidades de la literatura científica actual, que es mayoritariamente transversal y retrospectiva, contribuyen a la falta de buenos datos. Por tanto, la conclusión fundamental aquí es la necesidad de implementación de nuevos protocolos de estudios (v.gr.: estudios prospectivos de cohortes) bajo condiciones controladas que permitan esclarecer dicha interacción.

5.1- Perspectiva futura

A medida que continúe el panorama epidemiológico global con elevación de la prevalencia de diabetes y las tasas continuadas de tuberculosis en los países de bajos ingresos, podremos esperar que el número de personas con ambas enfermedades se incremente notablemente en las próximas décadas (Lönnroth et al., 2014). Al revisar la compleja relación entre la tuberculosis y la diabetes mellitus, se puede comprobar que muchos temas importantes han sido poco estudiados o no estudiados en absoluto. Aunque la tuberculosis es claramente más común en los pacientes con diabetes, el papel de estos pacientes en la transmisión de tuberculosis no ha sido aún esclarecido. Sin duda alguna, los temas de (i) la manera en la que participan los pacientes con DM en la transmisión de TB tanto en la comunidad como en contextos específicos (v.gr.: círculos sociales, prisiones, asilos para ancianos, hospitales y consultas externas), integrando variables clínicas-demográficas, epidemiológicas, molecular y geoadmétrica (espacio-temporales) y (ii) la dinámica y especificidad de la asociación hospedero-patógeno en la patogénesis de la tuberculosis y su repercusión en la transmisión en pacientes con DM, constituyen objetivos fundamentales en las investigaciones futuras sobre la interacción de estas enfermedades.

6- Referencias bibliográficas

(sección 1 Introducción general)

- Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: A systematic review. *BMC Medicine*. 2011; 9:81. <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/9/81>.
- Jenn-Tyang C, Horng-Yunn D, Chia-Liang Y, Ying-Hsun W, Ruay-Ming Y, Huey-Juan L, et al. Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Clinical Severity and Treatment Outcome in Patients With Pulmonary Tuberculosis: A Potential Role in the Emergence of Multidrug-resistance. *J Formos Med Assoc*. 2011; 110 (6): 372–381.
- Jeon CY, Murray MB. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: A systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med*. 2008; 5 (7): e152. doi:10.1371/ journal.pmed.0050152, 2008.
- Jiménez-Corona ME, Cruz-Hervert LP, García-García L, Ferreyra-Reyes L, Delgado-Sánchez G, Bobadilla-Del-Valle M, et al. Association of diabetes and tuberculosis: impact on treatment and post-treatment outcomes. *Thorax*. 2013 Mar;68(3):214-20.
- Lönnroth K, Roglic G, Harries AD. Improving tuberculosis prevention and care through addressing the global diabetes epidemic: from evidence to policy and practice. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Sep;2(9):730-9.
- Restrepo BI, Schlesinger LS. Impact of diabetes on the natural history of tuberculosis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014 Nov;106(2):191-9.
- Ruslami R. Implications of the global increase of diabetes for tuberculosis control and patient care. *Trop Med Inter Health*. 2010; 15 (11): 1289–99.
- Shariff NM, Safian N. Diabetes mellitus and its influence on sputum smear positivity at the 2nd month of treatment among pulmonary tuberculosis patients in Kuala Lumpur, Malaysia: A case control study. *International Journal of Mycobacteriology*. 2015;4(4):323-9.
- World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2015. WHO/HTM/TB/2014.22. Geneva: Switzerland. WHO Press; 2015.

(sección 2 Marco teórico)

- Abbas T, Younus M, Muhammad SA. Spatial cluster analysis of human cases of Crimean Congo hemorrhagic fever reported in Pakistan. *Infect Dis Poverty*. 2015;4:9.
- Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Nelwan EJ, Purwa AM, Ahmad Y, Ottenhoff TH, et al. The Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Presentation and Treatment Response of Pulmonary Tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2007; 45 (4): 428-35.
- American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161:1371-1395.
- Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: A systematic review. *BMC Medicine*. 2011; 9:81. <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/9/81>.
- Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, de Haas PE, van Soolingen D. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* depending on the age and sex of source cases. *Am J Epidemiol*. 2001;154:934–943.
- Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajoj SA, et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiol*. 2006; 6: 23
- Chang JT, Dou HY, Yen CL, Wu YH, Huang RM, Lin HJ, et al. Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Clinical Severity and Treatment Outcome in Patients With Pulmonary Tuberculosis: A Potential Role in the Emergence of Multidrug-resistance. *J Formos Med Assoc*. 2011; 110 (6): 372–381.
- Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 393: 537-44.
- Collins DM, de Lisle GW. DNA restriction endonuclease analysis of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* BCG. *J Gen Microbiol* 1984; 130: 1019-21.

- Collins DM, de Lisle GW. DNA restriction endonuclease analysis of *Mycobacterium bovis* and other members of the tuberculosis complex. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 562-64.
- Coscolla M, Gagnéux S. Consequences of genomic diversity in *Mycobacterium tuberculosis*. *Sem Immunology*. 2014;26:431-44.
- Crawford JT. Genotyping in contact investigations: a CDC perspective. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003;7 Suppl 3:S453-7.
- Crofton J, Horne N, Fred. *Mycobacterium tuberculosis* Clínica. 1ra Ed. Paris-Francia: Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER). 68 Boulevard Saint Michel; 1992.
- Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek LJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*. 2011;378(9785):31-40.
- de Boer AS, Borgdorff MW, de Haas PE, Nagelkerke NJ, van Embden JD, van Soolingen D. Analysis of rate of change of IS6110 RFLP patterns of *Mycobacterium tuberculosis* based on serial patient isolates. *J Infect Dis*. 1999; 180: 1238-1244.
- DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a non-parametric approach. *Biometrics*. 1988;44(3):837-45.
- Demay C, Liens B, Burguière T, Hill V, Couvin D, Millet J, et al. SITVITWEB: a publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect Genet Evol*. 2012 (feb):755-66.
- Dirección general de epidemiología (DGE)-Secretaría de salud de México (SSM). Boletín epidemiológico 2012: Diabetes Mellitus tipo 2. DGE; 2012.
- Fang Z, Forbes K. A *Mycobacterium tuberculosis* IS6110 preferential locus (ipl) for insertion into the genome. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 479-81.

- Gagnéux S. Genetic diversity in *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2013. Doi: 10.1007/82-2013-329.
- García ML, Palacios A, Ponce de León A, Jiménez Ma E, Jiménez A, Balandrano S, et al. The role of core groups in transmitting *Mycobacterium tuberculosis* in a high prevalence community in Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(1):12-7.
- Gicquel B. RFLP typing of *Mycobacterium tuberculosis* bacilli. *Tuber Lung Dis* 1993; 74: 223-4.
- Grange JM, Laszlo A. Serodiagnostic test for tuberculosis: a need for assessment of their predictive accuracy and acceptability. *Bull WHO* 1990; 68: 571-6.
- Gurjav U, Jelfs P, Hill-Cawthorne GA, Marais BJ, Sintchenko V. Genotype heterogeneity of *Mycobacterium tuberculosis* within geospatial hotspots suggests foci of imported infection in Sydney, Australia. *Infect Genet Evol*. 2016 Jun;40:346-51.
- Harrison TR, Fauci A, Braunwald E, Kasper DL. *Harrison Principios de Medicina Interna*. 16a ed. Madrid: McGraw Hill/Interamericana de España; 2005
- Hayward AC. Restriction fragment length polymorphism typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Thorax* 1995; 50: 1211-8.
- Heifets L, Good RC. Current laboratory methods for the diagnosis of tuberculosis. En: Bloom BR (ed.). *Tuberculosis: Pathogenesis, protection and control*. Washington, DC, EE.UU. ASM Press, 1994.
- Heldal E, Dahle UR, Sandven P, Caugant DA, Brattaas N, Waaler HT, Enarson DA, Tverdal A, Kongerud J. Risk factors for recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J*. 2003;22:637–642.
- Hermans PWM, van Soolingen D, Dale JW, Schwidema ARJ, MacAdam RA, Catty D, et al. Insertion element IS986 from *Mycobacterium tuberculosis*: a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2051-8.

