

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE MEDICINA, NUTRICION Y TECNOLOGIA MÉDICA
CARRERA DE MEDICINA
UNIDAD DE POSTGRADO
MAESTRIA EN SALUD PÚBLICA MENCION GERENCIA EN SALUD**



**RELACION COSTO EFECTIVIDAD DE LA TECNICA REACCION EN CADENA
DE LA POLIMERASA (PCR) vs. PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA
EN EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS MULTIDROGORRESISTENTE
DURANTE LA GESTION 2009**

AUTORA: DRA. YULY EVELIN CORDERO AYOROA

TUTOR: LIC. RAFAEL PEREDO RIVERA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER EN SALUD PÚBLICA
MENCION: GERENCIA EN SALUD**

AÑO: 2010

LA PAZ – BOLIVIA

AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios por haber colocado en mi camino a personas buenas y sinceras que me ayudaron en la realización de este trabajo.

Mi agradecimiento más profundo y sincero al Instituto de Genética de la Facultad de Medicina y a todo el personal que colaboro en la realización de este trabajo de investigación, sin cuyo apoyo no hubiese sido posible realizar este trabajo.

También va mi agradecimiento al Instituto de Laboratorios en Salud (INLASA) en la persona de la Dra. Mirtha Camacho y Dr. Milton Magne por su apoyo incondicional para la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres Dr. Jaime Cordero Velásquez y Sra. Martha Ayoroa por su enorme sacrificio en mi formación y en la realización de esta maestría

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION

CAPITULO I: MARCO TEORICO

1. HISTORIA DE LA TUBERCULOSIS MULTIDROGORRESISTENTE.....	1-2
2. DEFINICIONES Y CONCEPTOS	2-5
3. MECANISMOS DE RESISTENCIA.....	5-12
4. POSICIONES TEORICAS RESPECTO AL PROBLEMA.....	12-15
5. EPIDEMIOLOGIA.....	15-26
6. MANIFESTACIONES CLINICAS.....	26-27
7. DIAGNOSTICO.....	28
7.1. PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA.....	28-37
7.2. PRUEBA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA.....	37-61
8. TRATAMIENTO.....	61-64
9. PRONOSTICO.....	64-65
10. PRINCIPALES CARACTERISTICAS DEL TEMA DE ESTUDIO.....	65
10.1. ANALISIS COSTO – BENEFICIO.....	65-75

CAPITULO II: DISEÑO METODOLOGICO

1. DISEÑO O TIPO DE ESTUDIO.....	75-76
2. INTERVENCION O METODOLOGIA.....	76-93

CAPITULO III: DESCRIPCION DE LOS RESULTADOS.....93-95

CAPITULO IV: DISCUSION DE LOS RESULTADOS.....95-99

CAPITULO V: CONCLUSIONES.....99-100

CAPITULO VI: RECOMENDACIONES.....100-101

BIBLIOGRAFIA.....101-104

**RELACION COSTO EFECTIVIDAD DE LA TECNICA REACCION EN CADENA
DE LA POLIMERASA (PCR) vs. PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y
RESISTENCIA EN EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS
MULTIDROGORRESISTENTE EN EL INSTITUTO DE GENETICA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA
DURANTE LA GESTION 2009**

1. INTRODUCCION.-

El presente tema de tesis pretende realizar un análisis costo efectividad entre la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa y la Prueba de Sensibilidad y Resistencia para el diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente, este análisis busca la mejor relación entre beneficios y costos para alcanzar la forma más eficaz de realizar la vigilancia epidemiológica de la tuberculosis multidrogorresistente, tomando en cuenta que los consecuentes diagnósticos tardíos generan multidrogorresistencia y que el costo individual por paciente multidrogorresistente asciende aproximadamente a 7000 Bs. 1

Las pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosos son imprescindibles y recomendadas para la vigilancia epidemiológica de la resistencia, debida generalmente a malos tratamientos o mala supervisión de los mismos en grupos de alto riesgo difíciles de manejar y controlar (reclusos, enfermos con VIH). La sensibilidad a los fármacos esenciales se investiga en todo enfermo nuevo, en fracasos de tratamiento y en recaídas. La prueba de sensibilidad y resistencia es una técnica que tiene buena sensibilidad (70-90%) pero el aislamiento de las micobacterias por cultivo es entorpecido por su lento crecimiento, la demora hace poco útil este tipo de estudios con carácter asistencial ya que los resultados se obtienen en 6 semanas, se pueden obtener excelentes resultados si se mantienen estrictamente las normas de control de calidad. pero el neumólogo siempre recibe una imagen vieja de la situación, de tal manera que en casos en los que se requiera una toma de decisiones rápidas para instaurar una terapéutica efectiva su valor es muy limitado.

Las técnicas de Reacción en Cadena de la Polimerasa han permitido identificar que este tipo de resistencia se produce por mutaciones que el *Micobacterium tuberculosis* realiza en su genoma para sobrevivir al tratamiento antituberculoso, esto la convierte en una herramienta importante para poder afrontar el problema de multidrogorresistencia, principal problema en los próximos años en la lucha contra la tuberculosis ya que al no ser identificadas rápidamente estas cepas generan su proliferación exponencial y añadido al inadecuado manejo farmacológico incrementan la mortalidad por tuberculosis. Además de identificar las cepas de *Micobacterium tuberculosis* resistentes permiten la identificación de la susceptibilidad individual al desarrollo de reacciones adversas a los antituberculosos, lo cual permite poder orientar mejor el tratamiento en sujetos considerados como fracasos terapéuticos al tratamiento antituberculoso. Al mismo tiempo el conocer la velocidad con que un individuo metaboliza los fármacos antituberculosos podría llevar en el futuro a adecuar la dosis en aquellos que presentan un metabolismo acelerado y por lo tanto bajas concentraciones séricas de los antituberculosos, lo que podría ser la causa del fracaso al tratamiento. En los fracasos terapéuticos es particularmente importante que el nuevo tratamiento a aplicar sea elegido con la mayor información sobre las características del paciente y de la cepa causante, para incrementar al máximo las posibilidades de éxito.

Por lo tanto, la prueba de sensibilidad y resistencia, a pesar que tiene una buena sensibilidad y especificidad, no es lo suficientemente útil cuando se requiere de un diagnóstico precoz y específico (formas extrapulmonares, primoinfección tuberculosa en niños, formas cerradas, infección micobacteriana en pacientes VIH), esta particularidad es propia de la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) cuya ventaja es la velocidad con la cual puede ser hecha, además la sensibilidad de la PCR en diversos estudios fue del 100% y la especificidad fue del 75%. Sin embargo algunos estudios reportan una sensibilidad relativamente más baja, como Andersen y cols. y Cohen y colaboradores, quienes reportan de 63 y 73% respectivamente ¹².

Tomamos como antecedente un estudio extraído de la Revista *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24(8) cuyo objetivo fue validar el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa basada en generador universal de heterodúplex (PCR UHG-Rif) para la identificación de

Mycobacterium tuberculosis resistente a rifampicina y multirresistente (MDR, resistente a isoniazida y rifampicina) en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar procedentes de comunidades de elevada incidencia de tuberculosis resistente en Lima, Perú, para lo cual se comparó la determinación de la sensibilidad a fármacos antituberculosos mediante el método de las proporciones y el PCR UHG-Rif a partir de muestras clínicas, y en función de eso, analizar la capacidad diagnóstica del ensayo de PCR UHG-Rif. Donde el ensayo de PCR UHG-Rif detectó mutaciones en el gen *rpoB* y mostraba sensibilidad y especificidad excelente y adecuados valores predictivos en comparación con el método estándar en la determinación de la sensibilidad a fármacos antituberculosos. Por lo tanto, este ensayo puede ser considerado como una excelente herramienta cuya aplicación contribuirá al control de la tuberculosis, identificando correcta y oportunamente a los pacientes infectados con bacilos resistentes y MDR.³⁷

En nuestro medio el Instituto de Genética de la Facultad de Medicina en el marco de la cooperación entre la Universidad Mayor de San Andrés y el Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia, y en cumplimiento del deber de la universidad pública de responder a las necesidades de la sociedad ha diseñado el año 2006 el proyecto de aplicación de técnicas de biología molecular en la identificación de cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*, detección de la susceptibilidad genética a las reacciones adversas y en la orientación del tratamiento farmacológico en fracasos terapéuticos en sujetos tuberculosos de la ciudad de La Paz donde se procedió al cálculo de la sensibilidad y especificidad de la prueba PCR que nos permiten la descripción de la precisión de la prueba de diagnóstico; además de dos medidas que orientan de manera directa. Dicho análisis muestra los siguientes resultados. 23 muestras fueron positivas, 2 fueron falsos positivos, 8 falsos negativos, 22 muestras fueron negativas, estas últimas corresponden a las cepas sensibles. Por lo tanto la sensibilidad del método es de 74 %, la especificidad 92%, valor predictivo positivo 92 % y valor predictivo negativo 73 %. Lo que demuestra que el método Reacción en Cadena de la Polimerasa es bastante sensible y altamente específico. En conclusión estos sistemas se presentan como una excelente alternativa para la identificación temprana de pacientes infectados con bacilos de *M. tuberculosis* multidrogoresistentes en solo 48 horas ².

