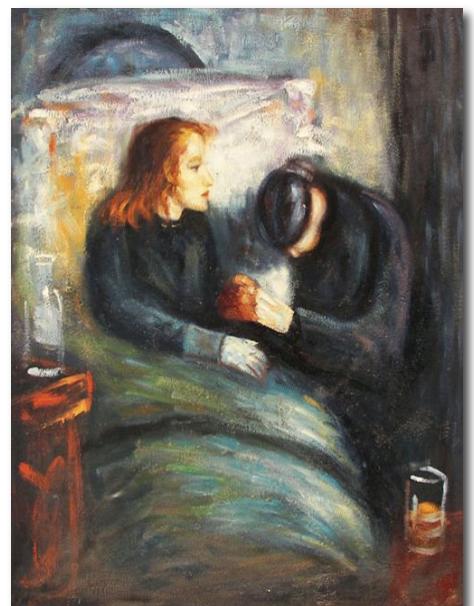
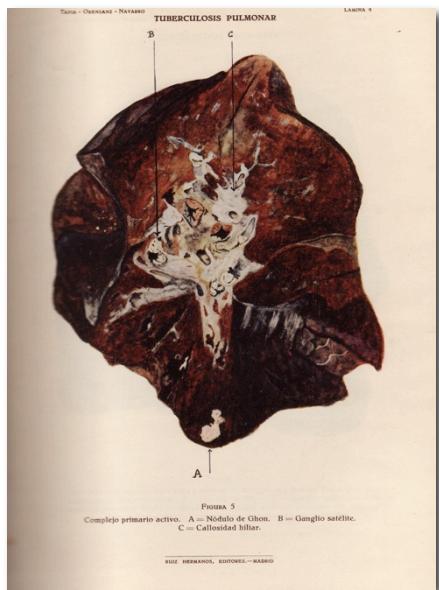


TRABAJO FIN DE GRADO

2014/2015

ESTUDIO DE CASOS DE TUBERCULOSIS EN INMIGRANTES EN EL ÁREA 3 (ZARAGOZA). DIFERENCIAS CON LA POBLACIÓN AUTÓCTONA



Ana María Carrera Noguero

Directora:

Dra. M^a Asunción Vitoria Agreda

Dpto. Microbiología, Medicina Preventiva y Salud Pública



Universidad
Zaragoza



RESUMEN:

Introducción: La incidencia de tuberculosis (TB) en la población autóctona en España continúa descendiendo, aumentando la proporción de casos en extranjeros. El objetivo de este estudio fue identificar las características diferenciales de la TB en la población inmigrante con respecto a la autóctona en el Área 3 de Zaragoza.

Métodos: Estudio descriptivo incluyendo todos los casos de TB diagnosticados durante el periodo 2004-2014 a partir de la base de datos del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Lozano Blesa e historias clínicas de los pacientes.

Resultados: De los 610 casos de TB diagnosticados, 401 son autóctonos y 209 inmigrantes. La mayoría de los pacientes inmigrantes tenían una edad comprendida entre 15 y 45 años, a diferencia de la población autóctona de mayor edad al diagnóstico. La forma clínica predominante ha sido la pulmonar en ambas poblaciones, 86% en autóctonos y 82% en inmigrantes. Las formas extrapulmonares son más frecuentes en inmigrantes y dentro de ellas la presentación osteoarticular predominó en pacientes africanos (10 de los 11 casos). Las cepas aisladas en pacientes inmigrantes presentaban mayor incidencia de resistencia a fármacos tuberculostáticos: 12% frente al 7,2% en autóctonos. 4 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* tenían genotipo Beijing, 3 de ellas aisladas en pacientes originarios de zonas con alta prevalencia de este genotipo. Así mismo se identificaron 5 cepas como *M. Africanum*, todas en pacientes africanos. De las 604 cepas aisladas, 331 presentaban agrupación en cluster: 164 cepas en 25 cluster mixtos, formados por cepas aisladas en pacientes autóctonos e inmigrantes. Esta agrupación en clusters permitió detectar transmisión reciente de cepas en brotes familiares o entre población reclusa.

Conclusiones: En el periodo 2004-2014 el 34,6% de los casos de TB se diagnosticaron en población inmigrante. La forma extrapulmonar es más frecuente en estos pacientes. Las cepas de pacientes inmigrantes presentaban mayor resistencia a tuberculostáticos, se detectaron 9 cepas MDR y ninguna XDR. La agrupación en cluster nos permite diferenciar entre casos importados o adquiridos en el país receptor. Son necesarias estrategias para un diagnóstico precoz de la TB en la población inmigrante.

PALABRAS CLAVE: Tuberculosis, Incidencia, Inmigración, Epidemiología molecular.

ABSTRACT

Introduction: The incidence of tuberculosis (TB) in the native population in Spain continues to decline, increasing the proportion of foreign cases. The aim of this study was to identify the different characteristics of TB in the immigrant population over the natives in Área 3 of Zaragoza.

Methods: A descriptive study including all TB cases diagnosed during the period 2004-2014 from the database of the Microbiology Department of the University Hospital Lozano Blesa and patients' medical records.

Results: 610 TB cases were diagnosed, 401 are native and 209 foreigners. Most foreign patients were aged between 15 and 45 years, unlike the native population older at diagnosis. The predominant clinical form was pulmonary in both populations, 86% to 82% for natives and foreigners. Extrapulmonary forms are more common among the immigrant population and within the osteoarticular presentation predominated in African patients (10 of 11 cases). The strains isolated in immigrant patients had higher incidence of resistance to antituberculosis drugs: 12% versus 7.2% in native. 4 strains of *Mycobacterium tuberculosis* had Beijing genotype, 3 of them isolated on patients from areas with high prevalence of this genotype. Also 5 strains as *M. Africanum*, were identified all in African patients. Of 604 isolates, 331 had clustering: 164 strains in 25 mixed cluster, consisting of strains isolated on native and foreigners patients. This clustering allowed to detect recent transmission of strains in family or between prison population outbreaks.

Conclusions: During the period 2004-2014 34.6% TB cases were diagnosed in foreigners. Extrapulmonary presentation is more common in these patients. Strains of immigrant patients showed increased resistance to TB drugs, 9 strains MDR and no XDR. Clustering allows us to differentiate between cases imported or acquired in the host country. Strategies for early diagnosis of TB in the foreign population are necessary.

KEYWORDS: Tuberculosis, Incidence, Immigration, Molecular epidemiology.

Los tuberculosos han dejado de ser abogados, de ser ingenieros, comerciantes, pintores, novios, insatisfechos amantes; han dejado en un sitio ya remoto la carga pesadísima de sus jamás iguales caracteres...
Ahora ya no son más que enfermos, enfermos del pecho.

Y esa boca a la que no pueda besar porque ninguna boca, y menos ésa, fuera jamás tan mala y tan ruin como para darle el castigo a mamar la muerte en mis labios, la muerte que me consume el pecho y que aflora, como una maldición, hasta mis labios [...]

Camilo José Cela, Pabellón de reposo (1943)

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Tuberculosis y su evolución histórica.....	2
1.2. Situación actual de la tuberculosis.....	3
1.3. Tuberculosis e inmigración	7
1.4. Diagnóstico de la tuberculosis.....	7
1.5. Objetivos del estudio.....	10
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
2.1. Material.....	11
– Base de datos	
– Población a estudio	
2.2. Métodos.....	12
– Procesamiento de las muestras	
– Tipado genético de las cepas	
3. RESULTADOS.....	15
4. DISCUSIÓN.....	25
5. CONCLUSIONES.....	28
6. BIBLIOGRAFÍA.....	29
7. ANEXO 1: Gráficos OMS.....	32
8. ANEXO 2: Tabla resumen artículos.....	33

1.INTRODUCCIÓN:

1.1.- TUBERCULOSIS Y SU EVOLUCIÓN HISTÓRICA

Consunción, tisis, mal del rey, peste o plaga blanca, lupus vulgaris, y tisis son algunos de los nombres más diversos de la tuberculosis que se han utilizado en el largo devenir de su historia.

Fue descrita por Hipócrates (400 A. C.), en *Las Epidemias* y fue claramente documentado por Claudio Galeno durante el Imperio Romano. Los griegos la denominarán *phthineim* (tisis) y los romanos la nombrarán *consumptio* (consunción), ambos términos con el mismo sentido de gran deterioro físico¹.

Del mismo modo ha sido inmortalizada más recientemente por artistas como John Keats, DH Lawrence, Anton Chéjov, Emily Brönte, Franz Kafka, y Frederick Chopin, todos los cuales estaban afectados por la enfermedad. En 1882, Robert Koch realizó el descubrimiento histórico de su agente causal: *Mycobacterium tuberculosis* fundamental para su conocimiento². La tuberculosis no ocasionó grandes epidemias hasta que los seres humanos no se organizaron en comunidades muy pobladas. Inicialmente fue la aventura colonial el principal factor que contribuyó a su diseminación³, aunque posteriormente han sido las desigualdades económicas entre los diferentes países las que han configurado una distribución muy heterogénea a escala mundial⁴.

Han tenido que transcurrir diecinueve siglos de nuestra era, para que se descubrieran los dos hechos que mejor la definen: el granuloma que es la expresión más elemental del daño causado por el bacilo y por la respuesta inmunitaria que la caracteriza, y el propio bacilo como agente etiológico de la tuberculosis. Y a partir de este momento solo transcurrieron sesenta años hasta lograr el primer fármaco eficaz¹.

La investigación de los orígenes de la tuberculosis humana se remonta a los tiempos prehistóricos. Ha sido posible gracias a las señales que la enfermedad ha dejado en ciertos tejidos, en especial en los huesos. No existe seguridad de cómo llegó la tuberculosis al hombre, ignoramos en gran medida las vicisitudes que siguió la micobacteria hasta lograr su naturaleza actual, ni sabemos con certeza de qué especie animal pasó al hombre, aunque poco a poco se van avanzando hipótesis¹.

En yacimientos arqueológicos del periodo neolítico se han encontrado lesiones de la infección en restos óseos humanos, columnas gibosas con vértebras cuyas caras articulares estaban destruidas y sus cuerpos fusionados, con un aspecto similar al de las lesiones que siglos más tarde designaríamos como tuberculosis vertebral o mal de Pott. También en África, en el territorio del antiguo Egipto, se han descubierto huellas que indican la presencia de tuberculosis vertebral en restos de momias que se remontan a unos 3000 a. de C¹.

Los datos existentes indican que la tuberculosis ha tenido desde el comienzo una distribución global como muestra que se haya localizado en antiguos pobladores de lugares muy distantes e independientes de Europa, África, América y Asia.

La especie que se ha detectado más a menudo es *Mycobacterium tuberculosis*, pero también se ha encontrado *Mycobacterium africanum* en esqueletos del antiguo Egipto, y, excepcionalmente, *Mycobacterium bovis*.

Durante mucho tiempo se ha creído que la tuberculosis humana pudo iniciarse hace unos diez mil años a partir de la tuberculosis bovina, por adaptación de *Mycobacterium bovis* al hombre, sin embargo no se ha podido demostrar que esto sea así. En la actualidad quizás sea más razonable opinar que la infección tuberculosa pudo caminar paralelamente en el hombre y en los bóvidos. Tanto *Mycobacterium canettii* como *Mycobacterium tuberculosis* ancestral parecen ser descendientes directos del bacilo tuberculoso que existía antes de que la línea de *Mycobacterium africanum* y de *Mycobacterium bovis* se separara de la línea de *Mycobacterium tuberculosis*. Estas observaciones sugieren que el antecesor común del bacilo tuberculoso se asemejaba a *Mycobacterium tuberculosis* o a *Mycobacterium canettii* que podía haber sido ya un patógeno humano¹.