- Hoffner SE, Svenson SB, Norberg R, Dias F, Ghebremichael S, Kallenius G. Biochemical heterogeneity of Mycobacterium tuberculosis complex isolates in Guinea-Bissau. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2215-7.
- Hoza AS, Mfinanga SG, Moser I, König B. Molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates from Tanga, Tanzania: First insight of MIRU-VNTR and microarray-based spoligotyping in a high burden country. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016 May;98:116-24.
- International Diabetes Federation (IDF). *IDF Diabetes Atlas*. 6 ed. 2013. Disponible en: www.idf.org/diabetes.
- International Diabetes Federation (IDF). *IDF Diabetes Atlas*. 7 ed. 2015. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>.
- Iñigo J, García de Viedma D, Arce A, Palenque E, Alonso Rodríguez N, Rodríguez E, Ruiz Serrano MJ, Andrés S, Bouza E, Chaves F. Analysis of changes in recent tuberculosis transmission patterns after a sharp increase in immigration. *J Clin Microbiol*. 2007;45:63–69.
- Jacobsen M, Repsilber D, Gutschmidt A, Neher A, Feldmenn K, Ziegler A, et al. Candidate biomarkers for discrimination between infection and disease caused by Mycobacterium tuberculosis. *J Mol Med*. 2007; 85(6): 613-21.
- Jagielski T, van Ingen J, Rastogi N, Dziadek J, Mazur PK, Bielecki J. Current methods in the molecular typing of Mycobacterium tuberculosis and other mycobacteria. *Biomed Res Intern*. 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/645802>.
- Jeon CY, Murray MB. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: A systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med*. 2008; 5 (7): e152. doi:10.1371/ journal.pmed.0050152, 2008.
- Jiménez-Corona ME, Cruz-Hervert LP, García-García L, Ferreyra-Reyes L, Delgado-Sánchez G, Bobadilla-Del-Valle M, et al. Association of diabetes and tuberculosis: impact on treatment and post-treatment outcomes. *Thorax*. 2013 Mar;68(3):214-20.

- Jones Jr WD. Phage typing of Mycobacterium tuberculosis cultures from incidents of suspected laboratory cross-contamination. *Tubercle* 1988; 69: 43-46.
- Kiers A, Drost AP, van Soolingen D, Veen J. Use of DNA fingerprinting in international source case finding during a large outbreak of tuberculosis in the Netherlands. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997; 1: 239-45.
- Kik SV, Verver S, van Soolingen D, de Haas PE, Cobelens FG, Kremer K, et al. Tuberculosis outbreaks predicted by characteristics of first patients in a DNA fingerprint cluster. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(1):96-104.
- Kreiswirth BN, Mathema B, Kurepina NE, Bifani BJ. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(4): 658-85.
- Lambregts-van weezenbeek CSB, Siebek MM, van Gerven PSH, de Vries G, Server S, Kalisvaart NA, et al. Tuberculosis contact investigation and DNA fingerprint surveillance in The Netherlands: 6 years' experience with nationwide cluster feedback and cluster monitoring. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003;7 Suppl 3:S463-70.
- Lee SS, Wong NS. The clustering and transmission dynamics of pandemic influenza A (H1N1) 2009 cases in Hong Kong. *J Infect*. 2011;63(4):274–80.
- Li XX, Wang LX, Zhang J, Liu YX, Zhang H, Jiang SW, et al. Exploration of ecological factors related to the spatial heterogeneity of tuberculosis prevalence in P. R. China. *Glob Health Action*. 2014;7:23620.
- Martínez N, Kornfeld H. Diabetes and immunity to tuberculosis. *Eur J Immunol*. 2014; 44: 617-26.
- Masjedi MR, Baghaei P, Marjani M, Javanmard P, Tabarsi P. Diabetes mellitus and tuberculosis facts and controversies. *J Diabetes Metabolic Disorders*. 2013; 12:58. <http://www.jdmonline.com/content/12/1/58>.
- Niazi AK, Kalra S. Diabetes and tuberculosis: a review of the role of optimal glycemic control. *J Diabetes Metabol Disorders*. 2012; 11:28. <http://www.jdmdonline.com/content/11/1/28>.
- Nunes C. Tuberculosis incidence in Portugal: Spatio temporal clusterong. *Int J Health Geogr*. 2007;6:30.

- Nunes-Alves C, Booty MG, Carpenter SM, Jayaraman P, Rothchild AC, Behar SM. In search of a new paradigm for protective immunity to TB. *Nat Rev Microbiol.* 2014;12(4):289-99. doi: 10.1038/nrmicro3230.
- Onozuka D, Hagihara A. Geographic prediction of tuberculosis in Fukuoka, Japan, Using space time scan statistics. *BMC Infectious Diseases.* 2007;7:26.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Manual para el diagnóstico de la Tuberculosis: Normas y guía técnica. Washington, DC: OPS; 2008.
- Organización panamericana de la salud (OPS)/ Área de análisis de salud y sistemas de información (AIS). Sistema de información geográfica en epidemiología y salud pública: manual de usuario. Washington, DC.: OPS; 2002.
- Palomino JC. Newer diagnostics for tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2006; 12(3):172-8.
- Ponce-de-León A, García-García ML, García-Sancho MC, Gómez-Pérez FJ, Valdespino-Gómez JL, Olaiz-Fernández G, et al. Tuberculosis and diabetes in southern México. *Diabetes Care.* 2004; 27 (7):1584-90.
- Restrepo BI, Schlesinger LS. Impact of diabetes on the natural history of tuberculosis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Nov;106(2):191-9.
- Reves R, Blakey D, Snider DE, Farer LS. Transmission of multidrug-resistant tuberculosis: report of a school and community outbreak. *Am J Epidemiol* 1981; 113: 423-35.
- Rodríguez J. Tuberculosis: definición y patogenia [internet]. Montevideo: comisión honoraria para la lucha antituberculosa y enfermedades prevalentes (CHLAEP); 2012 [citado 11 de enero de 2013]. Disponible en: <http://www.chalep.org.uy>.
- Ross BC, Raios K, Jackson K y Dwyer B. Molecular cloning of a highly repeated DNA element from *Mycobacterium tuberculosis* and its use as an epidemiological tool. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 942-6.
- Ruslami R. Implications of the global increase of diabetes for tuberculosis control and patient care. *Trop Med Inter Health.* 2010; 15 (11): 1289–99.