Basados en estos estudios es menester la aplicación de la técnica PCR en nuestro medio frente a la situación actual en el control de tuberculosis que no llena las expectativas deseadas, buscando la rápida identificación de pacientes resistentes para realizar un tratamiento efectivo en fracasos terapéuticos, planteando la siguiente pregunta de investigación:

La relación costo efectividad favorece a la técnica genotípica reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, a la prueba fenotípica de sensibilidad y resistencia de CULTIVO Y METODO DE PROPORCIONES o a ambas?

Por lo que el objetivo general del presente trabajo es :

Determinar la relación costo – efectividad de la técnica genotípica Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR en relación a la prueba fenotípica de Sensibilidad y Resistencia en el diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente durante la gestión 2009.

Y los objetivos específicos son:

Determinar los costos fijos y variables realizados por el Instituto de Genética en la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa para el diagnóstico de Tuberculosis Multidrogorresistente.

Determinar los costos fijos y variables realizados por el laboratorio del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (INLASA) encargado de realizar la Prueba de Sensibilidad y Resistencia para el diagnóstico de Tuberculosis Multidrogorresistente.

Comparar los costos fijos y variables realizados para el diagnóstico de Tuberculosis Multidrogorresistente del Instituto de Genética en relación al Instituto de Laboratorios en Salud.

La técnica costo efectividad es una técnica completa de evaluación económica de tecnologías sanitarias, a través de la cual se trata de identificar, cuantificar y valorar los

costes por unidad de efecto de dos o más alternativas de intervención sanitaria disponibles para alcanzar determinado objetivo, siempre que los respectivos resultados vengan referidos a la misma clase de efectos y estos estén expresados en términos de unidades naturales. 34.

Planteándose las siguientes hipótesis:

La relación costo – efectividad de la técnica genotípica reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION en relación a la prueba fenotípica de sensibilidad y resistencia para tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en muestras referidas al Instituto de Genética de la Facultad de Medicina favorece a la técnica genotípica reacción en cadena de la polimerasa .

La relación costo – efectividad de la técnica genotípica reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION en relación a la prueba fenotípica de sensibilidad y resistencia para tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en muestras referidas al Instituto de Genética de la Facultad de Medicina favorece a la prueba fenotípica de sensibilidad y resistencia.

La relación costo – efectividad de la técnica genotípica reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION en relación a la prueba fenotípica de sensibilidad y resistencia para tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en muestras referidas al Instituto de Genética de la Facultad de Medicina favorece a ambas pruebas.

Posterior al análisis de costos se obtiene como resultados: Para la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) un costo por prueba de 1375 Bs. y para la prueba de sensibilidad y resistencia por el método de las proporciones un costo por prueba de 148 Bs.

CAPITULO 1: MARCO TEORICO

1. HISTORIA DE LA TUBERCULOSIS MULTIDROGORRESISTENTE.-

La historia de la tuberculosis es más antigua que la historia registrada y que cualquier documento académico. Es parte integral de la historia de la medicina. En el período paleolítico la tuberculosis fue una enfermedad endémica entre animales, especialmente entre mamíferos, posiblemente causada por el *Mycobacterium bovis*.

Unos siete mil años a.C., con el desarrollo de la agricultura, apareció el *Mycobacterium tuberculosis* como mutante del *Mycobacterium bovis*. Así encontramos descripciones de la enfermedad en civilizaciones antiguas, como en Mesopotamia, donde fue considerada “la reina de las enfermedades”.

En Egipto constituyó una de las siete plagas citada en dos oportunidades en el antiguo Testamento, en la India se llamó “consunción” para significar cuerpo gastado, en Grecia “tisis” y en Europa “peste blanca”, representando la primera gran epidemia que se desarrolló durante todo el siglo XIX y la primera mitad del siglo XX, que según el Dr. Frank Ryan, afectó a un billón de personas durante la primera mitad del siglo XX, según describió en su libro: “La Olvidada Plaga”.

En 1985, debido a la pandemia del VIH sida,, la tuberculosis se transforma en un síndrome expansivo tuberculosis-SIDA que con el desarrollo de la multidrogorresistencia, se presenta en los momentos actuales como un grave problema de salud pública, especialmente en los países de bajos recursos económicos 23.

David et al. (1997) en un estudio en el marco del Programa de Control de la Tuberculosis de la OMS durante el periodo 1985 – 1994 determinaron una tasa de resistencia primaria a isoniazida en un rango de 0 a 16.9% (tasa media de 4,1%); a estreptomycin de 0.1 a 23.5 (media 3.5%); a rifampicina 0-3% (media 0.2%) y etambutol 0-13.7%(media 1.8%). Las mayores tasas de multidrogorresistencia fueron reportadas en Nepal (48%), Guajarat, India (33.8%), Nueva Cork (30.1%), Bolivia (15.3%) y Corea (14.5%).

Los avances en el conocimiento de la genética del *Mycobacterium tuberculosis* y en particular el secuenciamiento del genoma de *Micobacterium* descrita por Cole y cols. (1998) y el descubrimiento de las regiones del genoma de *Mycobacterium* involucradas en la resistencia a medicamentos permitieron el uso de la biología molecular en el diagnóstico de la tuberculosis y en la identificación de cepas de micobacterias resistentes a fármacos.

Los métodos de diagnóstico de tuberculosis mediante técnicas de biología molecular se basan en la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa, mediante esta técnica es posible amplificar regiones del genoma de *M. tuberculosis* específicas de la micobacteria, para luego ser analizadas por técnicas de electroforesis o de secuenciamiento de DNA. La ventaja de ésta técnica radica en su velocidad, entre 12 a 48 horas.

2. DEFINICIONES Y CONCEPTOS.-

2.1. TUBERCULOSIS MULTIDROGORRESISTENTE.-

La TB-MDR es la TB multidrogorresistente a dos de los principales medicamentos utilizados en su tratamiento: la isoniazida y la rifampicina. Si no se usan los medicamentos adecuados, la TB-MDR es incurable, y en la mayoría de los casos mortal. (OMS, 16 DE MARZO DE 2004 , GINEBRA)

Se debe considerar los siguientes mecanismos de resistencia:

- **RESISTENCIA NATURAL** es la que se presenta sin que la cepa bacteriana haya estado expuesta a la acción de un fármaco. Se debe a una mutación cromosómica como resultado de un fenómeno natural dentro de su multiplicación continua. 3. La probabilidad de resistencia natural depende del número de bacilos mutantes y la exposición al medicamento específico permite que se seleccione mutantes resistentes, es decir que un paciente con TBP BAAR (+) siempre tiene bacilos con resistencia natural a uno de los medicamentos. La resistencia natural no presenta ningún problema para el tratamiento, cuando los esquemas son correctamente administrados. 34

- **RESISTENCIA ADQUIRIDA O SECUNDARIA** se debe a la incorrecta administración de la quimioterapia. Cuando se indica un tratamiento con un solo fármaco o asociaciones de dos fármacos a un paciente que tiene resistencia a uno de ellos, se seleccionan los bacilos resistentes por mutación espontánea y pasan a constituir una nueva población bacilar, ahora resistente a los dos fármacos administrados. Este tipo de resistencia es cromosómico, definitivo e irreversible y, por lo tanto, cualquier fármaco que se haya administrado incorrectamente queda invalidado para siempre. Para evitar la resistencia secundaria, es necesario asegurar siempre el uso de una correcta asociación de fármacos que no se hayan empleado anteriormente o que, si se utilizaron, haya sido en asociaciones correctas 3.
- **RESISTENCIA PRIMARIA O INICIAL**, ocurre cuando un paciente que no ha recibido tratamiento, desarrolla una tuberculosis resistente a uno o más medicamentos, después de haber sido infectado por microorganismos provenientes de un enfermo con bacilos resistentes. 34
- **MONORRESISTENCIA.** La tuberculosis en aquellos enfermos en los que se confirma que las cepas infectantes de *M. tuberculosis* son resistentes in vitro a un medicamento antituberculoso de primera línea 24.
- **POLIRRESISTENCIA.** La tuberculosis de aquellos enfermos en los que se confirma que las cepas infectantes de *M. tuberculosis* son resistentes in vitro a más de un medicamento antituberculoso de primera línea, distinto de la isoniacida y de la rifampicina, puede incluir a solo uno de los dos antes mencionados, pero nunca los dos simultáneamente 24.
- **DROGORRESISTENCIA.-** Propiedad debido a mutaciones del bacilo que le confiere capacidad de resistir el efecto bactericida y/o bacteriostático de un medicamento. (WHO/IUATLD encuesta 1994-1997)