1.2.-SITUACION ACTUAL DE LA TUBERCULOSIS

Hoy en día, la tuberculosis (TB) sigue siendo un importante problema de salud global, responsable de enfermedad en millones de personas cada año. Se encuentra como segunda causa de muerte por enfermedades infecciosas en todo el mundo, después del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)⁵. Mientras que las tasas de TB disminuyen en los países industrializados van aumentando en países de bajos recursos, en ellos se dan el 90% de los casos².

1.2.1. DATOS DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (O.M.S.):⁵

Las últimas estimaciones son que hubo 9 millones de nuevos casos de tuberculosis en 2013 y 1,5 millones de muertes por tuberculosis (1,1 millones entre las personas VIH-negativas y 0,4 millones entre las personas VIH-positivas).

La mayoría de casos de tuberculosis se dan en hombres, si bien la OMS estima que en el año 2013, existían 3,3 millones de casos y 510. 000 muertes por tuberculosis entre las mujeres. Los casos en niños se estimaron en 550.000 con 80.000 muertes. Son cifras altas, dado que la mayoría de las muertes se podrían prevenir si la población más desfavorecida pudiera acceder a servicios sanitarios y al tratamiento adecuado.

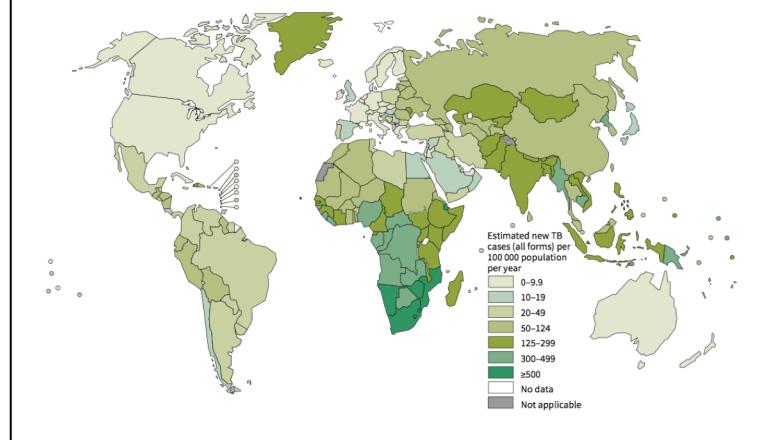
Los 9,0 millones de casos nuevos de TB en 2013 (rango, 8.6 millones a 9.4 millones) a nivel mundial, suponen una tasa global de 126 casos por cada 100.000 habitantes. Observándose una lenta disminución de la incidencia (Anexo 1: Figura 1), a una tasa promedio de 1.5% por año desde 2000 hasta 2013 y un 0,6% entre 2012 y 2013.

El número de casos de TB en relación al tamaño de la población (tasa de incidencia) varía ampliamente entre los países (Figura 2).

Las tasas más bajas se encuentran predominantemente en los países de altos ingresos, en los que dicha tasa se sitúa entorno a 10 casos/ 100.000 hab.

En las seis regiones de la OMS (ANEXO 1: Figura 3), están disminuyendo las tasas de incidencia (descenso del 4,5% anual en la región europea y más lento en el Mediterráneo Oriental y Asia sudoriental)

Figura 2: Estimación de la incidencia de la tuberculosis, 2013
Estimated TB incidence rates, 2013



1.2.2. DATOS DE LA UNIÓN EUROPEA⁶:

En 2013, se registraron 64.844 casos de tuberculosis en la Unión Europea (UE). La tasa de notificación fue de 12,7 por 100.000 habitantes (rango 3,4 a 83,5), que en la figura 4 se detalla por países. El 28% de dichas notificaciones correspondían a pacientes extra comunitarios (figura 5 y gráfico 1).

Figura 4 : Notificación de TB por 100 000 habitantes según países EU, 2013

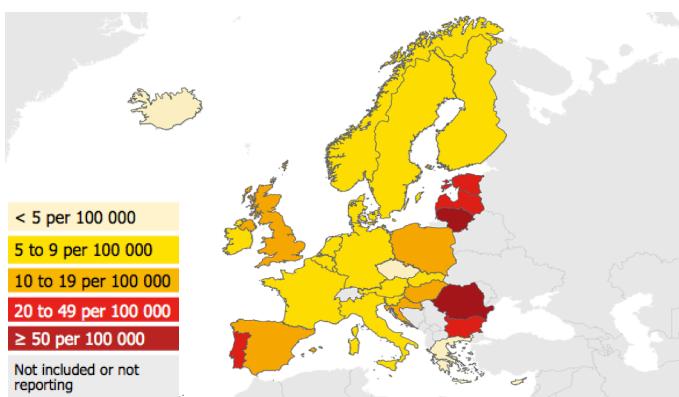


Figura 5: Porcentaje de casos de TB con origen extranjero por países. EU, 2013.

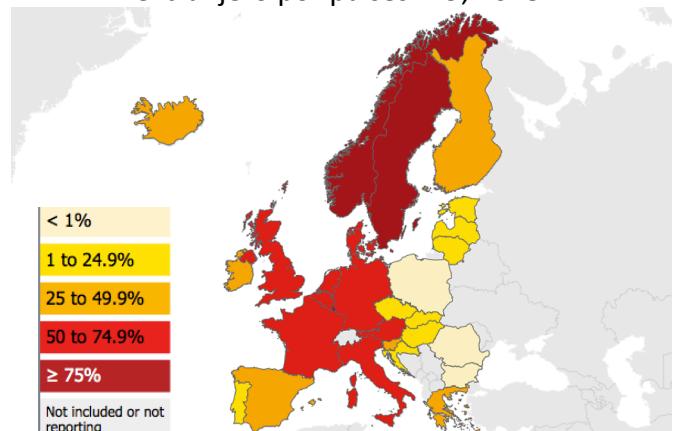
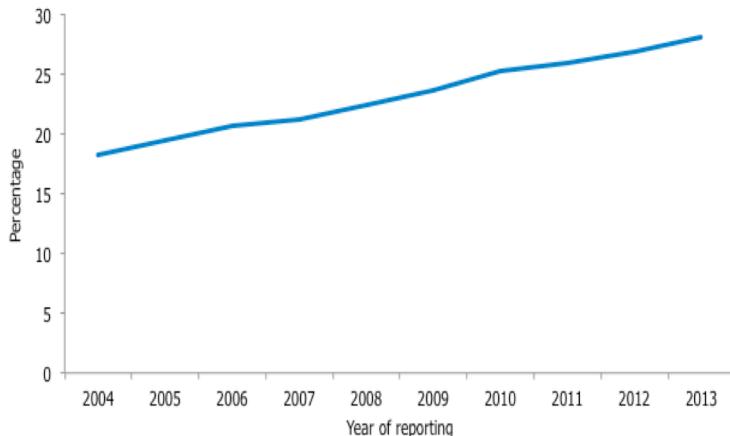
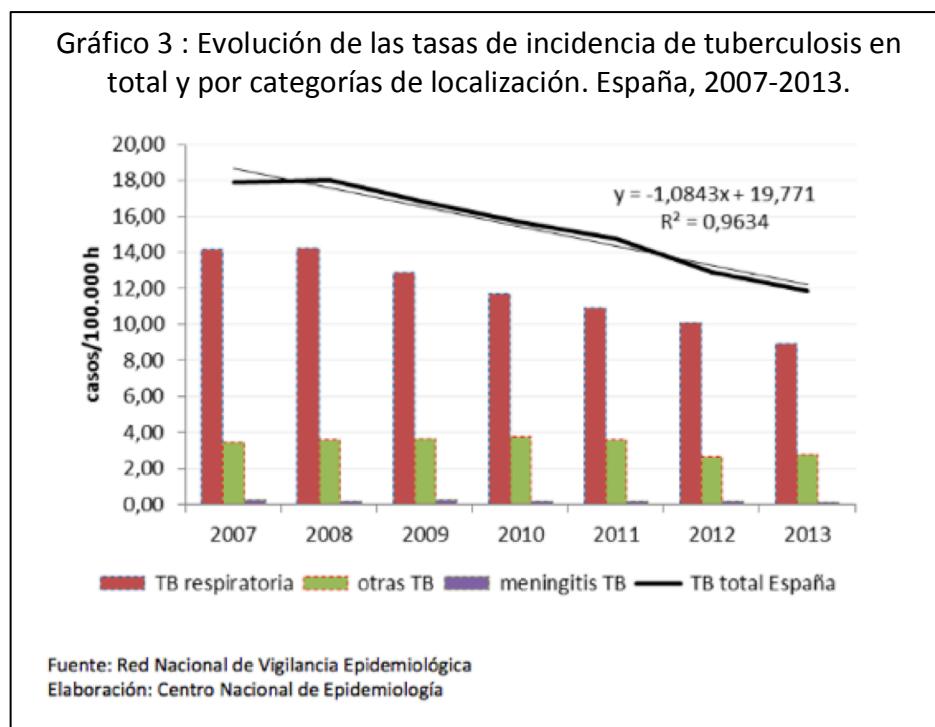
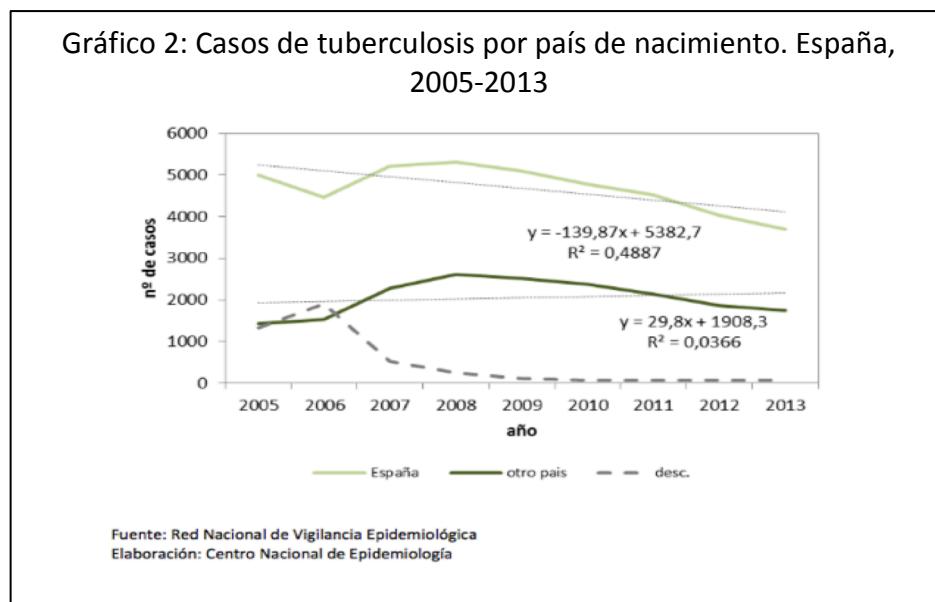


Gráfico 1: Porcentaje de casos de TB con origen extranjero, la UE / EEE, 2004-2013



1.2.3. DATOS DEL CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA⁷:

En España en el año 2013 se notificaron 5.535 casos de tuberculosis, lo que corresponde a una tasa de incidencia de 11,88 casos por 100.000 habitantes, esta tasa es un 8,3% inferior a la del año 2012 (12,95 casos/100.000). El 67% de los casos se dieron en nacidos en España, y el 32% en nacido en otros países, (Gráfico 2). Según su presentación clínica, 4.166 corresponden a tuberculosis respiratoria (Gráfico 3).