- Sêbek M. DNA fingerprinting and contact investigation. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4:S45-8.
- Shariff NM, Safian N. Diabetes mellitus and its influence on sputum smear positivity at the 2nd month of treatment among pulmonary tuberculosis patients in Kuala Lumpur, Malaysia: A case control study. *International Journal of Mycobacteriology*. 2015;4(4):323-9.
- Shekhar S, Xiong H, editores. *Encyclopedia of GIS*. New York: Springer Science+Business Media, LLC; 2008.
- Singh M, Espitia C. Immunological diagnosis. En: Palomino JC, Cardoso-Leao S, Ritacco V, editores. *Tuberculosis 2007: from basic science to patient care*. Proofreading: Emma Raderschadt; 2007. p.425-40.
- Singla R, Khan N, Al-Sharif N, Ai-Sayegh MO, Shaikh MA, Osman MM. Influence of diabetes on manifestations and treatment outcome of pulmonary TB patients. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006; 10 (1): 74-79.
- Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, Schechter GF, Daley CL, Schoolnik GK. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med*. 1994;330:1703–1709.
- Small PM, van Embden JDA. Molecular epidemiology of tuberculosis. En: Bloom BR, ed. *Tuberculosis: Pathogenesis, protection and control*. Washington D.C: American Society for Microbiology, 1994: 569-82.
- Smith PG, Moss AR. Epidemiology of Tuberculosis. En: Bloom BR, editors. *Tuberculosis: Pathogenesis, protection and control*. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 1994. p. 47-57.
- Snider DE, Jones WD, Good RC. The usefulness of phage typing *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Am Rev Respir Dis* 1994; 130: 1095-9
- Sun W, Gong J, Zhou J, Zhao Y, Tan J, Ibrahim AN, et al. A spatial, social and environmental study of tuberculosis in China using statistical and GIS technology. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(2):1425–48.

- Tapia R, Sarti E, Kuri P, Ruiz-Matus C, Velázquez O, Álvarez C, et al. Diabetes. En: Tapia R, editor. El manual de salud pública. México: intersistemas. 2006. p 555-97.
- Thierry D, Brisson NA, Levy-Fréubault VV, Nguyen S, Guesdon JL, Gicquel B. Characterization of a Mycobacterium tuberculosis insertion sequence, IS6110 and its application in diagnostic. J Clin Microbiol. 1990; 28: 2668-73.
- Tiwari N, Adhikar CMS, Tewari A, Kandpal V. Investigation of geo-spatial hotspots for the occurrence of tuberculosis in Almora district, India, using GIS and spatial scan statistic. Int J Health Geogr. 2006;5:33.
- Touray K, Adetifa IM, Jallow A, Rigby J, Jeffries D, Cheung YB, et al. Spatial analysis of tuberculosis in an Urban West African setting: is there evidence of clustering? Trop Med Int Health. 2010;15(6):664-672.
- Ukwaja KN, Alobu I, Abimbola S, Hopewell PC. Household catastrophic payments for tuberculosis care in Nigeria: incidence, determinants, and policy implications for universal health coverage. Infect Dis Poverty. 2013;2(1):21.
- van Embden JDA, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardised methodology. J Clin Microbiol 1993; 31: 406-9.
- van Soolingen D, Kremer K, Hermans P. Molecular epidemiology: breakthrough achievements and future prospects. En: Palomino JC, Cardoso-Leao S, Ritacco V, editores. Tuberculosis 2007: from basic science to patient care. Proofreading: Emma Raderschadt; 2007. p.315-40.
- van Soolingen D. Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements. J Intern Med. 2001; 249: 1-26.
- Varaine F, Hensens M, Grouzard V. Tuberculosis. 5a ed. París: Medecins Sans Frontières; 2010.
- Varga C, Pearl DL, McEwen SA, Sargeant JM, Pollari F, Guerin MT. Area-level global and local clustering of human Salmonella Enteritidis infection rates in the city of Toronto, Canada, 2007-2009. BMC Infect Dis. 2015;15:359.

- Varnerot A, Clement F, Gheorghin M, Levy-Frébault VV. Pulse field gel electrophoresis of representative of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium bovis BCG strains. FEMS Microbiol Letters 1992; 98: 155-60.
- Vynnycky E, Nagelkerke N, Borgdorff MW, van Soolingen D, van Embden JDA, Fine PEM. The effect of age and study duration on the relationship between clustering of DNA fingerprint patterns and the proportion of tuberculosis disease attributable to recent transmission. Epidemiol Infect. 2001;126:43–62.
- Warren RM, van der Spuy GD, Richardson M, Beyers N, Borgdorff MW, Behr MA, et al. Calculation of stability of the IS6110 banding pattern in patients with persistent Mycobacterium tuberculosis disease. J Clin Microbiol. 2002;40:1705-8.
- Watterson SA, Drobniowski FA. Modern laboratory diagnosis of mycobacterial infections. J Clin Pathol. 2000; 53: 727-732.
- World Health Organization (WHO). Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO report 2009 (Publication no. WHO/HTM/TB/2009.411.). Geneva: WHO; 2009.
- World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2014. WHO/HTM/TB/2014.08. Geneva: Switzerland. WHO Press; 2014.
- World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2015. WHO/HTM/TB/2014.22. Geneva: Switzerland. WHO Press; 2015.
- World Health Organization (WHO). Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test: technical and operational “How-to”: practical considerations. Geneva: WHO; 2011.
- World health organization [internet]. WHO; 2016. Health topics; [1 pantalla aprox]. Disponible en: www.who.int/topics/geographic_information_systems/en
- Zhang Y, Mazurek GH, Cave DM, Eisenach KD, Pang Y, Murphy DT y Wallace Jr RJ. DNA polymorphisms in strains of Mycobacterium tuberculosis analyzed by pulsed field gel electrophoresis: a tool for epidemiology. J Clin Microbiol 1992; 30: 1551-6.

- Zou B, Peng F, Wan N, Mamady K, Wilson GJ. Spatial cluster detection of air pollution exposure inequities across the United States. *PLoS One*. 2014;9(3):e91917.

(sección 3 estudio I)

- Alavi SM, Khoshkho MM, Salmanzadeh S, Eghtesad M. Comparison of epidemiological, clinical, laboratory and radiological features of hospitalized diabetic and non-diabetic patients with pulmonary tuberculosis at razi hospital in ahvaz. *Jundishapur journal of microbiology*. 2014;7(9):e12447.
- Almeida-Junior JL, Gil-Santana L, Oliveira CA, Castro S, Cafezeiro AS, Daltro C, et al. Glucose Metabolism Disorder Is Associated with Pulmonary Tuberculosis in Individuals with Respiratory Symptoms from Brazil. *PLoS One*. 2016 Apr 14;11(4):e0153590
- Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: A systematic review. *BMC Medicine*. 2011; 9:81. <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/9/81>.
- Begg C B, Mazumdar M. Operating characteristics of a Rank correlation test for publication bias. *Biometrics*. 1994 Dec;50(4):1088–1101.
- Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, de Haas PE, van Soolingen D. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* depending on the age and sex of source cases. *Am J Epidemiol*. 2001;154:934–943.
- Borgdorff MW, van Soolingen D. The re-emergence of tuberculosis: what have we learnt from molecular epidemiology? *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2013;19(10):889-901.
- Borrell S, Espanol M, Orcau A, Tudo G, March F, Cayla JA, et al. Tuberculosis transmission patterns among Spanish-born and foreign-born populations in the city of Barcelona. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2010;16(6):568-74.

- Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinge WM, Gori A, Al-Hajj SA, et al. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. BMC Microbiol. 2006; 6: 23
- Chang JT, Dou HY, Yen CL, Wu YH, Huang RM, Lin HJ, et al. Effect of type 2 diabetes mellitus on the clinical severity and treatment outcome in patients with pulmonary tuberculosis: a potential role in the emergence of multidrug-resistance. Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi. 2011;110(6):372-81.
- Chen KS, Liu T, Lin RR, Peng YP, Xiong GC. Tuberculosis transmission and risk factors in a Chinese antimony mining community. Int J Tuberc Lung Dis. 2016 Jan;20(1):57-62.
- Chiang CY, Bai KJ, Lin HH, Chien ST, Lee JJ, Enarson DA, et al. The influence of diabetes, glycemic control, and diabetes-related comorbidities on pulmonary tuberculosis. PLoS One. 2015 Mar 30;10(3):e0121698.
- Coker R, McKee M, Atun R, Dimitrova B, Dodonova E, Kuznetsov S, et al. Risk factors for pulmonary tuberculosis in Russia: case-control study. BMJ. 2006;332(7533):85-7.
- Comprehensive meta-analysis [internet]. Englewood, New Jersey: Biostat, inc, c2006-2016 [actualizado 1 de marzo 2016; citado 29 de marzo de 2016]. CMA Academic v.3; [1 pantalla aprox]. Disponible en: https://www.meta-analysis.com/pages/academic_rates.php.
- Dawson P, Perri BR, Ahuja SD. High Tuberculosis Strain Diversity Among New York City Public Housing Residents. American journal of public health. 2016;106(3):563-8.
- de Beer JL, van Ingen J, de Vries G, Erkens C, Sebek M, Mulder A, et al. Comparative study of IS6110 restriction fragment length polymorphism and variable-number tandem-repeat typing of Mycobacterium tuberculosis isolates in the Netherlands, based on a 5-year nationwide survey. J Clin Microbiol. 2013;51(4):1193-8. doi: 10.1128/JCM.03061-12.