- **TB MDR CONFIRMADA.** Enfermos con tuberculosis en los que se confirma que las cepas infectantes de *Micobacterium tuberculosis* son resistentes in vitro como mínimo a la isoniazida y rifampicina.
- **TB-CON RESISTENCIA EXTENDIDA (XDR-TB).** La tuberculosis de aquellos enfermos en los que se confirma que las cepas infectantes de *M. tuberculosis* son resistentes in vitro, como mínimo, a la isoniacida, rifampicina, una quinolona (ciprofloxacino, ofloxacino, levofloxacino o moxifloxacino), más un aminoglucósido (kanamicina, amikacina).³⁴

Se deben considerar los siguientes casos de pacientes candidatos a ser multidrogorresistentes:

- **CASO:** Caso activo o paciente con síntomas y signos de la enfermedad debido a lesiones provocadas por el *Mycobacterium tuberculosis*, es útil para determinar el esquema de tratamiento, priorizar el tratamiento en los casos contagiosos, clasificar los casos de acuerdo al sitio de la enfermedad bacteriológica y antecedentes de tratamiento, registro y notificación, análisis de cohorte.
- **“CASO SOSPECHOSO”** es todo individuo que tose y expectora por más de 2 semanas, al cual se lo llama Sintomático Respiratorio (SR). A todo SR se le debe recolectar muestras de expectoración para realizar las baciloscopías ¹⁵.
- **“CASO NUEVO”** se refiere a aquellos pacientes con TB pulmonar que nunca han recibido tratamiento antituberculoso, o que lo han recibido por un periodo menor a un mes.
- **“CASOS PREVIAMENTE TRATADOS”** se refiere a aquellos pacientes que previamente recibieron medicamentos antituberculosos durante al menos 1 mes; en este grupo quedan incluidos pacientes con :

- **RECAIDA:** Paciente que habiendo sido declarado curado de una TB de cualquier forma después de un tratamiento completo, presenta nuevamente baciloscopía positiva o cultivo positivo de esputo 15.
- **FRACASO TERAPEUTICO:** Paciente cuyas baciloscopías persisten o vuelven a ser positivas al cuarto mes del esquema I y quinto mes del esquema II, cumpliendo estrictamente el tratamiento supervisado de la toma de medicamentos. 15.
- **ABANDONO:** Paciente que estuvo recibiendo tratamiento por más de 30 días y que lo interrumpe por más de 30 días cuya baciloscopía de reingreso es positiva. Al ser un caso previamente tratado se debe solicitar cultivo y pruebas de sensibilidad y resistencia, ante la posibilidad de tener resistencia secundaria. Si el paciente retorna en menos de 6 meses y es BAAR (-) debe completar el tratamiento que le falta. Si retorna después de 6 meses y es BAAR (-) debe solicitarse cultivo y con el resultado se decide conducta terapéutica. 15.
- **CRONICO:** Paciente con antecedente de más de dos tratamientos previos (fracaso o recaída al esquema II) independientemente que hayan completado o no el esquema de tratamiento. En estos casos se debe solicitar cultivo, pruebas de sensibilidad y resistencia antes de definir el esquema de tratamiento. Un caso crónico es considerado sospechoso de tuberculosis multidrogorresistente.34

3. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS DE PRIMERA LÍNEA

Conocemos como multidrogorresistencia (MDRTB) la presencia de bacilos resistentes a la rifampicina y a la isoniacida, dos drogas bactericidas, potentes, bien toleradas y que aseguran la curación rápida del individuo.

En 1985 Snaider y col. demostraron que los riesgos de infección entre personas expuestas a los bacilos resistentes es igual al riesgo de contagio con bacilos susceptibles 23.

Los mecanismos moleculares de resistencia a fármacos son: inactivación del fármaco, dificultad de acceder al blanco y alteración del blanco por mutación. De estos tres, solamente el tercero se ha descrito como mecanismo de resistencia en el *M. tuberculosis*. Esta resistencia es el resultado de mutaciones génicas espontáneas que ocurren con una frecuencia aproximada de 10^{-5} a 10^{-8} . Actualmente se conocen diez genes y sus productos proteicos involucrados en dicha resistencia: cuatro genes cuyas mutaciones condicionan resistencia a isoniazida (KatG, inhA, kasA y oxyR, ahpc); se ha identificado un gen en la resistencia a etambutol (embB); uno en la resistencia a fluorouinolonas (gyrA); uno en la resistencia a estreptomina y un gen (rpoB) en la resistencia a rifampicina; en éste último se ha descrito una región que contiene los puntos calientes para mutaciones causantes de resistencia se encuentran en sólo 2 genes katG y rpoB.

La tuberculosis multidrogorresistente tiene su origen en el tratamiento irregular o parcial, es decir, cuando el enfermo no toma todos los medicamentos prescritos de manera regular durante el periodo fijado porque empieza a sentirse mejor, porque el tratamiento prescrito por el médico o el agente de salud es incorrecto, o bien porque el suministro de medicamentos no es fiable. Una forma particularmente peligrosa de tuberculosis multidrogorresistente es la tuberculosis multidrogorresistente, definida como la enfermedad provocada por bacilos de tuberculosis resistentes por lo menos a la isoniazida y la rifampicina, los dos fármacos antituberculosos más eficaces. Esta forma de tuberculosis, que ha adquirido grandes proporciones en algunos países, especialmente en la ex Unión Soviética, amenaza con malograr los esfuerzos de lucha contra la enfermedad.

Los resultados de análisis genéticos y moleculares sugieren que las bacterias usualmente adquieren resistencia a los medicamentos antimicrobianos mediante la modificación de la estructura química del fármaco, mutación o sobre producción de la diana respectiva. La multidrogorresistencia en *M. tuberculosis* resulta, en primera instancia, de la acumulación de mutaciones en los genes que sirven como dianas (ellos o sus productos) de un compuesto en particular. La probabilidad de que surja resistencia es muy alta frente a los medicamentos menos efectivos, como tiacetazona, etionamida o capreomicina; los compuestos con eficacia intermedia, como isoniazida, estreptomina, etambutol, kanamicina y ácido p-amino-salicílico. Rifampicina ofrece la menor probabilidad de que

surjan mutaciones. De acuerdo con lo anterior, la probabilidad de que aparezca una mutación a un medicamento antituberculoso dado es directamente proporcional a la carga bacteriana. Debido a que las mutaciones que confieren resistencia a los microorganismos son de origen cromosómico, la probabilidad de que surjan mutantes que sean resistentes simultáneamente a dos o más medicamentos es el producto de las probabilidades individuales. Entonces, la probabilidad de que surjan mutantes MDR es multiplicativa. La resistencia a un medicamento no confiere ventajas selectivas a las micobacterias a menos que éstas se expongan a dicho compuesto. Bajo estas circunstancias las cepas sensibles mueren y las mutantes resistentes se multiplican. Entonces, cuando un paciente se somete a un segundo tratamiento con solo un medicamento se seleccionan las mutantes resistentes a este nuevo compuesto, y eventualmente una misma micobacteria Tuberculosis causada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* drogorresistentes puede ser resistente a uno o más medicamentos. De tal manera que la selección en serie de resistencia es el mecanismo predominante para el desarrollo de cepas MDR. La acumulación de mutaciones en un gen individual y la permeabilidad de la pared de las micobacterias influyen importantemente en la probabilidad de resistencia ¹⁴.

Los microorganismos localizados dentro del material caseoso están en un ambiente donde el PH bajo es apto para inhibir la actividad de los agentes como aminoglucósidos.

3.1. RESISTENCIA A ISONIAZIDA

La isoniazida (INH) (hidrazida del ácido isonicotínico o 4-ácido piridincarboxílico hidrazida), es muy activo contra el complejo M. tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*). Es decir, tiene una dosis inhibitoria mínima (MIC, por sus siglas en Inglés) muy pequeña (0,02 µg/ml a 0.06µg/ml).