1.2.4. DATOS DE SALUD PÚBLICA DE ARAGÓN⁸:

En Aragón, en los últimos 20 años, se observa una tendencia estable ligeramente descendente y algo mayor a partir del 2008. En 2013 se notificaron 184 casos de TB, con una tasa de 13,7 casos/100.000 habitantes. Por provincias la tasa mas alta se da en la de Zaragoza (14,9 casos/100.000 h). Por sectores, la tasa es más alta en el de Zaragoza III (20,5 casos/100.000 h.).

La tasa en población con origen en otro país es de 35,9 casos / 100.000 h. frente al 9,8 en la autóctona. Durante los últimos años la tasa en población extranjera ha oscilado entre 3 y 6 veces más alta que en la autóctona.

1.3.-TUBERCULOSIS E INMIGRACIÓN:

Actualmente en España la inmigración, desde países con altas tasas de tuberculosis y alto riesgo anual de infección, está incidiendo en el control de esta enfermedad. El flujo poblacional presenta una prevalencia de infección superior a la de la población autóctona, aunque en el momento de la llegada son pocos los casos detectados de tuberculosis. Es frecuente que el paso de tuberculosis infección a tuberculosis enfermedad ocurra en los primeros cinco años desde su llegada, en probable relación con situaciones de estrés, hacinamiento y desnutrición⁹. Además los recién llegados y los indocumentados no suelen acceder al sistema sanitario. En algunos casos se observa coinfección por VIH¹⁰, y presencia de cepas multirresistentes (MDR), o extremadamente resistentes (XDR).

Así pues en países con baja prevalencia de tuberculosis, se observa una disminución en la tasa de incidencia en autóctonos, mientras que aumenta el número de casos detectados en extranjeros, principalmente en los que proceden de países con altas tasas de tuberculosis.

Los estudios de epidemiología molecular contribuyen a la correcta valoración de las tasas de importación, las recientes transmisiones después de la llegada del inmigrante al país receptor, transmisión cruzada entre casos de diferentes nacionalidades, y entre inmigrantes y población autóctona.

1.4.-DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS:

La clínica de la tuberculosis es inespecífica, los signos y síntomas dependen de la localización y aparecen de forma tardía, en ocasiones cuando el enfermo ya es contagioso.

La tuberculosis pulmonar debe sospecharse cuando el enfermo presente un síndrome constitucional junto con expectoración de más de tres semanas de duración, especialmente si es hemoptoica y no cede al tratamiento antibiótico general.

Una vez establecido el diagnóstico clínico de sospecha de tuberculosis, la actitud médica se encamina al diagnóstico radiológico y microbiológico.

1.4.1. Diagnóstico microbiológico:

1.4.1.1. Técnicas de microscopía:

Es la técnica más rápida, sencilla y accesible para realizar el diagnóstico rápido de TB (tinción ácido-alcohol resistente). Visualizándose cualquier miembro del género *Mycobacterium*, si bien en nuestro medio, la detección de bacilos ácido-alcohol resistentes en

muestras clínicas suele ser sinónimo de TB, sobre todo en muestras respiratorias. Para que sean detectables deben existir entre 5.000-10.000 bacilos/ml en la muestra. Esto hace que un porcentaje variable (30-50%) de los casos de TB no se visualicen, por lo que una baciloscopia negativa nunca descarta la enfermedad. La identificación de casos bacilíferos es de especial importancia, puesto que se trata de los pacientes más contagiosos, y su rápida detección es esencial para interrumpir la cadena de transmisión de la enfermedad. En las localizaciones extrapulmonares, el rendimiento de la microscopía está en relación con el tipo de muestra, siendo elevada en muestras obtenidas por biopsia o exéresis de tejidos y muy baja en líquidos biológicos¹².

1.4.1.2. Técnicas de cultivo:

El cultivo se considera la prueba de referencia, posee mucha mayor sensibilidad que la tinción, siendo capaz de detectar entre 10-100 bacterias/ml de muestra. Además, a partir del aislamiento se pueden realizar la identificación de especie y el estudio de sensibilidad a los antibióticos. El principal inconveniente del cultivo es que por determinadas características metabólicas de *M. tuberculosis*, es lento. Se necesitan de 2-6 semanas para obtener colonias en medios del cultivo sólidos. Con objetivo de disminuir el tiempo de incubación se utilizan los medios líquidos automatizados. Estos medios permiten detectar la presencia de crecimiento bacteriano entre 7-10 días antes que los medios sólidos ya que detectan actividad metabólica¹³.

1.4.1.3. Antibiograma:

El estudio de sensibilidad de *M. tuberculosis* se basa en la detección en el cultivo de un porcentaje superior al 1% de bacterias resistentes en comparación con un control de crecimiento sin antibiótico. La existencia de estas bacterias resistentes se debe a la tasa de mutaciones que presentan frente a los distintos antibióticos utilizados en el tratamiento¹².

- Monorrestencia es la resistencia a un tuberculostático.
- Multirresistencia (MDR-TB) Es la resistencia simultánea a la isoniazida y la rifampicina, asociadas o no a otros fármacos.
- Resistencia expandida o extremadamente resistente (XDR-TB) es la resistencia causada por cepas MDR-TB, con resistencia añadida a alguna fluoroquinolona y, al menos, un fármaco de segunda línea que se administre de forma inyectable.

1.4.1.4. Métodos moleculares:**1.4.1.4.1. Métodos directos:**

Los métodos moleculares en el diagnóstico directo se basan en la amplificación de fragmentos genéticos específicos de *M. Tuberculosis* directamente en las muestras clínicas constituyendo una forma de diagnóstico rápido de enfermedad tuberculosa con una sensibilidad superior a la baciloscopia. No obstante, a pesar de que durante los últimos quince años se ha realizado numerosos estudios para establecer su papel en el protocolo diagnóstico de la TB, el principal obstáculo para valorar su eficacia reside en la ausencia de una estandarización universal, ya que existe una amplia variedad metodológica en los diferentes estudios¹².

1.4.1.4.2. Detección de genes de resistencia:

Una nueva forma de detectar micobacterias resistentes a fármacos ha sido la determinación de mutaciones en determinados genes. Se conocen mutaciones relacionadas con la resistencia a los distintos fármacos de primera y de segunda línea, si bien no todas las resistencias se detectan por mutación ya se han descrito otros mecanismo de resistencia, como las bombas de flujo. Así, más del 95% de las resistencia a Rifampicina son debidas a mutaciones localizadas en un corto fragmento de 81 nucleótidos den gen rpoB. En el 60-65% de los casos la resistencia a Isoniazida se ha relacionado fundamentalmente con mutaciones en el gen katG y con la región intergénica mabA-inhA¹².

1.4.1.4.3. Epidemiología molecular de cepas:

La epidemiología molecular estudia patrones genéticos. El patrón generado es reproducible e informativo de una cepa, se introduce en una base de datos y se compara con otras cepas. La epidemiología molecular es esencial en la vigilancia de la TB al detectar la transmisión de determinadas cepas e identificar las cepas prevalentes de un área determinada. Existen varias técnicas moleculares disponibles para la tipificación molecular de la tuberculosis: RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) basado en IS6110, Spoligotyping (Spacer Oligonucleotide Typing), MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing)¹³.

El RFLP se basa en que las copias de IS6110 en el genoma las cepas del *Complejo Micobacterium Tuberculosis complex* (MTBc) son idénticas o lo suficientemente similares como para ser detectadas con una sonda, pero variables tanto en el número como en la posición en el genoma de *M. tuberculosis*, lo que permite observar un patrón polimórfico. El método

detecta mediante Southern Blot, la posición del extremo 3' de secuencia de inserción 6110 en el genoma de *M. tuberculosis* en relación con los sitios de restricción de la enzima *PvuII* en el genoma. Los patrones RFLP basados en *IS6110* son lo suficientemente estables y polimórficos para permitir su utilización como marcador genético del MTBc¹³.

1.5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO:

- Conocer la influencia de la inmigración en los casos de tuberculosis.
- Estudiar las características clínico-epidemiológicas de los pacientes (país de origen, edad, sexo, carácter VIH, forma clínica).
- Estudiar la sensibilidad en las cepas aisladas.
- Analizar la agrupación en clusters por RFLP.

2.-MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo y poblacional de los casos de tuberculosis diagnosticados desde enero de 2004 a diciembre de 2014. La población de estudio, Área 3 de Salud de la Comunidad Autónoma de Aragón y Centro Penitenciario de Zuera, tienen el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de referencia.

Se incluyeron como caso los pacientes con confirmación bacteriológica (cultivos y/o reacción en cadena de la polimerasa positivos para MTBc). Se considera caso bacilífero, no bacilífero y presentación clínica extrapulmonar de acuerdo a los criterios de la OMS.

Se recogió información clínica y epidemiológica de la historia clínica electrónica y de la base de datos de la Sección de Micobacterias, para obtener:

- **Variables sociodemográficas** (edad, sexo, año del diagnóstico, zona geográfica de origen)
- **Clínicas** (síntomas, factores de riesgo –VIH, ADVP, indigencia, alcoholismo, diabetes-, y localización)
- **Microbiológicas** (baciloscopía, cultivo, PCR, sensibilidad Y RFLP).

Así mismo se recogió, de las historias en las que constaba, el tiempo transcurrido desde la llegada a España hasta la aparición de los síntomas de la enfermedad.

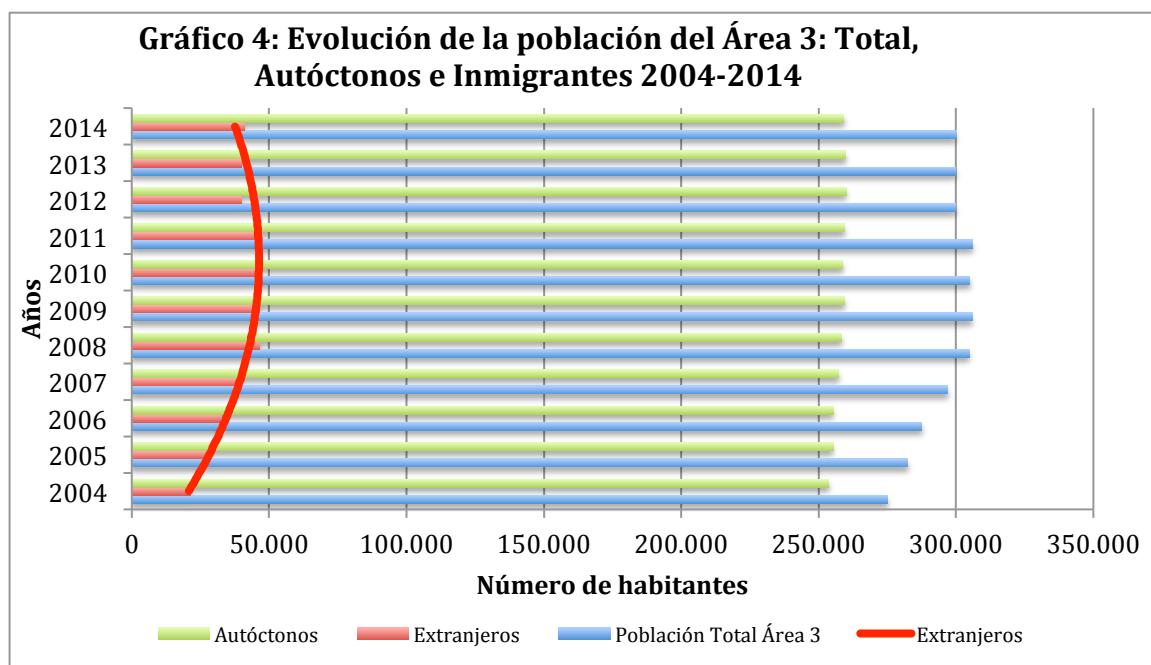
Los datos se almacenaron en un fichero informático para su análisis estadístico. El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los requerimientos expresados en la Declaración de