- Delgado-Sánchez G, García-García L, Castellanos-Joya M, Cruz-Hervert P, Ferreyra-Reyes L, Ferreira-Guerrero E, et al. Association of Pulmonary Tuberculosis and Diabetes in Mexico: Analysis of the National Tuberculosis Registry 2000-2012. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129312.
- DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. 1986 Sep;7(3):177–188.
- Devi KR, Bhutia R, Bhowmick S, Mukherjee K, Mahanta J, Narain K. Genetic Diversity of Mycobacterium tuberculosis Isolates from Assam, India: Dominance of Beijing Family and Discovery of Two New Clades Related to CAS1_Delhi and EAI Family Based on Spoligotyping and MIRU-VNTR Typing. *PLoS one*. 2015;10(12):e0145860.
- Diab HM, Nakajima C, Kotb SA, Mokhtar A, Khder NF, Abdelaal AS, et al. First insight into the genetic population structure of Mycobacterium tuberculosis isolated from pulmonary tuberculosis patients in Egypt. *Tuberculosis*. 2016;96:13-20.
- Dobler CC, Flack JR, Marks GB. Risk of tuberculosis among people with diabetes mellitus: an Australian nationwide cohort study. *BMJ open*. 2012;2(1):e000666.
- Egger M, Smith G D, Phillips A N. Meta-analysis: principles and procedures. *BMJ*. 1997 Dec 6;315(7121): 1533–1537 (a).
- Egger M, Smith GD, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *British Medical Journal*. 1997 Sep 13;315(7109):629–634 (b).
- Fok A, Numata Y, Schulzer M, FitzGerald MJ. Risk factors for clustering of tuberculosis cases: a systematic review of population-based molecular epidemiology studies. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2008 May;12(5):480-92.
- García ML, Palacios A, Ponce de León A, Jiménez Ma E, Jiménez A, Balandrano S, et al. The role of core groups in transmitting Mycobacterium tuberculosis in a high prevalence community in Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(1):12-7.

- Geng E, Kreiswirth B, Driver C, Li J, Burzynski J, DellaLatta P, et al. Changes in the transmission of tuberculosis in New York City from 1990 to 1999. *The New England journal of medicine*. 2002;346(19):1453-8.
- González Díaz A, Battaglioli T, Díaz Rodríguez R, Goza Valdés R, González Ochoa E, Van der Stuyft P. Molecular epidemiology of tuberculosis in Havana, Cuba, 2009. *Trop Med Int Health*. 2015 Nov;20(11):1534-1542.
- Gurjav U, Jelfs P, Hill-Cawthorne GA, Marais BJ, Sintchenko V. Genotype heterogeneity of *Mycobacterium tuberculosis* within geospatial hotspots suggests foci of imported infection in Sydney, Australia. *Infect Genet Evol*. 2016 Jun;40:346-51.
- Harries AD, Kumar AMV, Satyanarayana S, Lin Y, Zachariah R, Lönnroth K, et al. Diabetes mellitus and tuberculosis: programmatic management issues. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015;19(8):879-86.
- Harries AD, Lin Y, Satyanarayana S, Lönnroth K, Li L, Wilson N, et al. The looming epidemic of diabetes-associated tuberculosis: learning lessons from HIV-associated tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011 Nov;15(11):1436-44.
- Harrison TR, Fauci A, Braunwald E, Kasper DL. *Harrison Principios de Medicina Interna*. 16a ed. Madrid: McGraw Hill/Interamericana de España; 2005
- Heldal E, Dahle UR, Sandven P, Caugant DA, Brattaas N, Waaler HT, Enarson DA, Tverdal A, Kongerud J. Risk factors for recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J*. 2003;22:637–642.
- Hernández-Garduño E, Kunimoto D, Wang L, Rodrigues M, Elwood RK, Black W, Mak S, FitzGerald JM. Predictors of clustering of tuberculosis in Greater Vancouver: a molecular epidemiologic study. *CMAJ*. 2002 Aug 20;167(4):349-52.
- Higgins JPT, Green S (editores). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions v.5.1.0*. [actualizado marzo 2011]. The Cochrane collaboration, 2011. Disponible en: www.cochrane-handbook.org.
- Hoza AS, Mfinanga SG, Moser I, König B. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Tanga, Tanzania: First insight of

- MIRU-VNTR and microarray-based spoligotyping in a high burden country. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016 May;98:116-24.
- Hu Y, Mathema B, Zhao Q, Zheng X, Li D, Jiang W, et al. Comparison of the socio-demographic and clinical features of pulmonary TB patients infected with sub-lineages within the W-Beijing and non-Beijing *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2016;97:18-25.
 - Huang CC, Tchetgen ET, Becerra MC, Cohen T, Hughes KC, Zhang Z, et al. The effect of HIV-related immunosuppression on the risk of tuberculosis transmission to household contacts. *Clin Infect Dis*. 2014 Mar;58(6):765-74.
 - International Diabetes Federation (IDF). *IDF Diabetes Atlas*. 6 ed. 2013. Disponible en: www.idf.org/diabetes.
 - International Diabetes Federation (IDF). *IDF Diabetes Atlas*. 7 ed. 2015. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>.
 - IntHout J, Ioannidis JP, Borm GF. The Hartung-Knapp-Sidik-Jonkman method for random effects meta-analysis is straightforward and considerably outperforms the standard DerSimonian-Laird method. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14:25. doi: 10.1186/1471-2288-14-25.
 - Iñigo J, García de Viedma D, Arce A, Palenque E, Alonso Rodríguez N, Rodríguez E, Ruiz Serrano MJ, Andrés S, Bouza E, Chaves F. Analysis of changes in recent tuberculosis transmission patterns after a sharp increase in immigration. *J Clin Microbiol*. 2007;45:63–69.
 - Jagielski T, Brzostek A, van Belkum A, Dziadek J, Augustynowicz-Kopec E, Zwolska Z. A close-up on the epidemiology and transmission of multidrug-resistant tuberculosis in Poland. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2015;34(1):41-53.
 - Jagielski T, van Ingen J, Rastogi N, Dziadek J, Mazur PK, Bielecki J1. Current methods in the molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* and other micobacteria. *Biomed Res Int*. 2014;2014:645802. doi: 10.1155/2014/645802.
 - Jenn-Tyang C, Horng-Yunn D, Chia-Liang Y, Ying-Hsun W, Ruay-Ming Y, Huey-Juan L, et al. Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Clinical Severity