El mecanismo de acción de INH, así como los mecanismos que confieren resistencia a INH son complejos y aún no se comprenden cabalmente. Sin embargo, Takayama y colaboradores (1975) han sugerido una acción primaria de isoniazida para inhibir la biosíntesis de los ácidos micólicos que son constitutivos importantes de la pared micobacteriana, los cuales son ácidos grasos β-hidroxilados de cadena muy larga con

cadena lateral y son característicos de estas especies de microorganismos y, por ello, dicha acción podría explicar el alto grado de selectividad de la actividad antimicrobiana de la isoniazida. Estas estructuras permiten que las micobacterias sean muy susceptibles a radicales de oxígeno reactivo y a otros factores ambientales. La exposición o contacto con el fármaco hace que se pierda el carácter “ácido resistente” y disminuya la cantidad de lípido extraíble con metanol de las micobacterias 17.

La INH es una prodroga que requiere activación. La activación produce compuestos que oxidan y acetilan proteínas, convirtiéndose en un intermediario electrofílico. Para ello se requiere la enzima KatG (codificada por el gen KatG), y peróxido de hidrógeno, que funciona como un amortiguador de electrones (electron sink, en inglés). KatG es la única enzima capaz de activar a INH.

En 1940 se descubren las cepas resistentes a INH que frecuentemente carecen de acción catalasa y peroxidasa. Zhang et al. (1992) clona y secuencia el gen que codifica la enzima catalasa peroxidasa (katG). Identifica a esta catalasa como la activadora de la INH y describe mutaciones en katG asociadas con resistencia a INH. El gen KatG codifica la enzima catalasa peroxidasa produciendo detoxificación de radicales antimicrobianos producidos por el organismo huésped y es importante para la sobrevivencia de MTB dentro de los macrofagos.

Las mutaciones son encontradas en el 42-58% de las cepas resistentes. La mutación S315T es la más frecuente en el 40% de las cepas resistentes. Existe una relación entre la localización de la mutación y el grado de resistencia a la isoniazida. La localización S315T impide la activación de la INH, conservando un 50% de la actividad catalasa y peroxidasa de la enzima., suficiente para su sobrevivencia 9.

Consecuentemente las mutantes de *M. tuberculosis* son invariablemente resistentes a INH. Por otro lado, se ha demostrado que todas las cepas con mutaciones en KatG sobre expresan una proteína de 22-kDa llamada AhpC, la cual detoxifica peróxidos orgánicos y es homóloga a otras proteínas de bacterias y eucariotes con actividad de alquilhidroperoxidasa y peroxidasa dependiente de tioredoxina.

El gen *oxyR* también está involucrado en la adquisición de resistencia a INH. Se ha observado que mutaciones en la región *oxyR* del que *AhpC* es transcrito divergentemente, podría explicar la adquisición de resistencia a INH en ciertos aislados.

Otro gen involucrado en la resistencia a INH es *inhA*, el cual se ha propuesto como una diana primaria para la corresponsión a INH y etionamida. El locus *inhA* está compuesto por dos marcos de lectura abiertos (ORFs, en Inglés), llamados *orf1* e *inhA*. Estos genes están separados por una región no codificante de 21-bp. La enzima *InhA*, una enoil-ACP reductasa, tiene una similitud de más de 40% con la proteína *EnvM*. *EnvM* cataliza un paso inicial de la síntesis de ácidos grasos en enterobacterias. Se ha propuesto que *inhA* utiliza NAD(H) como cofactor, igual que *EnvM*. En este caso la susceptibilidad a INH podría ser el resultado de la incorporación de iso-NAD, la cual se forma como consecuencia de la acción de *KatG* sobre INH, que inhibe la actividad de la enzima *InhA* y por lo tanto bloquea la síntesis de ácidos grasos.

Las mutaciones en los genes *KatG* e *inhA* están asociados a aproximadamente al 70% a 80% de los aislados resistentes a INH, pero los mecanismos de resistencia en los aislados restantes aún se desconocen. El papel de la pared y de la membrana celular de *M. tuberculosis* debe ser explorado con mayor detalle, particularmente en lo referente a la resistencia a INH ¹⁴.

3.2. RESISTENCIA A RIFAMPICINA

La rifampicina (RIF) fue introducida al mercado en 1972 como un medicamento antituberculoso. Es extremadamente efectivo contra *M. tuberculosis*. Este compuesto tiene una MIC de 0,1 µg/ml a 0,2 µg/ml. Debido a su alta actividad bactericida RIF, junto con INH, forma la columna vertebral de la quimioterapia de curso corto. La resistencia a RIF se está incrementando en el mundo debido a su amplia aplicación. Las mutantes resistentes a RIF generalmente tienen otras mutaciones que les confieren resistencia a otros

medicamentos de la terapia de curso corto. Por lo tanto, se ha propuesto que la resistencia a RIF puede ser un indicador de la presencia de multidrogorresistencia.

Los microorganismos, incluidas las micobacterias, pueden presentar resistencia a la rifampicina a muy breve plazo in vitro como un proceso monofásico, y uno de cada 10⁷ a 10⁸ bacilos de la tuberculosis es resistente al fármaco; ello parece ser la situación que priva in vivo; y por ello no debe utilizarse la rifampicina sola en la quimioterapia de la tuberculosis 17.

La RNA polimerasa es un complejo oligomérico compuesto por cuatro subunidades (las cuales están codificadas por rpoA, rpoB, rpoC y rpoD, respectivamente). Esta enzima está altamente conservada en bacterias.

Se ha demostrado que RIF interactúa específicamente con la subunidad β de Escherichia coli y por lo tanto inhibe la transcripción. Las mutaciones en el locus rpoB producen cambios conformacionales en la subunidad β de la RNA polimerasa, lo que disminuye la afinidad por RIF y consecuentemente confiere resistencia a este compuesto en el organismo mutante.

El mecanismo de acción de la rifampicina es inhibir la transcripción micobacteriana. Talenti et al. (1993) identificaron mutaciones en el mismo gen rpoB de M. tuberculosis en cepas resistentes a la rifampicina. El desarrollo de resistencia a rifampicina es la mutación en la región central (subunidad beta) de este gen, que codifica la subunidad β de la RNA polimerasa. Estas mutaciones pueden darse en pacientes que están comenzando el tratamiento antituberculoso 10.

La mayoría de los aislados resistentes a RIF están localizados en una pequeña región de 81-pb y predominantemente dichas mutaciones consisten en cambios de un solo nucleótido, lo cual resulta en la sustitución de un solo aminoácido. Sin embargo, también ocurren deleciones o inserciones dentro del marco de lectura, aunque con menor frecuencia. Los cambios en los codones Ser531 e His526 representan más del 70% de los aislados RIF-resistentes. Existe una pequeña proporción de aislados RIF-resistentes cuya deleción no se

localiza en la región de 81-pb. Por ello se ha propuesto que existen mecanismos adicionales de resistencia, incluyendo la permeabilidad a RIF y mutaciones en otras subunidades de la RNA polimerasa 14.

3.3. RESISTENCIA A ETAMBUTOL (EMB)

Etambutol (EMB) [dextro-2,2'-(etildiimino)-di-1onol], es un compuesto sintético con muy buena actividad antimicobacteriana y tiene un amplio espectro de actividad. A diferencia de INH, el EMB se recomienda para tratar infecciones diseminadas del complejo *M. avium*, especialmente en personas infectadas con VIH.

La especificidad que muestra EMB por las especies de micobacterias sugiere fuertemente que la diana para este medicamento está relacionada con la síntesis de la capa externa de la pared celular. El efecto sinérgico que tiene EMB con otros medicamentos antituberculosos fortalece la hipótesis de que EMB interfiere con la formación de la pared celular. Este efecto sinérgico se explica como una consecuencia de una permeabilidad incrementada por efecto del EMB, permitiendo la entrada de mayor cantidad de los otros medicamentos. Se ha demostrado que β -D-arabinofuronosil-1-monofosforil decaprenol (DPA) se acumula rápidamente en menos de 2 minutos en bacilos sensibles, expuestos a EMB.

DPA es un donador de arabinosa, la cual es uno de los principales intermediarios de la síntesis de arabinana. Recientemente se demostró que EMB inhibe específicamente la transferencia de arabinosa. La identificación de la enzima arabinosil transferasa como la diana principal del EMB fue de gran ayuda para entender la base genética de la resistencia a EMB. Diversos estudios han mostrado que los genes *embA* y *embB*, que codifican para esta enzima (la cual se ha sugerido que es heterodimérica), además de ser un promotor divergente son esenciales en el mecanismo de resistencia a EMB. También se identificó el gen *embC* en el mismo locus.