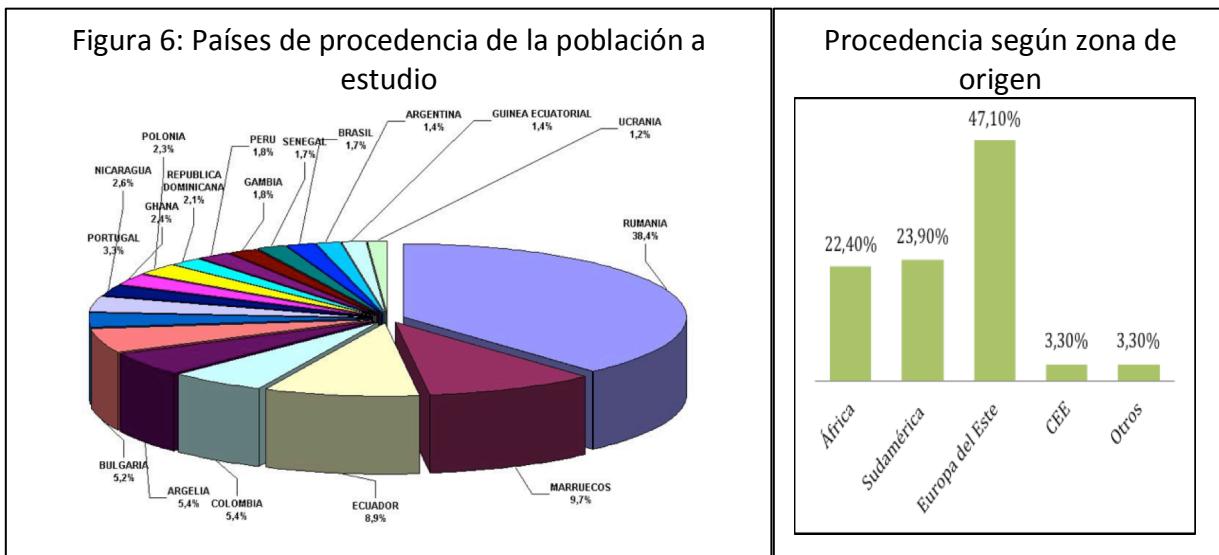
Helsinki (revisión de Tokio, octubre de 2004) y la Ley Orgánica Española de Protección de Datos 15/1999.

MATERIAL:

- Base de datos del Servicio de Microbiología Sección de Micobacterias del Hospital Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.
- Programa informático Excel para el análisis de los datos.
- Descripción de la población a estudio (Base de Datos de Usuarios, 31 diciembre 2014. Dirección General de Planificación y Aseguramiento. Departamento de Sanidad, Bienestar Social y Familia):

La población en el Área 3 ha aumentado desde el 2004 hasta el 2014 situándose en 300.082 habitantes. La población extranjera, 40.915 habitantes, experimenta incrementos anuales hasta el 2008 permaneciendo estable hasta el 2011, en que comienza a descender. Pese a este descenso el número de inmigrantes en el Área 3 presenta en el 2014 un incremento del 5,93% en comparación con el 2004, (Gráfico 4) de ellos el 16% tiene menos de 15 años; y el 70%, entre 20 y 50 años. Existen diferencias en cuanto al porcentaje de esta población en las zonas de salud: Desde el 29,95% de La Almunia de Doña Godina, al 5,30%, en Sádaba¹⁴. El origen de esta población se refleja en la figura 6.





MÉTODOS: Procesamiento de las muestras:

El diagnóstico microbiológico de tuberculosis se basa en la baciloscopía o visualización microscópica de los bacilos y el cultivo posterior para poder aislar el microorganismo, proceder a su identificación y estudio de sensibilidad a los tuberculostáticos.

1. Baciloscopía:

Se realiza a partir de la muestra que llega al laboratorio con la finalidad de detectar a los pacientes más bacilíferos y también descartar aquellas muestras que no son adecuadas para su cultivo.

1.1. Tinción de Zihel-Neelsen¹⁵ Se basa en la acido-alcohol resistencia de estos microorganismos debido al alto contenido en lípidos de su pared celular. Así tras la tinción observaremos las micobacterias como bacilos rojos.

- Componentes:
 - Colorante: Fuchina fenicada
 - Decolorante: Alcohol clorhídrico
 - Contracolorante: Azul de metileno
- Limitaciones: para que sean detectables deben existir entre 5.000-10.000 bacilos/ml en la muestra.

Tabla 1: Cuantificación Baciloscopía (x 1000)	
No se ven Bacilos ácido-alcohol resistentes	Baciloscopía negativa
1-3 en toda la extensión	Dudosa
1-9/10 campos	Positiva 1+ (escasos)
1-9/campo	Positiva 2+ (pocos)
10-90/campo	Positiva 3+ (abundantes)
>90/campo	Positiva 4+

2. **Cultivo:**

Se debe realizar ante toda sospecha de TB. Se considera la prueba de referencia y es imprescindible para realizar la identificación de especie, el estudio de sensibilidad y RFLP.

Previo a realización del cultivo, a todas las muestras, con excepción de las procedentes de zonas estériles, se les realiza homogenización, descontaminación y concentración.

2.1. Descontaminación con N-acetil cisteína sosa¹⁵:

- N-acetil cisteína como agente fluidificante y homogeneizante.
- Sosa y citrato trisódico como agentes descontaminantes.
- Buffer fosfato a pH 6,8 como agente neutralizante.
- Centrifugacion a 3.000g. para concentrar la muestra tratada.

2.2. Cultivo:

- Siembra en uno o dos medios sólidos: Lowenstein-Jensen y/o Coletsos.
- Siembra en medio líquido (modificación del Middlebrook 7H9) para el sistema automatizado de detección rápida de crecimiento.

2.3. Baciloscopía:

Tinción fluorescente. Realizada a partir de las muestras ya tratadas, con lo que se incrementa su sensibilidad respecto a la baciloscopía directa.

- Componentes:
 - Tinción: Auramina –rodamina.
 - Decoloración: Alcohol clorhídrico
 - Colorante de fondo: permanganato potásico

3. **Identificación:**

En el primer año del estudio, la identificación se realizó fenotípicamente mediante la realización de pruebas bioquímicas.

Para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* se utilizaban las siguientes pruebas:

- Producción de niacina
- Reducción de nitratos
- Urea
- Catalasas termosensibles y termoresistentes

A partir del año 2001 se comenzó a utilizar la identificación molecular, mediante sondas de hibridación, Accuprobe^R, con las que únicamente se podían identificar: *M. tuberculosis*, *M. kansasii* y *M. avium*. Desde el 2006 se utiliza Genotype^R, que identifica las especies aisladas habitualmente en clínica.

4. Estudio de sensibilidad a los tuberculostáticos:

Se estudio la sensibilidad a los tuberculostáticos de primera línea:

- Isoniacida 0,4 mcg/ml
- Rifampicina 1 mcg/ml
- Estreptomicina 8 mcg/ml
- Etambutol 8 y 5 mcg/ml
- Pirazinamida 300 mcg/ml

Técnica: Es una adaptación del método de Canetti al sistema de detección de cultivo automatizado (MB BacT/alert)^R:

- Se precisa un vial de medio de cultivo por cada uno de los antibióticos a estudiar mas un vial libre de antibiótico (vial control).
- A cada vial de antibiótico se le añade 0,1 ml. de la dilución ajustada del fármaco correspondiente.
- A los 6 viales, 5 de antibiótico y el vial control se les añade 0,1 ml del cultivo problema.
- Se introducen en el sistema.
- Interpretación: Se considera que la cepa estudiada es resistente a un determinado tuberculostático cuando:
 - Se observa crecimiento en el vial con antibiótico antes que en el vial control.
 - Cuando siendo primero positivo el vial control, la diferencia en días de crecimiento es menor a 5.
 - Si a los 5 días de ser positivo el vial control no se observa crecimiento en el vial con antibiótico la cepa es sensible a ese tuberculostático.

5. Tipado genético de las cepas:

Se definió cluster (CLS) o la agrupación de dos o más cepas que tuviesen idéntica huella de ADN de *M. Tuberculosis*, es decir, idéntico patrón RFLP con mayor o igual a 6 bandas de *IS6110* ó idéntico patrón RFLP con menor o igual a 5 bandas e idéntico spoligotyping¹⁶.

La agrupación de las cepas según cluster se realiza en el Grupo de Genética de Micobacterias de la Universidad de Zaragoza. La tipificación molecular de *M. tuberculosis* se ha basado en el empleo de la técnica RFLP, técnica estandarizada desde 1993 por van Embden y col¹⁷.

3.- RESULTADOS:

3.1.Resultados generales:

Desde el año 2000 en que se creó la base de datos en la Sección de Micobacterias del Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, y hasta diciembre de 2014 se han realizado un total de 1290 registros de aislamientos de micobacterias, de los que 841 corresponden a MTBc (gráfico 1).

La distribución de los aislamientos, según especies tuberculosas y no tuberculosas (MNT) por años, se refleja en tabla 1.

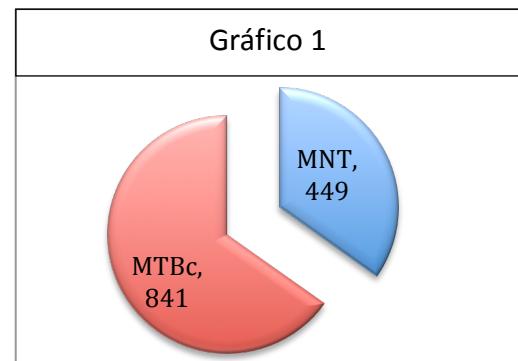


Tabla 1: La distribución de los aislamientos de micobacterias tuberculosas y no tuberculosas por años

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
Aislamientos	76	89	90	72	102	81	77	122	100	81	98	83	84	64	71	1290
MNT	17	25	31	23	25	21	27	32	36	37	47	32	44	22	30	449
MTBc	59	64	59	49	77	60	50	90	64	44	51	51	40	42	41	841

De los 841 casos de tuberculosis, 601 se diagnosticaron en pacientes autóctonos y 240 en pacientes extranjeros (Gráfico 2 y Tabla 2).