- and Treatment Outcome in Patients With Pulmonary Tuberculosis: A Potential Role in the Emergence of Multidrug-resistance. *J Formos Med Assoc.* 2011; 110 (6): 372–381.
- Jeon CY, Murray MB, Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: A systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med.* 2008; 5 (7): e152. doi:10.1371/ journal.pmed.0050152, 2008.
 - Jiménez-Corona ME, Cruz-Hervert LP, García-García L, Ferreyra-Reyes L, Delgado-Sánchez G, Bobadilla-Del-Valle M, et al. Association of diabetes and tuberculosis: impact on treatment and post-treatment outcomes. *Thorax.* 2013 Mar;68(3):214-20.
 - Kanamori H, Hatakeyama T, Uchiyama B, Weber DJ, Takeuchi M, Endo S, et al. Clinical and molecular epidemiological features of tuberculosis after the 2011 Japan earthquake and tsunami. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 2016;20(4):505-14.
 - Kik SV, Verver S, van Soolingen D, de Haas PE, Cobelens FG, Kremer K, et al. Tuberculosis outbreaks predicted by characteristics of first patients in a DNA fingerprint cluster. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2008;178(1):96-104.
 - Kozinska M, Zientek J, Augustynowicz-Kopec E, Zwolska Z, Kozielski J. Transmission of tuberculosis among people living in the border areas of Poland, the Czech Republic, and Slovakia. *Pol Arch Med Wewn.* 2016 Feb 4;126(1-2):32-40.
 - Li Y, Cao X, Li S, Wang H, Wei J, Liu P, et al. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Hebei, China: genotypes and drug susceptibility phenotypes. *BMC infectious diseases.* 2016;16(1):107.
 - Lönnroth K, Roglic G, Harries AD. Improving tuberculosis prevention and care through addressing the global diabetes epidemic: from evidence to policy and practice. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014 Sep;2(9):730-9.
 - Martínez N, Kornfeld H. Diabetes and immunity to tuberculosis. *Eur J Immunol.* 2014; 44: 617-26.

- Middelkoop K, Mathema B, Myer L, Shashkina E, Whitelaw A, Kaplan G, et al. Transmission of tuberculosis in a South African community with a high prevalence of HIV infection. *J Infect Dis.* 2015 Jan 1;211(1):53-61.
- Morcillo N, Zumarraga M, Imperiale B, Di Giulio B, Chirico C, Kuriger A, et al. Tuberculosis transmission of predominant genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in northern suburbs of Buenos Aires city region. *Revista Argentina de microbiologia.* 2007;39(3):145-50.
- Murase Y, Maeda S, Yamada H, Ohkado A, Chikamatsu K, Mizuno K, et al. Clonal expansion of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis, Japan. *Emerging infectious diseases.* 2010;16(6):948-54.
- Nava-Aguilera E, Andersson N, Harris E, Mitchell S, Hamel C, Shea B, et al. Risk factors associated with recent transmission of tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009 Jan;13(1):17-26.
- Nogueira CL, Prim RI, Senna SG, Rovaris DB, Maurici R, Rossetti ML, Couvin D, Rastogi N, Bazzo ML. First insight into the molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in Santa Catarina, southern Brazil. *Tuberculosis (Edinb).* 2016 Mar;97:57-64.
- Outhred AC, Holmes N, Sadsad R, Martinez E, Jelfs P, Hill-Cawthorne GA, Gilbert GL, Marais BJ, Sintchenko V. Identifying Likely Transmission Pathways within a 10-Year Community Outbreak of Tuberculosis by High-Depth Whole Genome Sequencing. *PLoS One.* 2016 Mar 3;11(3):e0150550.
- Peñuelas-Urquides K, Martínez-Rodríguez HG, Enciso-Moreno JA, Molina-Salinas GM, Silva-Ramírez B, Padilla-Rivas GR, et al. Correlations between major risk factors and closely related *Mycobacterium tuberculosis* isolates grouped by three current genotyping procedures: a population-based study in northeast Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014 Sep;109(6):814-9.
- Perez A, Brown HS, 3rd, Restrepo BI. Association between tuberculosis and diabetes in the Mexican border and non-border regions of Texas. *The American journal of tropical medicine and hygiene.* 2006;74(4):604-11.
- Pérez-Lago L, Herranz M, Comas I, Ruiz-Serrano MJ, López Roa P, Bouza E, García-de-Viedma D. Ultrafast Assessment of the Presence of a High-Risk

- Mycobacterium tuberculosis Strain in a Population. *J Clin Microbiol.* 2016 Mar;54(3):779-81.
- Pigott T. *Advances in meta-analysis.* New York: Springer; 2012.
 - Ponce-de-León A, García-García ML, García-Sancho MC, Gómez-Pérez FJ, Valdespino-Gómez JL, Olaiz-Fernández G, et al. Tuberculosis and diabetes in southern México. *Diabetes Care.* 2004; 27 (7):1584-90.
 - Rastogi N, Demay C, Liens B, Burguière T, Hill V, Couvin D, et al. SITVITWEB: a publicly available international multimarker database for studying Mycobacterium tuberculosis genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect Genet Evol.* 2012 (feb):755-66.
 - Restrepo BI, Camerlin AJ, Rahbar MH, Wang W, Restrepo MA, Zarate I, et al. Cross-sectional assessment reveals high diabetes prevalence among newly-diagnosed tuberculosis cases. *Bulletin of the World Health Organization.* 2011;89(5):352-9.
 - Restrepo BI, Schlesinger LS. Impact of diabetes on the natural history of tuberculosis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Nov;106(2):191-9.
 - Ruslami R. Implications of the global increase of diabetes for tuberculosis control and patient care. *Trop Med Inter Health.* 2010; 15 (11): 1289–99.
 - Shabbeer A, Ozcaglar C, Yener B, Bennett KP. Web tools for molecular epidemiology of tuberculosis. *Infect Genet Evol.* 2012;12(4):767-81.
 - Shariff NM, Safian N. Diabetes mellitus and its influence on sputum smear positivity at the 2nd month of treatment among pulmonary tuberculosis patients in Kuala Lumpur, Malaysia: A case control study. *International Journal of Mycobacteriology.* 2015;4(4):323-9.
 - Singla R, Khan N, Al-Sharif N, Ai-Sayegh MO, Shaikh MA, Osman MM. Influence of diabetes on manifestations and treatment outcome of pulmonary TB patients. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006; 10 (1): 74-79.
 - Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, Schechter GF, Daley CL, Schoolnik GK. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med.* 1994;330:1703–1709.

- Small PM, van Embden JDA. Molecular epidemiology of tuberculosis. En: Bloom BR, ed. Tuberculosis: Pathogenesis, protection and control. Washington D.C: American Society for Microbiology, 1994: 569-82.
- Stavrum R, PrayGod G, Range N, Faurholt-Jepsen D, Jeremiah K, Faurholt-Jepsen M, et al. Increased level of acute phase reactants in patients infected with modern Mycobacterium tuberculosis genotypes in Mwanza, Tanzania. BMC infectious diseases. 2014;14:309.
- Suwanpimolkul G, Grinsdale JA, Jarlsberg LG, Higashi J, Osmond DH, Hopewell PC, et al. Association between diabetes mellitus and tuberculosis in United States-born and foreign-born populations in San Francisco. PloS one. 2014;9(12):e114442.
- Talarico S, Ijaz K, Zhang X, Mukasa LN, Zhang L, Marrs CF, et al. Identification of factors for tuberculosis transmission via an integrated multidisciplinary approach. Tuberculosis (Edinb). 2011 May;91(3):244-9.
- The World Bank (WB). Incidence of tuberculosis. Disponible en: <http://data.worldbank.org/indicator/SH.TBS.INCD>. Actualizado en junio, 2016.
- Tian PW, Wang Y, Shen YC, Chen L, Wan C, Liao ZL, et al. Different risk factors of recurrent pulmonary tuberculosis between Tibetan and Han populations in Southwest China. European review for medical and pharmacological sciences. 2014;18(10):1482-6.
- van Crevel CR, Alisjahbana B; Sahiratmadja E; Nelwan EJ.; Maya PA; Ahmad Y; et al. The Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Presentation and Treatment Response of Pulmonary Tuberculosis. Clin Infect Dis. 2007; 45 (4): 428-35.
- van Soolingen D, Borgdorff MW, De Haas PEW, Sebek MMGG, Veen J, Dessens M, Kremer K, van Embden JDA. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997. J Infect Dis. 1999;180:726–736.
- Varma-Basil M, Kumar S, Arora J, Angrup A, Zozio T, Banavaliker JN, et al. Comparison of spoligotyping, mycobacterial interspersed repetitive units typing and IS6110-RFLP in a study of genotypic diversity of Mycobacterium