Las alteraciones en la secuencia de la región *embCAB* correlaciona con alrededor del 70% de cepas resistentes a EMB. Por otro lado, se ha documentado la sobreexpresión de la

proteína embB en cepas resistentes de *M. smegmatis* y se ha sugerido que un mecanismo homólogo podría estar ocurriendo en *M. tuberculosis*; lo cual podría explicar el mecanismo de resistencia del 30% restante de los aislados resistentes a emb 14.

La resistencia bacteriana al fármaco surge in vivo cuando se administra sin que se use de modo concomitante otro compuesto eficaz.

3.4. RESISTENCIA A PIRAZINAMIDA

Pirazinamida (PZA) es un análogo estructural de nicotinamida. En 1952 se demostró que este compuesto tiene una considerable actividad antituberculosa, pero adquirió importancia como componente de la quimioterapia de curso corto hasta mediados de los 80's. PZA, es activa contra bacilos semilantes, los cuales no son afectados por ningún otro medicamento antituberculoso. Además, PZA sinergiza fuertemente a INH y RIF, lo que permite acortar el esquema de tratamiento 9 o 12 meses a 6 meses. La MIC de PZA es de 8 µg/ml a 60 µg/ml. Sin embargo, aun a dosis muy altas este medicamento no tiene un efecto bactericida significativo. La actividad de PZA es altamente específica para *M. tuberculosis*; es decir, este medicamento no es efectivo contra otras micobacterias, incluyendo *M. bovis* debido a que *M. bovis* carece naturalmente de la enzima Pirazinidasa, la cual hidroliza a la PZA, convirtiéndola en ácido pirizinoico. Se ha propuesto que este compuesto es la forma activa de la PZA. En este contexto, sucede lo mismo con PZA y con INH con respecto a que ambas deben ser transportadas dentro de la célula, donde son convertidas a sus formas activas respectivas. En apoyo de esta hipótesis se ha observado que cepas de *M. tuberculosis* y *M. bovis* resistentes a PZA son sensibles in vitro al ácido pirizinoico. La enzima pirazinidasa, Pzase de *M. tuberculosis* tiene actividad tanto como pirazinamidasa como nicotinamidasa. El gen de *M. tuberculosis* pncA codifica para la amidasa.

En *M. bovis* existe este gen, en el cual se ha identificado un solo punto de mutación que resulta en la sustitución de His por Asp en la posición 57, lo cual es suficiente para que la pirazinidasa de *M. bovis* sea inactiva. Lo anterior, la diana celular para PZA aún no se ha

identificado, aunque la aparente similitud entre PZA y nicotinamida sugiere que las enzimas involucradas en la biosíntesis de piridin-nucleótido son probables dianas ¹⁴.

3.5. RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA Y OTROS INHIBIDORES DE SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

Estreptomicina (ST) es uno de los medicamentos más antiguos contra *M. tuberculosis*. Este compuesto interfiere con la decodificación de los aminoacil-tRNAs y por lo tanto inhibe la síntesis de mRNA. Uno de los mecanismos más conocidos para la adquisición de resistencia a ST es la acetilación de este compuesto debido a enzimas que modifican a los aminoglicósidos. Sin embargo, este mecanismo no se ha encontrado aún en *M. tuberculosis*. La resistencia a ST se ha atribuido, al menos parcialmente, a dos clases distintas de mutaciones, incluyendo mutaciones puntuales en la proteína ribosomal S12, codificada por el gen *rpsL*, y mutaciones en el operón *rrs* que codifica para el rRNA 16S rRNA ¹⁴.

4. POSICIONES TEORICAS RESPECTO AL PROBLEMA.-

4.1. IMPLICACIONES DEL SURGIMIENTO DE CEPAS MDR

Algunos de los factores de riesgo para Tuberculosis Multidrogorresistente (TB MDR) son : los abandonos de tratamiento, tener antecedentes de tratamiento, haber tenido tratamiento inicial con drogas de segunda línea para TB, tener tratamiento con esquemas diferentes al normado por el Programa de Control de Tuberculosis, tomar medicamentos en casa sin supervisión, tener contacto domiciliario con pacientes con Tuberculosis Multidrogorresistente, tener contacto extradomiciliario con pacientes con Tuberculosis Multidrogorresistente y tener un familiar fallecido con TB ²⁰.

La administración del tratamiento acortado estrictamente supervisado (TAES) parece ser la forma más efectiva de disminuir la resistencia primaria, la resistencia adquirida, y las recaídas. Sin embargo, el éxito de este intento en los años venideros requiere del esfuerzo concertado de los gobiernos de todos los países del mundo, de las instituciones competentes y de un compromiso solidario de la sociedad.

Los pacientes con TB MDR es necesario referirlos al segundo y tercer nivel de atención, fomentar y apoyar la investigación básica y epidemiológica de la TB, al igual que desarrollar y perfeccionar métodos de diagnóstico más rápidos que los actuales y que sean suficientemente sensibles y específicos.

Se requieren de nuevos medicamentos antituberculosos que sean sobre todo efectivos contra las cepas MDR y de baja toxicidad para el ser humano, así como mejorar la efectividad de las vacunas contra TBP.

La existencia de personas resistentes se deriva, en parte, a que la cura de la tuberculosis es muy lenta. Cada enfermo debe consumir todos los días durante seis a ocho meses una serie de pastillas. Por ello, mucha gente abandona las medicinas o se olvida de consumirlas, lo que provoca que las drogas ya no le sirvan después.

Entre las personas multidrogosresistentes (MDR), para el año 2002 habían 45 ó 50 enfermos en Bolivia, de los cuales 38 recibían el tratamiento subvencionado (gratuito) quienes no podían ser considerados multidrogos si no tenían documentos de verificación que acrediten su condición, además otras 75 personas esperaban que el programa las califique como MDR para acceder a la costosa cura. Estos pacientes debían ser evaluados por el Comité Nacional de Multirresistencia, que determinaría quiénes se beneficiarían con el plan.

Según la Dra. Mirtha Camacho a fin del mes de marzo de 2002 los diez primeros pacientes MDR completarían con éxito su tratamiento: dos personas en La Paz, tres en Yacuiba y el resto en Santa Cruz. Pacientes que tuvieron que consumir los fármacos durante dos años y medio de manera constante, corriendo riesgo de padecer dolores de cabeza y problemas gástricos, síndrome de ansiedad, depresión que puede llevar al suicidio, necesitando ayuda psicológica.

En algunos casos las reacciones adversas pueden ser tan graves que causan la muerte del paciente o le crean una lesión iatrogénica grave (insuficiencia hepática); en la mayor parte de los casos a pesar de no producirse reacciones muy graves, de todas formas imposibilitan la continuación del tratamiento iniciado. En los últimos años la genética ha enseñado que estas reacciones individuales a dosis convencionales de fármacos, se deben, en gran parte de los casos, a características genéticas individuales, determinados por particulares polimorfismos de genes que codifican enzimas involucradas en el metabolismo de los fármacos. En particular diferentes haplotipos de los genes NAT2 y CYP2E1 han sido asociados con un riesgo mayor de reacciones adversas a los fármacos antituberculosos. Las técnicas de biología molecular nos permiten analizar estos genes, a partir de una muestra de sangre, en pocas horas posibilitando la orientación al médico tratante sobre los posibles riesgos de cada individuo. Asimismo el contar con técnicas para la identificación de cepas de MTB resistentes y para la identificación de la susceptibilidad individual al desarrollo de reacciones adversas a los antituberculosos nos permite orientar mejor el tratamiento en sujetos considerados como fracasos terapéuticos al tratamiento antituberculoso. Al mismo tiempo el conocer la velocidad con que un individuo metaboliza los fármacos antituberculosos podría llevar en el futuro a adecuar la dosis en aquellos que presentan un metabolismo acelerado y por lo tanto bajas concentraciones séricas de los antituberculosos, lo que podría ser la causa del fracaso al tratamiento. En los fracasos terapéuticos es particularmente importante que el nuevo tratamiento a aplicar sea elegido con la mayor información sobre las características del paciente y de la cepa causante, para incrementar al máximo las posibilidades de éxito.