Gráfico 2: Distribución de casos MTBc identificados según origen del paciente

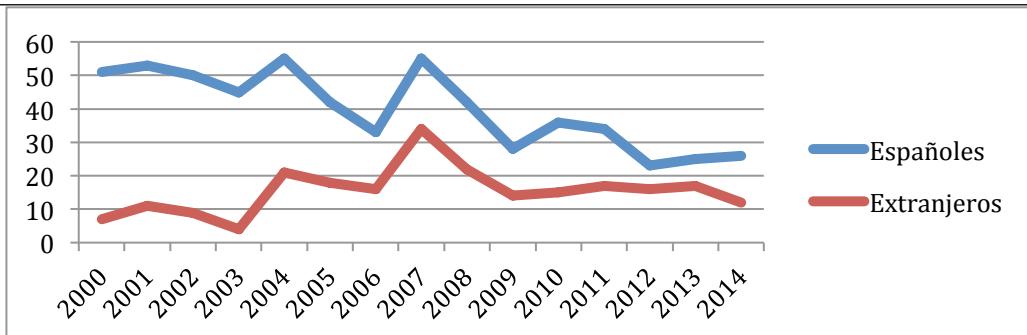


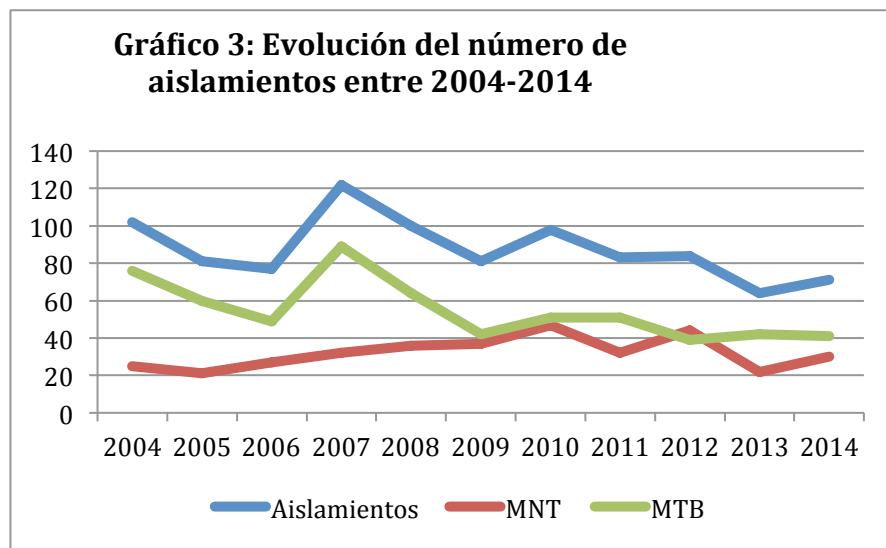
Tabla 2: La distribución de los aislamientos de MTBc según origen

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
Españoles	52	53	50	45	55	42	33	55	42	28	36	34	23	25	28	601
Extranjeros	7	11	9	4	22	18	17	35	22	16	15	17	17	17	13	240

Todos los aislamientos correspondieron a *Mycobacterium tuberculosis* con excepción de cinco aislamientos de *M. africanum*, todos ellos en pacientes inmigrantes, y dos de *M. bovis*, uno en cada grupo de pacientes.

3.2. Resultados del periodo 2004-2014:

En este periodo se han realizado 610 aislamientos de micobacterias tuberculosas y 353 de no tuberculosas (gráfico 3).



3.3. Resultados de los casos de MBTc en el periodo 2004-2014:

Analizamos los 610 casos de tuberculosis, 401 en población autóctona y 209 en inmigrantes, diagnosticados en dicho periodo de estudio

3.3.1. Variables sociodemográficas:

1º Analizamos la distribución de los casos diagnosticados en los dos tipos poblacionales según grupos de edad y sexo, reflejados en los gráficos del 3 al 8.

En la **población autóctona** el rango de edad con mayor número de casos es el de 31-45 años, (28%) y mayores de 76 años (18%), (gráfico 3). En los hombres el rango de edad con mayor número de casos es el de 31-45 años, (33%), seguido del rango de 46-60 años (18%). En las mujeres, la máxima incidencia la encontramos en las de 16-30 años (30%), seguidas del grupo de mayores de 76 años (23%), (gráfico 4).

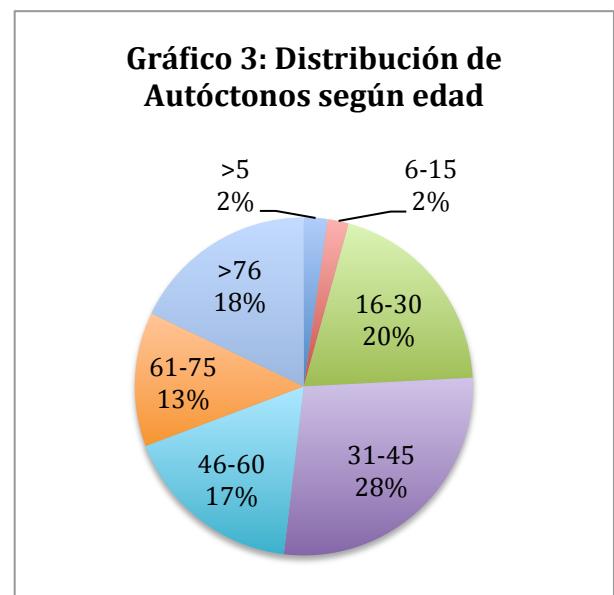


Gráfico 4: Distribución de Autóctonos según edad y sexo

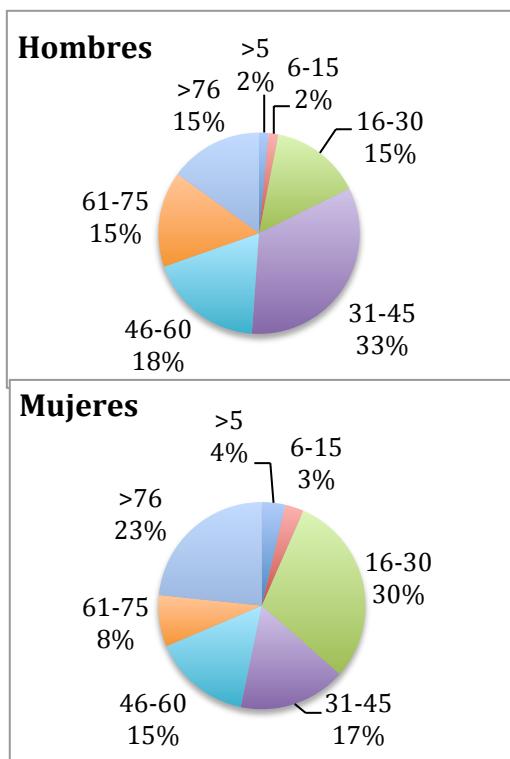
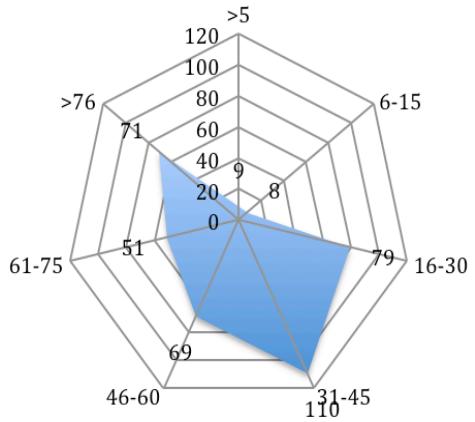


Gráfico 5: Distribución de Autóctonos según grupos de edad



En los **inmigrantes** los rangos de edad con mayor número de casos son de 31-45 años (45%) y 16-30 años (42%), (Gráfico 6). En los hombres el rango mas numeroso es el de 31-45 años (51%), seguido del de 16-30 años (33%), no hay ningún caso en mayores de 76 años. En las mujeres el rango de mayor diagnostico es el de 16-30 años (61%), seguido del 31-45 años (32%) no hay ningún caso en menores de 15 años.

Gráfico 6: Distribución de Inmigrantes según edad

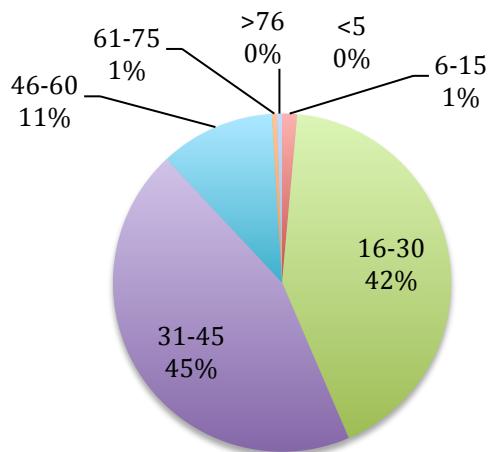


Gráfico 7: Distribución de Inmigrantes según edad y sexo

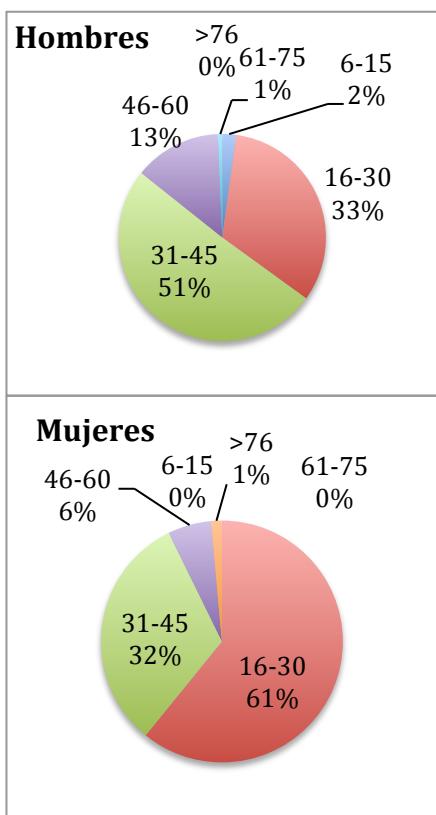
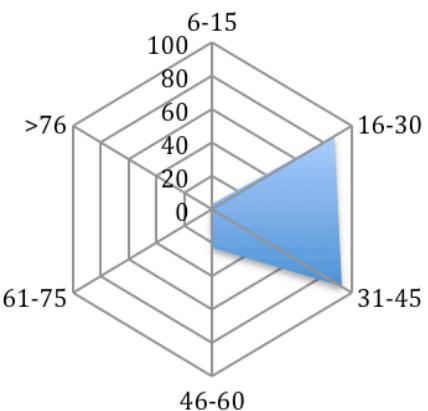
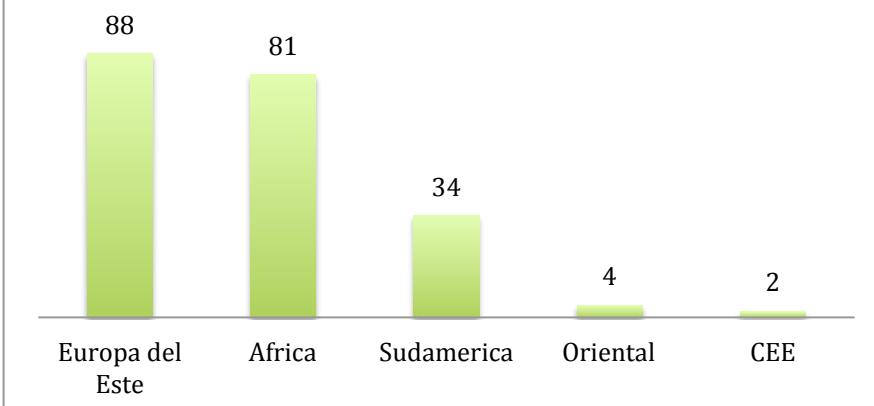