- tuberculosis in Delhi, North India. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106(5):524-35.
- Vynnycky E, Nagelkerke N, Borgdorff MW, van Soolingen D, van Embden JDA, Fine PEM. The effect of age and study duration on the relationship between clustering of DNA fingerprint patterns and the proportion of tuberculosis disease attributable to recent transmission. *Epidemiol Infect*. 2001;126:43–62.
 - Wang Q, Lau SK, Liu F, Zhao Y, Li HM, Li BX, et al. Molecular epidemiology and clinical characteristics of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in a tuberculosis referral hospital in China. *PLoS one*. 2014;9(10):e110209.
 - World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2015. WHO/HTM/TB/2014.22. Geneva: Switzerland. WHO Press; 2015.
 - Yang C, Shen X, Peng Y, Lan R, Zhao Y, Long B, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in China: a population-based molecular epidemiologic study. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015;61(2):219-27.
 - Yuen CM, Kammerer JS, Marks K, Navin TR, France AM. Recent Transmission of Tuberculosis-United States, 2011-2014. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153728. doi: 10.1371/journal.pone.0153728.
 - Zetola NM, Modongo C, Moonan PK, Click E, Oeltmann JE, Shepherd J, et al. Protocol for a population-based molecular epidemiology study of tuberculosis transmission in a high HIV-burden setting: the Botswana Kopanyo study. *BMJ Open*. 2016 May 9;6(5):e010046. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010046.

(sección 4 estudio II)

- Anselin L, Syabri I, Kho Y. GeoDa: An introduction to spatial data analysis. *Geogr Anal*. 2006;38:5-22.
- Anselin L. Local Indicators of Spatial Association-LISA. *Geographical Analysis*. 1995;27(2):93-115.

- Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: A systematic review. *BMC Medicine*. 2011;9:81.<http://www.biomedcentral.com/1741-7015/9/81>.
- Barlow RE, Gascoyne-Binzi DM, Gillespie SH, Dickens A, Qamer S, Hawkey PM. Comparison of variable number tandem repeat and IS6110-restriction fragment length polymorphism analyses for discrimination of high- and low-copy-number IS6110 *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Journal of clinical microbiology*. 2001;39(7):2453-7.
- Bishai WR, Graham NM, Harrington S, Pope DS, Hooper N, Astemborski J, et al. Molecular and geographic patterns of tuberculosis transmission after 15 years of directly observed therapy. *JAMA*. 1998 Nov 18;280(19):1679-84.
- Borgdorff MW, Nagelkerke NJ, de Haas PE, van Soolingen D. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* depending on the age and sex of source cases. *Am J Epidemiol*. 2001;154:934–943.
- Braden CR, Templeton GL, Cave MD, Valway S, Onorato IM, Castro KG, et al. Interpretation of restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a state with a large rural population. *J Infect Dis*. 1997;175(6):1446-52.
- Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinge WM, Gori A, Al-Hajj SA, et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiol*. 2006;6:23.
- Chamie G, Wandera B, Marquez C, Kato-Maeda M, Kanya MR, Havlir DV, et al. Identifying locations of recent TB transmission in rural Uganda: a multidisciplinary approach. *Trop Med Int Health*. 2015 Apr;20(4):537-45.
- Chan-yeung M, Yeh AG, Tam CM, Kam KM, Leung CC, Yew WW, et al. Socio-demographic and geographic indicators and distribution of tuberculosis in Hong Kong: a spatial analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;9(12):1320-6.
- Chen KS, Liu T, Lin RR, Peng YP, Xiong GC. Tuberculosis transmission and risk factors in a Chinese antimony mining community. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2016;20(1):57-62. doi: 10.5588/ijtld.15.0215

- Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus: present and future perspectives. *Rev Endocrinol.* 2012;8:228-36.
- Dangisso MH, Datiko DG, Lindtjørn B. Spatio-temporal analysis of smear-positive tuberculosis in the Sidama Zone, southern Ethiopia. *PLoS one.* 2015 Jun 1;10(6):e0126369. doi: 10.1371/journal.pone.0126369.
- Delgado-Sánchez G, García-García L, Castellanos-Joya M, Cruz-Hervert P, Ferreyra-Reyes L, Ferreira-Guerrero E, et al. Association of Pulmonary Tuberculosis and Diabetes in Mexico: Analysis of the National Tuberculosis Registry 2000-2012. *PLoS One.* 2015 Jun 15;10(6):e0129312. doi: 10.1371/journal.pone.0129312.
- Demay C, Liens B, Burguière T, Hill V, Couvin D, Millet J, et al. SITVITWEB: a publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect Genet Evol.* 2012 (feb):755-66.
- 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):1239-45.
- Desai M, Kubo J, Esserman D, Terry MB. The handling of missing data in molecular epidemiology studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(8):1571-9.
- Ellis BA, Crawford JT, Braden CR, McNabb SJ, Moore M, Kammerer S; et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in a sentinel surveillance population. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(11):1197-209.
- Fok A, Numata Y, Schulzer M, FitzGerald MJ. Risk factors for clustering of tuberculosis cases: a systematic review of population-based molecular epidemiology studies. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008 May;12(5):480-92.
- Gallego B, Sintchenko V, Jelfs P, Coiera E, Gilbert GL. Three-year longitudinal study of genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in a low prevalence population. *Pathology.* 2010 Apr;42(3):267-72.

- García-García ML, Palacios A, Ponce de León A, Jiménez Ma E, Jiménez A, Balandrano S, et al. The role of core groups in transmitting *Mycobacterium tuberculosis* in a high prevalence community in Mexico. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(1):12-7.
- Geng E, Kreiswirth B, Driver C, Li J, Burzynski J, DellaLatta P, et al. Changes in the transmission of tuberculosis in New York City from 1990 to 1999. *N Engl J Med*. 2002;346(19):1453-8.
- Getis A, Ord JK. The Analysis of Spatial Association by Use of Distance Statistics. *Geographical Analysis*. 1992;24(3):189-206.
- Glynn JR, Bauer J, de Boer AS, Borgdorff MW, Fine PE, Godfrey-Faussett P, et al. Interpreting DNA fingerprint clusters of *Mycobacterium tuberculosis*. European Concerted Action on Molecular Epidemiology and Control of Tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999a;3(12):1055-60.
- 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*. 1999b;149(4):366-71.
- Gurjav U, Jelfs P, Hill-Cawthorne GA, Marais BJ, Sintchenko V. Genotype heterogeneity of *Mycobacterium tuberculosis* within geospatial hotspots suggests foci of imported infection in Sydney, Australia. *Infect Genet Evol*. 2016 Jun;40:346-51.
- Guthrie JL, Alexander DC, Marchand-Austin A, Lam K, Whelan M, Lee B, et al. Technology and tuberculosis control: the OUT-TB Web experience. *J Am Med Inform Assoc*. 2016 Sep 2.pii:ocw130. doi: 10.1093/jamia/ocw130.
- Hamblion EL, Le Menach A, Anderson LF, Lalor MK, Brown T, Abubakar I, et al. Recent TB transmission, clustering and predictors of large clusters in London, 2010-2012: results from first 3 years of universal MIRU-VNTR strain typing. *Thorax*. 2016;71(8):749-56. doi: 10.1136/thoraxjnl-2014-206608.
- Heldal E, Dahle UR, Sandven P, Caugant DA, Brattaas N, Waaler HT, Enarson DA, Tverdal A, Kongerud J. Risk factors for recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J*. 2003;22:637–642.