Según la Dra. Mirtha Camacho otro de los principales problemas a los que se enfrentan las autoridades sanitarias es el subregistro o la falta de notificación de la enfermedad por parte de algunos seguros, cajas de salud, servicios privados, organizaciones no gubernamentales y seguros de las Fuerzas Armadas, de la Policía y de las cárceles Asimismo indicó que otros factores importantes que obstaculizan la detección oportuna de esta enfermedad son la falta de acceso a los servicios de Salud y el horario de atención de éstos. A esto se suma la lejanía de los servicios de Salud, especialmente en el área rural. Según la responsable nacional, gran parte de los pobladores en riesgo se concentra en los hospitales que atienden

sábado y domingo porque es la única oportunidad que tiene la gente para ir al pueblo, comprar y vender en la feria y consultar a los galenos 25.

Según el Comité Internacional de la Cruz Roja (CICR), las cárceles también deberían ser el objetivo prioritario de los programas nacionales de lucha contra la tuberculosis, ya que constituyen un caldo de cultivo de la enfermedad, especialmente de sus formas fármacos resistentes.

Las cárceles son un excelente caldo de cultivo de la tuberculosis. El hacinamiento, las malas condiciones higiénicas, la falta de ventilación, una atención médica deficiente y la desnutrición favorecen la propagación de las bacterias. “Es importante recalcar que contraer la tuberculosis *no* forma parte de la condena de un preso. En algunos países, contraer una forma resistente de la tuberculosis equivale a la pena de muerte”, dice el doctor Reyes. La gente que entra y sale de los centros penitenciarios transmite, involuntariamente, el bacilo al resto de la comunidad; de ahí la urgencia de controlar la tuberculosis en los centros de detención.

El CICR lucha, desde hace unos 10 años, contra la tuberculosis en las cárceles del Cáucaso, Asia central, América Latina y África, ya sea directamente o colaborando con los programas locales. En Asia central, Kirguistán ha sido el primer país en poner en marcha un programa de lucha contra la tuberculosis MDR en las cárceles. 22.

Cada enfermo con tuberculosis pulmonar positiva puede contagiar a 12 personas por año. A las dos semanas de iniciado el tratamiento de ocho meses, el paciente cesa de contagiar.

De acuerdo a Julia Quispe, responsable del programa de lucha contra esta enfermedad del Servicio Departamental de Salud (SEDES), es que muchos pacientes llegan a tratamiento luego de haber acudido a soluciones naturistas y comprobar el fracaso de éstas, probablemente en calidad de portadores de bacilos MDR 30.

5. EPIDEMIOLOGIA.-

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la tuberculosis afecta a un tercio de la población mundial, alrededor de 9 millones de personas se infectan anualmente,

especialmente en la India, China y África de las cuales 490.000 son MDR-TB, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 31.

Según la OMS, la tasa de incidencia estimada para el 2006 muestra que el África Sub-Sahariana (Región Sur y Este) presenta tasas de incidencia de TBP BAAR (+) por encima de 300/100 000 habitantes, debido a la alta carga de VIH/SIDA. En el caso de los países del este de Europa, la tuberculosis multidrogorresistente constituye un grave problema. A nivel global, la tasa de detección de TBP BAAR (+) fue de un 62% en el 2005 con relación al 70% esperado y la tasa de éxito de tratamiento para ese mismo año fue de 84%, en relación al 85% esperado. El número acumulado de países que implementan el DOTS como estrategia para controlar la tuberculosis, se ha incrementado de 187 a 212 estados miembros de la OMS entre 1991 al 2005 34

En la región de las Américas son 12 países que reportan el 80% de los casos, de éstos Perú y Brasil representan un 50%.34

En América el año 2004, se produjeron 370 mil nuevos casos y 53 mil muertes, acaecidos especialmente en países pobres. Bolivia es el tercer país más afectado por la tuberculosis en el continente americano. La OMS ha estimado que entre el año 2000 y el 2020, 200 millones de personas enfermarán y 35 millones morirán en el mundo de tuberculosis si no se hace un riguroso control 5.

Según el Reporte 2007 del Control Global de la Tuberculosis de la OMS, la tasa de detección de casos TBP BAAR (+) para el 2006 fue del 69% y la cobertura del DOTS del 91%. Ambos indicadores con una tendencia secular ascendente desde 1997 al 2006, a diferencia del éxito de tratamiento que presentó una tendencia estacionaria hasta el 2003, registrando un descenso de 80 a 78% en el 2006 respecto al total notificado.34

De acuerdo con un informe de la OMS, 9,4 millones de personas en el mundo resultaron infectadas de tuberculosis el año 2009 y 1,7 millones murieron por esta causa, entre las que se incluyen 380.000 personas con tuberculosis asociada al VIH. La autoridad informó que cada Servicio Departamental de Salud y establecimiento de salud organizará actividades de conmemoración por la fecha de lucha contra la tuberculosis para llamar la atención de las

autoridades y la sociedad, a fin de que tomen conciencia de que la enfermedad está presente. 41.

En Bolivia la tuberculosis continua siendo un problema de gran magnitud y trascendencia, está clasificada dentro de los 12 países con alta carga en las Américas y en segundo lugar después de Haití.

En Bolivia para el año 1995 la incidencia de tuberculosis en todas sus formas era de 128.8 x 100 000 Hbs. Y la incidencia de tuberculosis pulmonar BAAR (+) era de 94.6 x 100 000 Hbs. Para el año 2005 esta incidencia ha disminuido siendo para la tuberculosis en todas sus formas 97.6 x 100 000 Hbs, y para la tuberculosis pulmonar BAAR (+) de 66.6 x 100 000 Hbs. Sin embargo, los casos notificados en Bolivia de tuberculosis pulmonar BAAR (+) para el 2005 fueron 6278 de ambos sexos, de los cuales el grupo etáreo más comprometido se encontraba entre los 15 y 34 años con 2045 casos de sexo masculino y 1379 casos de sexo femenino, población en edad productiva (PNCT), por diversas causas, pero sobretodo la pobreza, es la más afectada por la tuberculosis, abarcando 89.5 por cada 100.000 habitantes. Las mujeres han igualado la cantidad de varones infectados con tuberculosis, el tratamiento individual de la enfermedad tiene un costo de 14 dólares, pero para un paciente multidrogorresistente supera los ocho mil dólares, ocupando el segundo lugar de prevalencia en el continente después de Haití, se debe estratificar. Existen lugares donde esta incidencia asciende a 500 casos por cada cien mil habitantes: los Yungas, Caranavi, Ichilo, el Chapare y Yacuiba 25.

Durante la gestión 2007 la tasa de incidencia de tuberculosis en todas sus formas en la gestión 2007 fue de 81.9/100 000 hts. y de 57.9/100 000 de TBP BAAR(+). Según el promedio nacional, los departamentos de Pando, Beni, Santa Cruz y Tarija presentan tasas de incidencia de TBP BAAR (+) superiores a 57.9 /100 000 habitantes, constituyéndose en departamentos en riesgo muy severo (tasa de incidencia por encima de 70/100 000 habitantes). El resto está por debajo de este promedio catalogados en riesgo severo (Tasa de incidencia por debajo de 70/100 000 habitantes), presumiéndose que se debería a una subnotificación y baja detección de casos. La tasa de éxito de tratamiento de la cohorte TBP BAAR (+) para el 2006 presentó un incremento de 2.4 puntos porcentuales, con

relación al 2005 (de 80.5 a 82.9%) y un incremento de 0.4 puntos en el porcentaje de abandono (de 5.5% a 5.9%) en ese periodo.³⁴

Según la responsable del Programa Nacional de Control de Tuberculosis, Miriam Nogales en Bolivia se han registrado 8.298 casos en 2008. Los casos de tuberculosis pulmonar son 6.035 y el resto se registró en otros órganos”, la población joven es la más afectada por este mal. “El 64 por ciento de los casos contagiantes se presentó en personas menores de 55 años”.

El departamento donde se presentan más casos de tuberculosis es Santa Cruz, debido a los flujos migratorios del occidente hacia el oriente. ³³

En el departamento de La Paz, para el año 2003, se encontraron 23 820 sintomáticos respiratorios y 1600 casos de BAAR (+). Y para el año 2006, se encontraron 25 682 sintomáticos respiratorios y 1436 casos de BAAR (+).

Para el año 2007 se han reportado 1250 casos de TBP BAAR, 1933 casos de TB en todas sus formas (pulmonar y extrapulmonar) y 2083 casos en total (recaídas, fracasos y abandonos). Para el 2008 se han reportado 1378 casos de TBP BAAR, 2337 casos de TB en todas sus formas (pulmonar y extrapulmonar) y un incremento de 2498 casos en total (recaídas, fracasos y abandonos). Sin embargo, sólo el 49 por ciento de las personas que están infectadas con el bacilo de Koch, fueron atendidas por algún centro de salud público del sistema departamental. El 51 por ciento restante no buscó atención especializada porque emigró a otro departamento o al exterior del país, o porque a sabiendas de que está enfermo recurre a un médico naturista o se automedica.