Gráfico 8: Distribución de Inmigrantes según grupos de edad



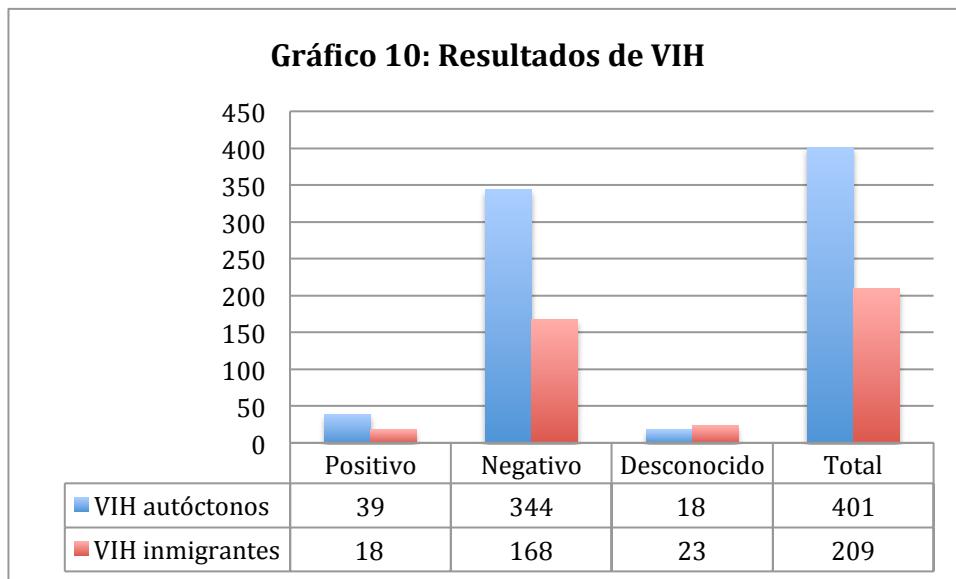
2º Según zona geográfica de origen 88 casos han sido diagnosticados en pacientes procedentes de Europa del Este, 81 casos en originarios de África. (Gráfico 9).

Gráfico 9: TBC y origen de los pacientes

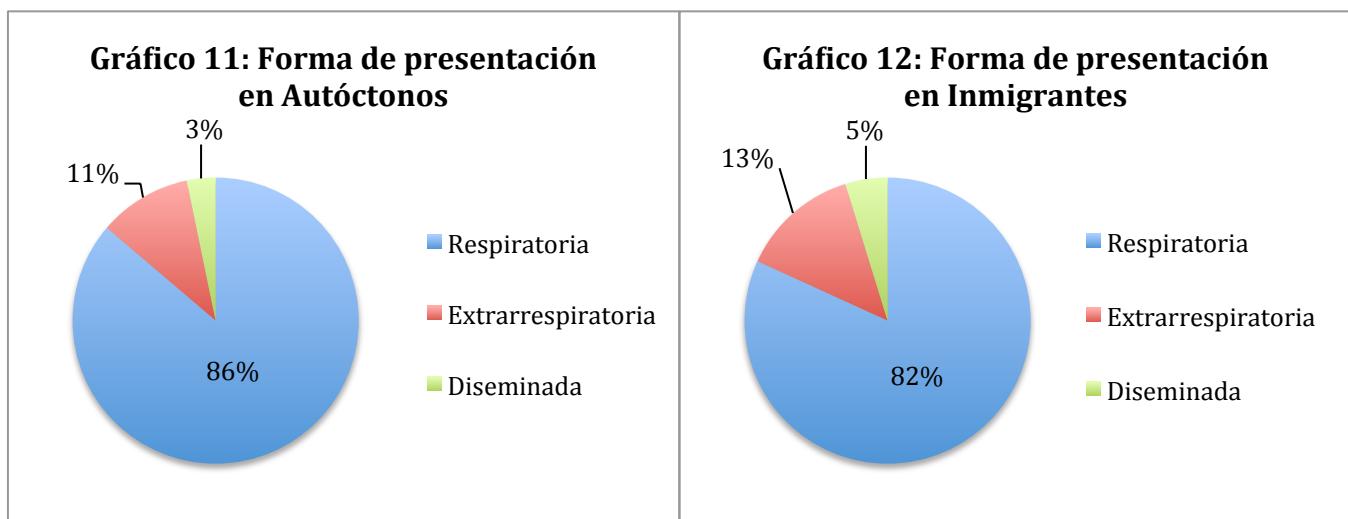


3.3.2. Variables clínicas:

1º Los resultados de VIH se muestran en el gráfico 10. El 10,4% de los autóctonos era VIH positivo. En los inmigrantes supone el 8,9%, aunque en el 11% se desconocía el dato.



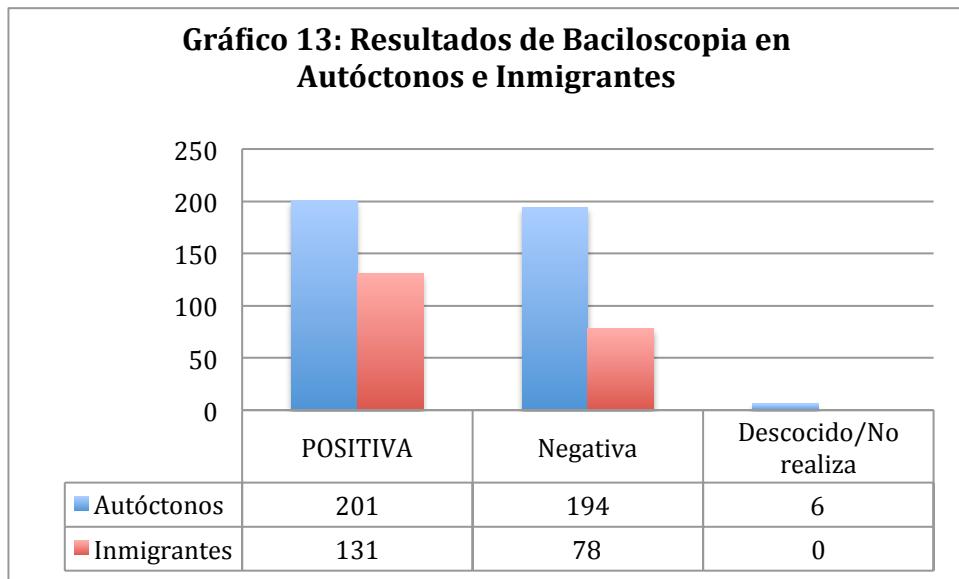
2º La forma de presentación de la enfermedad tuberculosa en autóctonos e inmigrantes se refleja en los gráficos 11 y 12 respectivamente. La presentación respiratoria supone el 86% en autóctonos y el 82% en inmigrantes. La extrarrespiratoria es del 11% en autóctonos y 13% en inmigrantes. La forma diseminada se dio en el 3% de los autóctonos y en el 5% de los inmigrantes.



Encontramos que la forma de presentación osteoarticular es más frecuente en los pacientes inmigrantes, 11 casos frente a 8 en autóctonos. Dentro de los inmigrantes, 10 casos se dieron en pacientes africanos y el otro caso en un paciente de Europa del Este.

3.3.3. Resultados microbiológicos:

El número de pacientes con baciloscopía positiva en una o más muestras fue de 201 (50,12%) en autóctonos frente a 131 (62,67%) en inmigrantes (Gráfico 13).



Resistencia a fármacos de primera línea:

54 de las 610 cepas (8,8%) presentaron algún tipo de resistencia, 29 de ellas aisladas en pacientes autóctonos (7,2%) y 25 en inmigrantes (12%). La resistencia más frecuente fue a Isoniacida: 46 de las 54 cepas (Gráfico 13). Entre los autóctonos fue más frecuente la monorresistencia, y solo una de las cepas era MDR (Gráfico 14). En los pacientes inmigrantes se aislaron más cepas con resistencia a dos fármacos y 9 MDR (Gráfico 15).

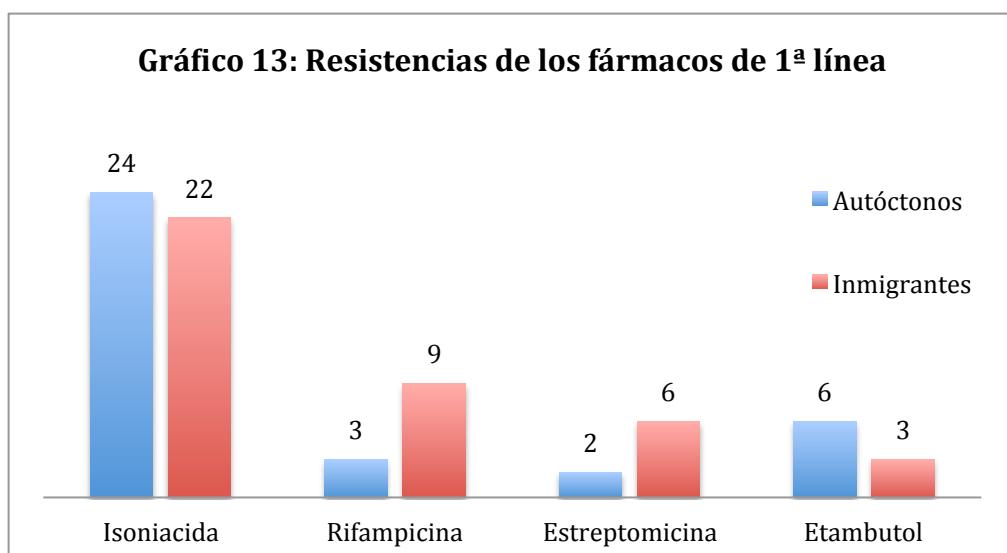


Gráfico 14 : Sensibilidad en cepas de población Autóctona

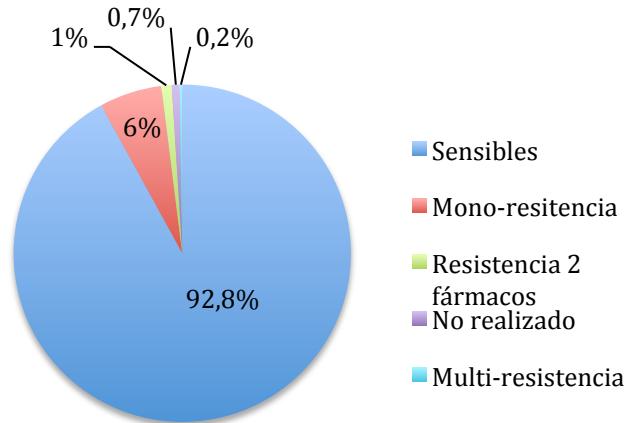
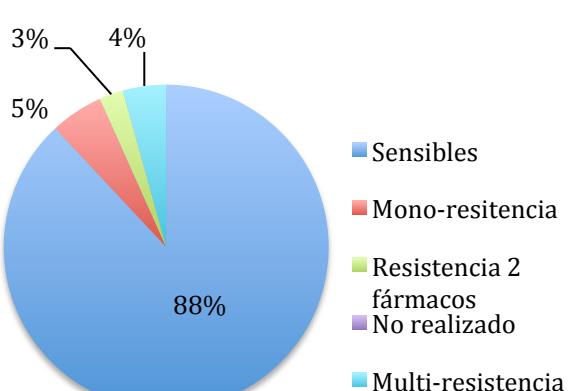