- Hermans PW, Messadi F, Guebrexabher H, van Soolingen D, de Haas PE, Heersma H, et al. Analysis of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia, and The Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. *J Infect Dis.* 1995;171(6):1504-13.
- Houben RM, Glynn JR. A systematic review and meta-analysis of molecular epidemiological studies of tuberculosis: development of a new tool to aid interpretation. *Trop Med Int Health.* 2009;14(8):892-909. doi: 10.1111/j.1365-3156.2009.02316.x.
- Hoza AS, Mfinanga SG, Moser I, König B. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Tanga, Tanzania: First insight of MIRU-VNTR and microarray-based spoligotyping in a high burden country. *Tuberculosis (Edinb).* 2016 May;98:116-24.
- Hu Y, Mathema B, Jiang W, Kreiswirth B, Wang W, Xu B. Transmission pattern of drug-resistant tuberculosis and its implication for tuberculosis control in eastern rural China. *PLoS One.* 2011 May 12;6(5):e19548. doi: 10.1371/journal.pone.0019548.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. XIII Censo General de Población y Vivienda 2010. INEGI, 2011.
- International Diabetes Federation (IDF). *IDF Diabetes Atlas.* 7 ed. 2015. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>.
- Iñigo J, García de Viedma D, Arce A, Palenque E, Alonso Rodríguez N, Rodríguez E, Ruiz Serrano MJ, Andrés S, Bouza E, Chaves F. Analysis of changes in recent tuberculosis transmission patterns after a sharp increase in immigration. *J Clin Microbiol.* 2007;45:63–69.
- Izumi K, Ohkado A, Uchimura K, Murase Y, Tatsumi Y, Kayebeta A, et al. Detection of Tuberculosis Infection Hotspots Using Activity Spaces Based Spatial Approach in an Urban Tokyo, from 2003 to 2011. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138831. doi: 10.1371/journal.pone.0138831.
- Jacobson LM, Garcia-Garcia ML, Hernandez-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):305-11.
- Jenn-Tyang C, Horng-Yunn D, Chia-Liang Y, Ying-Hsun W, Ruay-Ming Y, Huey-Juan L, et al. Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Clinical Severity and Treatment Outcome in Patients With Pulmonary Tuberculosis: A Potential Role in the Emergence of Multidrug-resistance. *J Formos Med Assoc*. 2011;110(6):372–381.
 - Jeon CY, Murray MB. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: A systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med*. 2008;5(7):e152. doi:10.1371/ journal.pmed.0050152, 2008.
 - Jiménez-Corona ME, Cruz-Hervert LP, García-García L, Ferreyra-Reyes L, Delgado-Sánchez G, Bobadilla-Del-Valle M, et al. Association of diabetes and tuberculosis: impact on treatment and post-treatment outcomes. *Thorax*. 2013;68(3):214-20.
 - Ko PY, Lin SD, Tu ST, Hsieh MC, Su SL, Hsu SR, et al. High diabetes mellitus prevalence with increasing trend among newly-diagnosed tuberculosis patients in an Asian population: A nationwide population-based study. *Prim Care Diabetes*. 2016;10(2):148-55. doi: 10.1016/j.pcd.2015.09.005.
 - Li XX, Wang LX, Zhang J, Liu YX, Zhang H, Jiang SW, et al. Exploration of ecological factors related to the spatial heterogeneity of tuberculosis prevalence in P. R. China. *Glob Health Action*. 2014;7:23620.
 - Mathema B, Kurepina NE, Bifani PJ, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights. *Clinical microbiology reviews*. 2006;19(4):658-85.
 - Moonan PK, Ghosh S, Oeltmann JE, Kammerer JS, Cowan LS, Navin TR. Using genotyping and geospatial scanning to estimate recent mycobacterium tuberculosis transmission, United States. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(3):458-65. doi: 10.3201/eid1803.111107.
 - Moran PA. Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika*. 1950;37(1-2):17–23.

- Nana Yakam A, Noeske J, Dambach P, Bowong S, Fono LA, Ngatchou-Wandji J. Spatial analysis of tuberculosis in Douala, Cameroon: clustering and links with socio-economic status. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014;18(3):292-7.
- Nava-Aguilera E, Andersson N, Harris E, Mitchell S, Hamel C, Shea B, et al. Risk factors associated with recent transmission of tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009 Jan;13(1):17-26.
- Nava-Aguilera E, López-Vidal Y, Harris E, Morales-Pérez A, Mitchell S, Flores-Moreno M, et al. Clustering of Mycobacterium tuberculosis cases in Acapulco: Spoligotyping and risk factors. *Clin Dev Immunol.* 2011;2011:408375. doi: 10.1155/2011/408375.
- Ng IC, Wen TH, Wang JY, Fang CT. Spatial dependency of tuberculosis incidence in Taiwan. *PloS one.* 2012;7(11):e50740.
- Ponce de Leon Rosales S, Garcia Garcia ML, Volkow Fernandez P. Initial results of a nosocomial infection surveillance program at the National Institutes of Health. *Salud publica de Mexico.* 1986;28(6):583-92.
- Ponce-de-León A, García-García ML, García-Sancho MC, Gómez-Pérez FJ, Valdespino-Gómez JL, Olaiz-Fernández G, et al. Tuberculosis and diabetes in southern México. *Diabetes Care.* 2004;27(7):1584-90.
- Prussing C, Castillo-Salgado C, Baruch N, Cronin WA. Geo-epidemiologic and molecular characterization to identify social, cultural, and economic factors where targeted tuberculosis control activities can reduce incidence in Maryland, 2004-2010. *Public Health Rep.* 2013;128 (Suppl 3):104-14.
- Reis-Santos B, Locatelli R, Horta BL, Faerstein E, Sanchez MN, Riley LW, et al. Socio-Demographic and Clinical Differences in Subjects with Tuberculosis with and without Diabetes Mellitus in Brazil - A Multivariate Analysis. *PLoS ONE.* 2013;8:e62604. doi: 10.1371/journal.pone.006260.
- Restrepo BI, Schlesinger LS. Impact of diabetes on the natural history of tuberculosis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;106(2):191-9.
- Ribeiro FK, Pan W, Bertolde A, Vinhas SA, Peres RL, Riley L, et al. Genotypic and Spatial Analysis of Mycobacterium tuberculosis Transmission in a High-