Para el SEDES, este incremento es normal en vista del crecimiento poblacional y las migraciones.

Del conjunto medicado, sólo el 82 por ciento llevó a término su tratamiento. El resto de la población lo abandonó o bien decidió cambiar de lugar de residencia al interior o exterior del país, por lo que no se pudo llevar a cabo el seguimiento. Un 60 por ciento de los

pacientes son varones y el restante, mujeres, según las estadísticas del médico Juan José Míguez, jefe del Departamento de Neumología del Hospital del Tórax, de Miraflores. Este nosocomio atiende al año un promedio de 500 casos, cuantificación que abarca tanto los casos de tuberculosis pulmonar como los de extrapulmonar (en otros órganos).

Para el año 2008, los departamentos de Santa Cruz y Tarija eran catalogados de “riesgo muy severo” encabezando las tasas de incidencia más altas de tuberculosos del país, y según el Ministerio de Salud y Deportes el resto de las regiones tienen, aparentemente, porcentajes inferiores.

El amplio segmento de la población boliviana comprendida entre los 15 a 34 años de edad, por diversas causas, pero sobretodo la pobreza, es la más afectada por la tuberculosis. De acuerdo al Programa Contra la Tuberculosis, 89.5 por cada 100.000 habitantes de este grupo padece del mal.

Las personas mayores de 60 años es el otro grupo con altas tasas de incidencia de esta endémica enfermedad con la preocupante incidencia de 141.2 personas por cada 100.000 y 1.5 hombres por cada mujer, es decir, que más varones son portadores del bacilo de Koch
32.

Para el año 2009 la responsable del Programa Nacional de Control de Tuberculosis Miriam Nogales indicó que la incidencia de la tuberculosis pulmonar era de 60 por cada cien mil personas. El 3% de los que inician tratamiento mueren. "No hay datos reales sobre la mortalidad por tuberculosis porque mucha gente es enterrada en cementerios clandestinos y porque no se registra la causa real de la muerte".

En cambio para el año 2010 informó que 54 municipios de ocho departamentos son considerados de alto riesgo porque el país sigue siendo endémico en la enfermedad, ya que en promedio se diagnostican seis mil casos anuales. 39.

La mayor cantidad de municipios con alta incidencia de tuberculosis se encuentra en los departamentos de La Paz y Santa Cruz, donde se registra el 54% del total.

La clasificación de "alto riesgo" de los 54 municipios se origina en el hecho de que en los mismos se presentan más de 80 casos de tuberculosis por cada 100 mil habitantes, cuando la tasa promedio del país está en 60 por cada 100 mil habitantes.

Los 54 municipios se distribuyen: 16 en La Paz (29,6%), 13 en Santa Cruz (24%), 6 en Chuquisaca (11%), 5 en Cochabamba (9,2%), 4 en Tarija (7%), 4 en Pando (7%), 4 en Potosí (7%) y 2 en Beni (3,7%).

En el departamento de La Paz, se trata de municipios principalmente ubicados en la región de los Yungas, como ser Teoponte, Caranavi, La Asunta, Coroico, Chulumani, Coripata, Tipuani, entre otros.

En Santa Cruz, los municipios de alto riesgo, además de incluir a la capital y municipios aledaños, se distribuyen en todo el departamento; entre otros están en la lista: Santa Cruz de la Sierra, El Torno, La Guardia, Montero, Cuatro Cañadas, Ascensión de Guarayos, Camiri, Puerto Quijarro, Boyuibe.

Lo mismo ocurre en Pando y Beni, donde las listas de los municipios de alto riesgo la encabezan las capitales, Cobija y Trinidad.

En tanto que en Chuquisaca, los municipios afectados por el mal sobre todo son "rurales": Machareti, Villa Abecia, Yamparáez, Huacaya, Culpina y Camargo.

En el caso de Cochabamba, los municipios de alto riesgo en tuberculosis principalmente son de la región del chapare: Chimoré, Puerto Villarroel, Villa Tunari, Entre Ríos y Tiraque.

En tanto que en Tarija, los afectados principalmente son los del chaco tarijeño: Villamontes, Carapari y Yacuiba, además de Bermejo.

En Potosí, la prevalencia de la enfermedad tiene que ver con la actividad minera: Llallagua, Porco, Acasio y Arampampa.

Asimismo, en todos los países estudiados se ha comprobado la aparición de cepas resistentes a un medicamento, e incluso han aparecido cepas resistentes a todos los

principales fármacos antituberculosos. La tuberculosis multidrogorresistente (MDR) tiene su origen en el tratamiento irregular o parcial, es decir, cuando el enfermo no toma todos los medicamentos prescritos de manera regular durante el periodo fijado porque empieza a sentirse mejor, porque el tratamiento prescrito es incorrecto o porque el suministro de medicamentos no es fiable.

La incidencia global de Tuberculosis Multidrogorresistente en el mundo en el año 2004 era de 424 203 casos o 1.3% de pacientes nuevos y antes tratados. China, India y la Federación Rusa presentaron 261 362 casos de tuberculosis multidrogorresistente o 62% de la incidencia global de la enfermedad s.

Según un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en algunas zonas de Europa Oriental y Asia Central los pacientes con tuberculosis (TB) tienen una probabilidad 10 veces mayor de presentar TB multidrogorresistente (TB-MDR) que en el resto del mundo. Otras zonas muy afectadas son China, Ecuador, Israel y Sudáfrica. Nuevos datos hechos públicos hoy confirman la concentración geográfica de la TB multidrogorresistente (MDR) en la Comunidad de Estados Independientes. Seis de las diez zonas más afectadas en todo el mundo son Estonia, Kazajstán, Letonia, Lituania, algunas regiones de la Federación Rusa y Uzbekistán, donde la multidrogorresistencia (MDR) en nuevos casos de TB alcanza el 14%. En Europa Oriental y Asia Central, la mayor prevalencia de TB-MR coincide con uno de los crecimientos más rápidos de las tasas de infección por VIH. Recientemente, el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo informó que en la región hay más de 1,5 millones de personas infectadas por el virus, en comparación con sólo 30 000 en 1995. Las personas cuyo sistema inmunitario está debilitado por el VIH son mucho más propensas a contraer todas las formas de TB s.

Asimismo, encuestas recientes realizadas en China, donde la infección por VIH también está en aumento, han identificado zonas en las que la TB-MR es preocupante. En dos provincias se constató que aproximadamente uno de cada diez nuevos pacientes tenían TB-MR. Los autores del informe temen que puedan existir niveles igualmente elevados de resistencia en otras zonas, dado que en el estudio sólo estaban representadas seis de las 23

provincias del país. El VIH incrementa el riesgo de multidrogorresistencia (MDR) en un 170% ⁵.

En 1992 la Organización Mundial de la Salud estimó que aproximadamente 4 millones de personas habían estado infectados simultáneamente con el M. tuberculosis y el VIH, 95 % de ellos en países en desarrollo. Se ha estimado que el 10 % (8,8 millones) de los 88 millones de casos de tuberculosis entre 1990 y 1999, así como el 14 % de las muertes por tuberculosis esperadas para el año 2000, pudieran ser atribuidas a la co-infección con el VIH ²³.

El sistema inmunitario está debilitado, la TB-MR tiene una oportunidad perfecta para propagarse rápidamente y causar la muerte», ha dicho el Dr. Jack Chow, Subdirector General de la OMS para VIH/SIDA, TB y Malaria. «Como prioridad para prevenir la propagación de todas las formas de TB, necesitamos más inversiones en recursos, programas y profesionales sanitarios.»

Los principales expertos de la OMS en enfermedades infecciosas calculan que cada año hay cerca de 425 mil casos de TB-MR en todo el mundo. También hay nuevos datos que prueban que las cepas multidrogorresistentes (MDR) se están haciendo más resistentes y no responden a los tratamientos actuales. En la actualidad, el 79% de los casos de TB-MR son causados por cepas resistentes al menos a tres de los cuatro fármacos principales utilizados para curar la TB. El tratamiento para esa forma de la enfermedad requiere el uso de medicamentos de segunda línea, que son mucho más caros, tóxicos y menos exitosos. ¹⁸

El doctor José Caminero Luna, neumólogo y asesor de la Unión Internacional contra la tuberculosis indicó en un reportaje que: “el mal uso que se hizo de los antibióticos para tratar la enfermedad ha producido estas nuevas cepas que son resistentes a los medicamentos. La llamada tuberculosis multidrogoresistente o TB MDR incluye a las cepas de la enfermedad que son resistentes a al menos dos de los principales tratamientos de primera línea que se usan para matar al bacilo tuberculoso” ¹⁸.