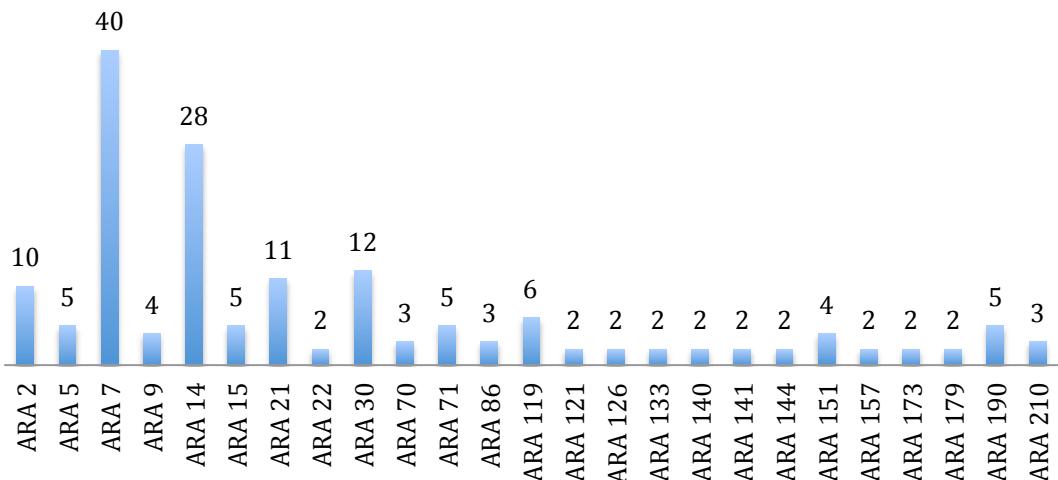
Gráfico 15 : Sensibilidad en cepas de población Inmigrante



Resultados de RFLP:

De las 604 cepas de *M tuberculosis* aisladas desde 2004, 331 presentaban agrupación en cluster: 164 cepas en 25 cluster mixtos, formado por cepas aisladas en pacientes autóctonos e inmigrantes, (gráfico 16) y 38 cepas en 28 cluster de inmigrantes. El cluster mixto mayoritario es AR 7 con 40 cepas y ARA 14 con 18 cepas.

Gráfico 16: Número de cepas con CLS Mixto



En las tablas 3 y 4 se reflejan los cluster ARA 7 y ARA 14 que incluyen cepas de población autóctona e inmigrante. Ambos cluster ya habían sido identificados en cepas de población autóctona con anterioridad, lo que demuestra que la infección ha sido

contraída en el país de acogida, dichos paciente han entrado en el ciclo de transmisión de la enfermedad en España. A excepción del caso 4 todos ellos llevaban residiendo más de cinco años en el país.

TABLA 3: ARA 7											
	Casos	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo	
ARA 7	1	H	2004	Africano	Desc	E	CP Zuera	-	Sb	Abandono	
	2	H	2004	Africano	7 años	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial	
	3	H	2005	Africano	5 años	E	CS Norte	-	Sb	Inicial	
	4	M	2007	Sudamérica	17 meses	Esp + AB	Infecciosos	+	Sb	Inicial	
	5	M	2014	Oriental	7 años	B. Pleural	H Neumolog	-	Sb	Inicial	
	6	M	2014	Sudamérica	14 años	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial	
De las 40 cepas del cluster ARA 7, 34 son de pacientes autóctonos.											
H:Hombre; M: Mujer; Desc: Desconocido; E: Esputo; -: Negativa; +:Positiva; Sb: Sensible											

TABLA 4: ARA 14											
	Casos	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo	
ARA 14	1	H	2005	Europa del E	Desc	E	Calatayud	+	Sb	Desconocido	
	2	H	2006	Europa del E	Desc	E	Calatayud	+	Sb	Desconocido	
	3	M	2007	Europa del E	3 años	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial	
	4	M	2008	Sudamérica	3 años	E	Hematología	+	Sb	Desconocido	
	5	H	2012	Sudamérica	Desc	E	Calatayud	+	Sb	Desconocido	
De las 28 cepas del cluster ARA 14, 23 son de pacientes autóctonos, todos ellos de Calatayud.											

3.3.4. Estudio del cluster ARA 119:

El cluster ARA 119 esta formado por cuatro cepas relacionadas con un brote familiar. El caso 2 y 4 de la tabla 5, pareja originaria de Rumanía son tíos de los casos 3 y 6. Se demuestra la transmisión entre personas que comparten un mismo ambiente. Se desconoce si hay relación de los otros dos casos de este cluster, entre ellos o con el brote familiar.

TABLA 5: ARA 119											
	Casos	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo	
ARA 119	1	H	2011	Africano	Desc	E	Calatayud	+	Sb	Inicial	
	2*	M	2012	Europa del E	Desc	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial	
	3*	H	2012	Española	NP	Aspirado Gástrico	Pediatria	-	Sb	Inicial	
	4*	H	2012	Europa del E	6 años	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial	
	5	H	2012	Española	NP	B. Pleural	Broncoscopias	-	Sb	Inicial	
	6*	M	2013	Española	NP	Aspirado Gástrico	Pediatria	+	Sb	Inicial	

*Brote familiar

3.3.5. Centro Penitenciario de Zuera:

20 de los casos se diagnosticaron en internos del Centro Penitenciario de Zuera. 13 de ellos eran autóctonos y 7 inmigrantes. 9 de las cepas se han agrupado en dos cluster, ARA 5 que solo se ha encontrado en población reclusa y ARA 9 que también se ha detectado en cepas de población general (tablas 6 y 7).

TABLA 6: ARA 5											
	Caso	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo	
ARA 5	1	H	2005	Africano	Desc	E	CP Zuera	+	Sb	Inicial	
	2	H	2007	Española	NP	E	CP Zuera	+	Sb	Desc	
	3	H	2007	Española	NP	E	CP Zuera	-	E	Inicial	
	4	H	2007	Africano	Desc	E	CP Zuera	-	Sb	Recaída	
	5	H	2007	Español	NP	E	CP Zuera	-	Sb	Inicial	

NP: No procede; E:Etambutol

Tabla 7: ARA 9											
	Caso	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo	
ARA 9	1	H	2004	Africano	Desc	E	CP Zuera	+	Sb	Inicial	
	2	H	2004	Española	NP	E	CP Zuera	-	Sb	Inicial	
	3	M	2005	Española	NP	E	Calatayud	+	H	Inicial	
	4	H	2007	Española	NP	E	H. Neumología	+	H	Desc	

H: Isoniacida

3.3.6. Cepas Beijing:

De todos los aislamientos tan solo se han identificado como genotipo Beijing 4 cepas, todas ellas en pacientes extranjeros. Uno de los casos fue de origen oriental, otro sudamericano, y dos de Europa del Este. Los casos 3 y 4 comparten lugar de residencia (tabla 8).

Tabla 8: Cepas Beijing										
	Caso	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo
Beijing	1	H	2004	Oriental	2 años	Ganglio	H. Neumología	-	Sb	Desc
	2	H	2007	Europa del E	6 años	E	H. Neumología	-	H-S	Desc
	3	H	2010	Sudamericano	9 años	E	Infecciosos	+	S	Desc
	4	H	2012	Europa del E	7 años	E	Infecciosos	+	HS--R	Inicial

3.3.7. *M. Africanum*:

De los 610 aislamientos, 5 se han identificado como *M. Africanum*, todos en pacientes africanos, y de localización extrapulmonar en 3 de los casos. Todas las cepas fueron sensibles a tuberculostáticos de primera línea (tabla 9).

Tabla 9: <i>M. Africanum</i>										
	Caso	Sexo	Año	Nacionalidad	Tiempo en España	Muestra	Servicio de origen	VD	AB	Tipo
M. Africanum	1	H	2004	Africano	5 años	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial
	2	H	2006	Africano	2 días	E	Infecciosos	+	Sb	Inicial
	3	H	2007	Africano	Desc	Ganglio	Infecciosos	+	Sb	Desc
	4	H	2009	Africano	Desc	Absceso	Infecciosos	+	Sb	Desc
	5	H	2009	Africano	Desc	Absceso	Infecciosos	-	Sb	Desc

4.- DISCUSIÓN:

El número de casos estudiados en nuestro trabajo (610) es superior al de otras series^{18,19,20} y similar al de Ballesteros et al²¹.

1. Impacto de la inmigración sobre la tuberculosis:

A partir del año 2004 se incrementa el número de casos diagnosticados en pacientes extranjeros, pasando de 4 casos en el 2003 (8,1%) hasta 35 en el 2007 (39%). Porcentualmente en el año 2012 el número de casos en inmigrantes llegó al 43,5%, 17 aislamientos sobre un total de 39 aislamientos, el mayor de todos los años del estudio. Este porcentaje es muy superior al 32% publicado para España⁷. En los años posteriores persiste una tasa entorno al 30%. En contra de lo que sucede en el estudio de Molina Salas Y¹⁹ que observa un descenso en el número de casos a partir del año 2005. Sin embargo otros estudios^{20,21} observan un incremento de casos a partir del año 2006.

2. Características clínico-epidemiológicas:

El 88% de los pacientes inmigrantes tenían entre 15 y 45 años, a diferencia de la población autóctona (50% de los casos). Estos hallazgos coinciden con los de otros estudios^{20,22}.

El origen de los pacientes inmigrantes diagnosticados de tuberculosis difiere entre las distintas zonas de España. En el Área 3, existe importante población de emigrantes de Europa del Este. Esto hace que de los 209 pacientes diagnosticados, 88 procedían de Europa del Este (42%). Analizando nuestros datos y los de otras series consultadas¹⁸⁻²⁶ no podemos extrapolarlos de todas ellas dado que algunos especifican nacionalidades y otros estudios, al igual que nosotros, zonas geográficas. Pese a ello, el presente estudio es el que tiene mayor número de pacientes procedentes de Europa del Este, junto con Morales-García²⁰, en el que el 35% de la población era de origen rumano. 81 de nuestros pacientes (38,7%) eran africanos similar a los estudios de Basterrechea²³ y Ramos¹⁸, siendo el número de sudamericanos inferior a otros estudios^{19,25,26}. Pensamos que estas diferencias se deben a la localización geográfica de nuestra comunidad autónoma dentro de España.

La forma clínica predominante ha sido la pulmonar en ambas poblaciones 86% en autóctonos y 82% en inmigrantes, como en otros trabajos¹⁸⁻²¹. Se ha descrito que las formas de tuberculosis extrapulmonares son más frecuentes en etnias no caucásicas: formas linfáticas en asiáticos, peritonitis en magrebíes o afectaciones osteoarticulares en subsaharianos²¹. En la población estudiada del Área 3 hemos encontrado que 10 de las 11 presentaciones osteoarticulares son en pacientes de origen africano.

Los pacientes bacilíferos y los que tienen lesiones pulmonares cavitadas son los que tienen mayor capacidad de eliminar bacilos al exterior, por tanto son más contagiosos y son en los que se observan la mayoría de las baciloskopias positivas. El porcentaje de pacientes bacilíferos que hemos encontrado en ambas poblaciones (50% en autóctonos vs. 62,6% en inmigrantes) es similar a lo comunicado en el estudio multicéntrico español de García-García JM²².