- Incidence Urban Setting. *Clin Infect Dis.* 2015;61(5):758-66. doi: 10.1093/cid/civ365.
- Ruslami R. Implications of the global increase of diabetes for tuberculosis control and patient care. *Trop Med Inter Health.* 2010;15(11):1289–99.
 - Secretaria de Salud. 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. Mexico-septiembre 27, 2005.
 - Shariff NM, Safian N. Diabetes mellitus and its influence on sputum smear positivity at the 2nd month of treatment among pulmonary tuberculosis patients in Kuala Lumpur, Malaysia: A case control study. *International Journal of Mycobacteriology.* 2015;4(4):323-9.
 - Singla R, Khan N, Al-Sharif N, Ai-Sayegh MO, Shaikh MA, Osman MM. Influence of diabetes on manifestations and treatment outcome of pulmonary TB patients. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006;10(1):74-79.
 - Small PM, Hopewell PC, Singh SP, Paz A, Parsonnet J, Ruston DC, Schechter GF, Daley CL, Schoolnik GK. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco: a population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med.* 1994;330:1703–1709.
 - Small PM, van Embden JDA. Molecular epidemiology of tuberculosis. En: Bloom BR, ed. *Tuberculosis: Pathogenesis, protection and control.* Washington D.C: American Society for Microbiology, 1994. p. 569-82.
 - Smith CM, Maguire H, Anderson C, Macdonald N, Hayward AC. Multiple large clusters of tuberculosis in London: a cross-sectional analysis of molecular and spatial data. *ERJ Open Res.* 2017 Jan 30;3(1). pii: 00098-2016. doi: 10.1183/23120541.00098-2016.
 - Sun W, Gong J, Zhou J, Zhao Y, Tan J, Ibrahim AN, et al. A spatial, social and environmental study of tuberculosis in China using statistical and GIS technology. *Int J Environ Res Public Health.* 2015;12(2):1425–48.
 - Suwanpimolkul G, Grinsdale JA, Jarlsberg LG, Higashi J, Osmond DH, Hopewell PC, et al. Association between Diabetes Mellitus and Tuberculosis in

- United States-Born and Foreign-Born Populations in San Francisco. *PLoS One*. 2014;9(12):e114442.
- Tuite AR, Guthrie JL, Alexander DC, Whelan MS, Lee B, Lam K, et al. Epidemiological evaluation of spatiotemporal and genotypic clustering of *Mycobacterium tuberculosis* in Ontario, Canada. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Oct;17(10):1322-7.
 - Ukwaja KN, Alobu I, Abimbola S, Hopewell PC. Household catastrophic payments for tuberculosis care in Nigeria: incidence, determinants, and policy implications for universal health coverage. *Infect Dis Poverty*. 2013;2(1):21.
 - van Crevel CR, Alisjahbana B; Sahiratmadja E; Nelwan EJ.; Maya PA; Ahmad Y; et al. The Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Presentation and Treatment Response of Pulmonary Tuberculosis. *Clin Infect Dis*. 2007;45(4):428-35.
 - van Deutekom H, Supply P, de Haas PE, Willery E, Hoijing SP, Locht C, et al. Molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* by mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat analysis, a more accurate method for identifying epidemiological links between patients with tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4473-9.
 - van Soolingen D, Borgdorff MW, De Haas PEW, Sebek MMGG, Veen J, Dessens M, Kremer K, van Embden JDA. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997. *J Infect Dis*. 1999;180:726–736.
 - Vynnycky E, Nagelkerke N, Borgdorff MW, van Soolingen D, van Embden JDA, Fine PEM. The effect of age and study duration on the relationship between clustering of DNA fingerprint patterns and the proportion of tuberculosis disease attributable to recent transmission. *Epidemiol Infect*. 2001;126:43–62.
 - World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2016. WHO/HTM/TB/2016.13. Geneva: Switzerland. WHO Press; 2016.
 - World Health Organization. Global health observatory data repository. Incidence data by country. WHO Press; 2017 [updated 16 de enero de 2017; 21 de enero

de 2017]; Disponible en:
<http://apps.who.int/gho/data/view.main.57040ALL?lang=en>.

- World Health Organization. Guidance on provider-initiated HIV testing and counselling in health facilities: WHO Press; 2007. Disponible en: http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/9789241595568_en.pdf.
- Wu Z, Guo J, Huang Y, Cai E, Zhang X, Pan Q, et al. Diabetes mellitus in patients with pulmonary tuberculosis in an aging population in Shanghai, China: Prevalence, clinical characteristics and outcomes. *J Diabetes Complications*. 2016;30(2):237-41. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2015.11.014.
- Wubuli A, Xue F, Jiang D, Yao X, Upur H, Wushouer Q. Socio-Demographic Predictors and Distribution of Pulmonary Tuberculosis (TB) in Xinjiang, China: A Spatial Analysis. *PLoS One*. 2015 Dec 7;10(12):e0144010. doi: 10.1371/journal.pone.0144010.
- Yang C, Shen X, Peng Y, Lan R, Zhao Y, Long B, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in China: a population-based molecular epidemiologic study. *Clin Infect Dis*. 2015;61: 219-227.
- Yuen CM, Kammerer JS, Marks K, Navin TR, France AM. Recent Transmission of Tuberculosis-United States, 2011-2014. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153728. doi: 10.1371/journal.pone.0153728.

(sección discusión y conclusiones generales)

- Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: A systematic review. *BMC Medicine*. 2011; 9:81. <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/9/81>.
- Baker MA, Lin HH, Chang HY, Murray MB. The risk of tuberculosis disease among persons with diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis*. 2012 Mar;54(6):818-25. doi: 10.1093/cid/cir939.
- Chiang CY, Bai KJ, Lin HH, Chien ST, Lee JJ, Enarson DA, et al. The influence of diabetes, glycemic control, and diabetes-related comorbidities on pulmonary tuberculosis. *PLoS One*. 2015;10(3):e0121698. doi: 10.1371/journal.pone.0121698.

- Dooley KE, Chaisson RE. Tuberculosis and diabetes mellitus: convergence of two epidemics. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(12):737-46. doi: 10.1016/S1473-3099(09)70282-8.
- Gil-Santana L, Almeida-Junior JL, Oliveira CA, Hickson LS, Daltro C, Castro S, et al. Diabetes Is Associated with Worse Clinical Presentation in Tuberculosis Patients from Brazil: A Retrospective Cohort Study. *PLoS One*. 2016 Jan 11;11(1):e0146876. doi: 10.1371/journal.pone.0146876.
- Jeon CY, Murray MB, Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: A systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med*. 2008; 5 (7): e152. doi:10.1371/ journal.pmed.0050152, 2008.
- Lönnroth K, Roglic G, Harries AD. Improving tuberculosis prevention and care through addressing the global diabetes epidemic: from evidence to policy and practice. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Sep;2(9):730-9.
- Mahishale V, Avuthu S, Patil B, Lolly M, Eti A, Khan S. Effect of Poor Glycemic Control in Newly Diagnosed Patients with Smear-Positive Pulmonary Tuberculosis and Type-2 Diabetes Mellitus. *Iran J Med Sci*. 2017 Mar;42(2):144-151.
- Mao F, Chen T, Zhao Y, Zhang C, Bai B, Zhao S, et al. Insulin resistance: a potential marker and risk factor for active tuberculosis? *Med Hypotheses*. 2011 Jul;77(1):66-8. doi: 10.1016/j.mehy.2011.03.025.
- Mi F, Tan S, Liang L, Harries AD, Hinderaker SG, Lin Y, et al. Diabetes mellitus and tuberculosis: pattern of tuberculosis, two-month smear conversion and treatment outcomes in Guangzhou, China. *Trop Med Int Health*. 2013 Nov;18(11):1379-85. doi: 10.1111/tmi.12198.
- Reis-Santos B, Locatelli R, Horta BL, Faerstein E, Sanchez MN, Riley LW, et al. Socio-Demographic and Clinical Differences in Subjects with Tuberculosis with and without Diabetes Mellitus in Brazil - A Multivariate Analysis. *PLoS ONE*. 2013;8:e62604. doi: 10.1371/journal.pone.006260.
- Restrepo BI, Schlesinger LS. Impact of diabetes on the natural history of tuberculosis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;106:191-9.

- Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006 Jul;116(7):1793-801.
- Sonnenberg P, Glynn JR, Fielding K, Murray J, Godfrey-Faussett P, Shearer S. How soon after infection with HIV does the risk of tuberculosis start to increase? A retrospective cohort study in South African gold miners. *J Infect Dis* 2005;191(2):150–158.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest.* 2005 May;115(5):1111-9.
- World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2015. WHO/HTM/TB/2014.22. Geneva: Switzerland. WHO Press; 2015.