En relación con las resistencias a fármacos antituberculosos, se observa que las cepas aisladas en población inmigrante, presentan mayor resistencia a dos fármacos de primera línea: el 3% frente al 1% en población autóctona. Así mismo en las cepas de inmigrantes se observa un 4% de multirresistencia, frente al 0,2% en autóctonos; datos inferiores a lo que señalan otros estudios²¹. No hemos detectado ninguna cepa XDR, lo que supondría un importante reto terapéutico y una amenaza real para el control de la tuberculosis en nuestro medio²¹.

Agrupaciones en clusters: Borrel²⁵ en su estudio encuentra 68 cluster distintos con las técnicas de RFLP-IS6110 y MIRU12. En nuestro estudio el número de cluster identificados es superior, 121, y las técnicas utilizadas fueron RFLP-IS6110 y MIRU-VNTR, esta última identifica con mayor detalle las cepas. De los 121 cluster, 68 (56,2%) eran exclusivos de autóctonos, dato semejante a otros estudios²⁵ y 25 de ellos (20,5%) eran cluster mixtos, en el estudio de Borrel²⁵, este porcentaje es mayor (33,8%).

De los 610 aislamientos, 20 correspondían a población reclusa del Centro Penitenciario de Zuera. La incidencia de la tuberculosis en las instituciones penitenciarias españolas es elevada, y los programas de prevención y control dirigidos a este colectivo encuentran dificultades para ser efectivos. Un mal control de la tuberculosis en las instituciones penitenciarias puede tener repercusión en toda la comunidad, lo que hace necesario evaluar la efectividad de las actividades para su prevención y control en este colectivo²⁷. Son escasos los artículos publicados que hagan referencia a la agrupación en cluster de cepas procedentes de pacientes reclusos autóctonos e inmigrantes^{28,29}, como hemos detectado en el ARA 5 y ARA 9, de nuestra población.

Hemos detectado 4 cepas Beijing, el 0,7% de todos los aislamientos. 3 de ellas procedían de pacientes originarios de zonas con alta prevalencia de genotipo Beijing (Europa del Este y China). A excepción de la cepa del paciente de origen chino, que era sensible a todos los antibióticos, el resto de cepas presentaban algún tipo de resistencia. Además una de las cepas era MDR. En el estudio de Borrel²⁵ 13 de los 463 (2,8%) aislamientos eran cepas de Beijing, todas sus cepas Beijing mostraron susceptibilidad a los tuberculostáticos, lo que difiere de estudio.

El linaje de *M. tuberculosis* Beijing representa alrededor del 50% de todas las cepas de TB en el Este de Asia y al menos 13% de las cepas en todo el mundo. Las cepas de la familia Beijing son predominantes en los países de la antigua URSS, especialmente en Rusia. Poseen una ventaja intrínseca sobre otros genotipos de *M. tuberculosis* en términos de virulencia (es decir, la transmisión, progresión tuberculosis activa), adquisición de resistencia a los antibióticos, o cronicidad de la enfermedad. Las cepas del linaje de Beijing en general se asocian con MDR XDR. Se ha sugerido que el estudio del genotipo Beijing puede reflejar patrones ocultos de las migraciones humanas; sin duda, la rápida difusión mundial de este clon, la más exitosa del complejo *M. tuberculosis* hace que sea una causa importante de preocupación en la salud pública³⁰.

En áreas urbanas con altos índices de inmigración, y elevadas tasas de incidencia de tuberculosis, tanto en población autóctona como extranjera, se debe de mantener un estricto control epidemiológico, para disminuir la tasa de transmisión. Así mismo debe controlarse el cumplimiento del tratamiento para evitar la aparición de resistencias y mantener las políticas de universalidad y accesibilidad de la asistencia.

5. CONCLUSIONES:

1. El impacto de la inmigración sobre los casos de tuberculosis en el Área 3, tiene una media de 34,6% de los casos, en el periodo estudiado 2004-2014, con un mínimo del 28% en el primer año del estudio, y un máximo del 43,5% en el año 2012.
2. La mayoría de los pacientes provienen de Europa del Este y del continente africano, con un perfil mayoritario de varón entre 16 y 45 años.
3. La forma de presentación extrapulmonar es más frecuente en los pacientes inmigrantes. La forma osteoarticular se da casi exclusivamente en pacientes africanos, 10 de los 11 casos diagnosticados.
4. Dentro del complejo tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis* es la especie mayoritariamente aislada. *Mycobacterium africanum* se aisló en 5 pacientes, todos ellos africanos y en 3 casos de presentación extrapulmonar. El genotipo Beijing se identificó en las cepas de 4 pacientes, 3 procedían de países con alta prevalencia de este genotipo existiendo una relación epidemiológica con el cuarto paciente.
5. Las cepas aisladas en pacientes inmigrantes presentan mayor resistencia a los tuberculostáticos de 1^a línea, detectándose, 9 MDR. No se ha detectado ninguna cepa XDR.
6. El análisis de las cepas agrupadas en cluster, nos ha permitido:
 - Detectar clusters mixtos, como el ARA 7, mayoritario en el Área 3 y el ARA 14 relacionado con Calatayud. Lo que demuestra la infección en el país receptor.
 - Detectar un cluster único, ARA 5, y de transmisión, ARA 9, en la prisión de Zuera.
 - Confirmar la sospecha de un brote familiar.
 - Detectar un cluster formado exclusivamente por inmigrantes de diferentes nacionalidades, lo que indica transmisión reciente entre este tipo de población que comparten lugares comunes (locutorios, pisos, centros lúdicos...).

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Maradona JA. Tuberculosis. Historia de su conocimiento. 1^a ed. Oviedo: Universidad de Oviedo; 2009.
2. Mathema B, Kurepina NE, Bifani PJ, Kreiswirth BN. Molecular Epidemiology of tuberculosis: Current insights. Clin. Microbiol. Rev. Oct 2006; 19 (4): 658-685.
3. Bates JH, Stead WW. The history of tuberculosis as a global epidemic. Med. Clin. North Am. 1993; 77: 1205-17.
4. Grupo de Trabajo de los Talleres de 2001 y 2002 de la Unidad de Investigación en Tuberculosis de Barcelona. Prevención y control de las tuberculosis importadas. Med. Clin. (Barc) 2003; 121 (14): 549-62.
5. WHO Report 2014 Global tuberculosis. [Fecha última consulta 30 Mar 2015]. Disponible en: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2015. [Fecha última consulta 30 Mar 2015]. Disponible en: http://ecdc.europa.eu/en/publications/_layouts/forms/Publication_DispForm.aspx?List=4f55ad51-4aed-4d32-b960-af70113dbb90&ID=1278#sthash.dUVID3UA.dpuf
7. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Informe epidemiológico sobre la situación de la tuberculosis en España. Año 2013. Madrid, 2014. [Fecha última consulta 30 Mar 2015]. Disponible en: http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/TB_Informe_2013_CNE_9febrero2015.pdf
8. Departamento de Sanidad, Bienestar Social y Familia del Gobierno de Aragón. Salud Pública. Informe sobre Tuberculosis. Aragón 2013. [Fecha última consulta 30 Mar 2015]. Disponible en: http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/SanidadBienestarSocialFamilia/Sanidad/Profesionales/13_SaludPublica/18_Vigilancia_Epidemiologica/20140324%20TBC%20INF%20WEB.pdf
9. Sanz-Peláez O, Caminero-Luna JA, Pérez-Arellano JL. Tuberculosis e inmigración en España. Evidencias y controversias. Med. Clin. (Barc). 2006; 126 (7): 259-69.
10. SEPAR-Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. Características diferenciales de la tuberculosis en inmigrantes residentes en España. Libro del año Separ 2008 sobre la Tuberculosis y la Solidaridad. 1^º ed. Barcelona: Respira Ed; 2009.

11. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis. Centro Cochrane Iberoamericano, coordinador. Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut (AIAQS) de Cataluña; 2009. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AATRM Nº 2007/26.
12. Gónzalez-Martín J et al. Documento de consenso sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. Arch. Bronconeumol. 2010; 46 (5): 255-274.
13. Millán MI. Genotipado de *Mycobacterium tuberculosis*. Diagnóstico e identificación de dos cepas altamente transmisibles y genómica de la cepa M. *Tuberculosis* Zaragoza [Tesis]. Zaragoza: Universidad de Zaragoza; 2014.
14. Dirección de Atención Primaria del Sector Sanitario Zaragoza III del Servicio Aragonés de Salud. Datos población Sector III. [Fecha última consulta 30 Mar 2015]. Disponible en: http://www.zaragoza3.es/Gerencia/Poblacion/piramide_area.htm
15. Cercenado E, Cantón R ed. Procedimientos en Microbiología Clínica (SEIMC): 9a- Micobacterias. 2ª ed. 2005.
16. Iñigo J, Arce A, Chaves F, Palenque E, Burgoa M. Patrones de transmisión de la tuberculosis en un área sanitaria de Madrid. Rev. Esp. Salud Pública 2003; 77: 541-551.
17. van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting:recommendations for a standardized methodology. J Clin Microbiol. 1993;31(2):406-9.
18. Ramos JM et al. Tuberculosis en inmigrantes: diferencias clínicopediográficas con la población autóctona (1999-2002). Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2004; 22(6):315-8.
19. Molina-Salas Y et al. Influencia del fenómeno migratorio sobre la tuberculosis en una zona semiurbana. Arch. Bronconeumol. 2014; 50 (8): 325-331.
20. Morales-García C. Características de la tuberculosis en la población inmigrante en el Área de Salud Sur de Granada. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2015;33(3):166-172.
21. Ballesteros et al. Características clínicas de la tuberculosis incidente en inmigrantes y autóctonos, en 2 hospitales de Cataluña (2000-2011). Rev. Clin. Esp. 2014; 214 (8): 445-452.
22. García-García JM, Blanquer R, Rodrigo T, Caylà JA, Caminero JA, Vidal R et al. Social, clinical and microbiological differential characteristics of tuberculosis among immigrants in Spain. PLoSOne. 2011;6:e16272.

23. Basterrechea M, Sancho R, Idígoras P, Temprano M. Caracterización de los casos de tuberculosis en población autóctona y extranjera de Guipúzcoa en el período 2003-2007. *Gac. Sanit.* 2009;23(Supl 1):74-79.
24. Fortún J, Martín-Dávila P, Navas E, López-Vélez R, Pintado V, Cobo J et al. Changes in the epidemiology of tuberculosis: the influence of international migration flows. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* 2011;29(9):654-659.
25. Borrel S, Español M, Orcau A, Tudó G, March F, Caylá JA et al. Tuberculosis transmission patterns among Spanish-born and foreign-born populations in the city of Barcelona. *Clinical Microbiology and Infection.* 2010;16 (6): 568-574.
26. Miguez AM. Diez años de vigilancia de la tuberculosis en Valencia. Diferencias autóctonas frente a extranjeros. *Boletín epidemiológico semanal.* 2013; 21 (13): 161-177.
27. Martin V, Caylà A, Del Canto M, González J. Incidencia de infección tuberculosa en la población que ingreso en un centro penitenciario español. *Medicina Clínica.* 2000. 114 (11): 437.
28. March F. Análisis de la transmisión de la tuberculosis en la población penitenciaria. *Rev Esp Sanid Penit* 1999; 1: 146-148 61.
29. Fernández-Martín JI et al. Transmisión de la tuberculosis en las prisiones de Madrid. *Medicina Clínica.* 2000; 115 (7): 246-250.
30. Couvin D, Rastogi N, Tuberculosis e A global emergency: Tools and methods to monitor, understand, and control the epidemic with specific example of the Beijing lineage, *Tuberculosis (2015)*, 1-13.