Desde que se realizó el último estudio, hace cuatro años, se han alcanzado algunos éxitos, especialmente en Cuba, los Estados Unidos de América y Hong Kong. En esos países las tasas han disminuido, gracias al mantenimiento de estrategias firmes de lucha contra la TB.

Según la OMS, «la estrategia más eficaz para evitar la aparición de la multidrogorresistencia (MDR) consiste en la aplicación de la estrategia DOTS». DOTS es la estrategia terapéutica aceptada internacionalmente, destinada a asegurar que los pacientes tomen la medicación según lo prescrito, y ha demostrado ser eficaz para evitar la multidrogorresistencia (MDR). Las estrategias de control de la TB utilizadas en Europa Oriental y en la Federación de Rusia han empezado a mejorar recientemente con la introducción de la estrategia DOTS. En las zonas más afectadas se están introduciendo programas innovadores «DOTS Plus» para diagnosticar y tratar eficazmente la TB multidrogorresistente (MDR). El acceso de los pacientes a los fármacos eficaces frente a la TB-MR es fundamental para el éxito de la estrategia DOTS Plus. El costo de estos medicamentos ha disminuido de forma espectacular gracias a iniciativas respaldadas por la OMS, como el Comité Luz Verde, que trata de captar el pleno apoyo de las empresas farmacéuticas a la lucha por la erradicación de la TB multidrogorresistente (MDR).

La investigación y desarrollo de nuevos fármacos antituberculosos es otra necesidad urgente, para que se pueda acortar la duración del tratamiento y tratar las cepas multidrogorresistentes (MDR). Después de un estancamiento de 40 años en el desarrollo de fármacos antituberculosos, las inversiones en investigación y desarrollo son fundamentales para ampliar las opciones terapéuticas y vencer las cepas resistentes. La Alianza Mundial para el Desarrollo de Medicamentos contra la Tuberculosis, una entidad asociada con la OMS, está creando una cartera de proyectos de nuevos fármacos prometedores, y uniendo a los investigadores públicos y privados en la búsqueda de una cura más 5.

Muchos sistemas de detección de la multidrogorresistencia (MDR) han sido implementados, ofreciendo una mejor información que la obtenida por métodos convencionales, y contribuyendo con la investigación sobre los mecanismos de transmisión de resistencia. Los principales mecanismos se definen por la acumulación secuencial de cambios, inserciones o deleciones nucleotídicas denominadas mutaciones que ocurren en

los genes que codifican los elementos blancos de las drogas producidas por una presión selectiva generada por el incorrecto tratamiento. La resistencia a rifampicina es debida a la aparición de mutaciones en el gen *rpoB* y la resistencia a isoniacida es debida a la existencia de mutaciones en los genes *katG* 3.

La resistencia a los fármacos antituberculosos surge como un nuevo desafío a nivel mundial y especialmente en países en vías de desarrollo como Bolivia. Las estadísticas muestran que es un problema en crecimiento en las Américas. Según la OPS para el 2005 se notificaron 227 616 casos nuevos de tuberculosis pulmonar, de los cuáles se realizaron 17 447 (7.8%) pruebas de sensibilidad y resistencia, encontrándose 310 (1.7%) casos de TB MDR con relación al 2004 que fue del 1.5%. Según estudios realizados durante la gestión 2003 en Las Américas, la prevalencia media de resistencia primaria fue de 11%, la de TB MDR primaria de 1.2% y la de TB MDR secundaria de 25%. En América Latina para el 2006 de 543 casos de TB MDR, el 6%(32 casos) fueron TB XDR (tuberculosis extremadamente resistente). Para el 2007, países como Brasil, Perú, Chile, Argentina ya tienen registrados por lo menos un caso de TB XDR.³⁴

En 2008 la Organización Mundial de la Salud (OMS) definió la tuberculosis resistente a los medicamentos como una “bomba de relojería” para la salud mundial, con casi 500.000 nuevos casos de TB MDR. La TB MDR se produce cuando la mayoría de los medicamentos antituberculosos son ineficaces en cambio la TB XDR, enfermedad mortal en el 53 por ciento de los casos, se produce cuando ningún fármaco contra la tuberculosis tiene efecto ²⁷.

Actualmente Perú ocupa el primer lugar en reportar más casos de TB MDR Y TB XDR en todo el continente americano, se produce el 33% de todos los casos de TB MDR que anualmente se estiman en América. ²⁸

En Bolivia el porcentaje de multidrogorresistencia (MDR) entre 1994 y 2001 era de 1.2%, el porcentaje de resistencia primaria a la isoniacida era 10.2%, a la rifampicina 6%, a la

estreptomycin 9.8%, al etambutol 5% y el porcentaje de resistencia primaria a uno o más medicamentos (no incluye la asociación de rifampicina e isoniazida) era 23.9% s.

Entre 2002 y 2003 el porcentaje de resistencia inicial para estreptomycin era de 5.2%, para isoniazida era de 4%, para rifampicina era de 0.5% y para etambutol era de 0.4%. Mientras que la resistencia secundaria para estreptomycin era de 0.8%, para isoniazida era de 5.5%, para rifampicina era de 5.6% y para etambutol era de 0.8%. (SEDES LA PAZ - DPTO. EPIDEMIOLOGIA)

Para el 2002 existían 45 ó 50 enfermos multidrogorresistentes en Bolivia, de los cuales 38 recibían el tratamiento subvencionado, el resto deberían ser evaluados por el comité nacional de multirresistencia, que determinaría quiénes se beneficiarán con el plan.

A fines de marzo de 2002, los diez primeros pacientes MDR habrán completado con éxito el consumo de medicinas: dos personas en La Paz, tres en Yacuiba y el resto en Santa Cruz que han finalizado su tratamiento consumiendo los fármacos durante dos años y medio de manera constante. 2.

Bolivia esta catalogada entre los países que tienen una MDR primaria (en el rango de 1-2,9%) conjuntamente Honduras, Argentina, Nicaragua, México y Paraguay. El último estudio de resistencia a inicial y/o primaria realizado en el ámbito nacional mostró una disminución en la resistencia, tanto para la rifampicina (2.8% en 1996 a 0.5% el 2003) como para la isoniazida (6.8% en 1996 a 4% el 2003).³⁴

Para el 2006 la tasa de prevalencia fue de 0.3% certificados con prueba de sensibilidad y resistencia reportados por el INLASA, siendo en Santa Cruz 0.93% y Tarija 0.42%, los departamentos con el mayor número de casos de TB MDR detectados.³⁴

Entre el año 2003 y el año 2009 se reportaron los siguientes casos de TB MDR:

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	TOTAL
La Paz	7	16	15	8	5	14	15	80
Sta. Cruz	25	34	33	23	4	2	52	173
Cochabamba	7	18	13	10	14	16	20	98
Tarija	4	10	8	2	3	6	13	46
Sucre	6	1	5	0	2	4	1	19
Oruro	0	1	1	1	0	0	0	3
Potosí	0	0	0	0	0	0	6	6
Pando	0	0	1	0	0	0	0	1
TOTAL	49	80	76	44	28	42	107	426

Fuente: Instituto Nacional de Laboratorios en Salud

De acuerdo a un artículo publicado por el periódico La Razón en fecha 24 de marzo de 2010, Inlasa indica que los casos subieron de 49 el 2003 a 101 durante el 2009. 40.

En siete años, entre el 2003 y el 2009, los casos de pacientes resistentes a la medicación contra la tuberculosis aumentaron en 106%, de 49 a 101, según datos de la Red de Laboratorios de Tuberculosis del Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (Inlasa), debido a que dejaron el tratamiento.

Con un total de 426 casos de TB MDR entre la gestión 2003 y 2009, de los cuales sólo el 10% recibió el tratamiento adecuado ya que no existen recursos económicos que puedan cubrir el tratamiento para el 90% restante, puesto que aproximadamente por paciente se requiere 10 000 \$us. para cubrir el tratamiento , los controles laboratoriales respectivos y las interconsultas por especialidades que requiere este tratamiento

La responsable de Inlasa, Mirtha Camacho, detalló que el departamento que más aumento de casos registró es Santa Cruz, que el 2003 tuvo 25 casos y el 2009 llegó a 52. “Llama la atención Tarija, que tenía cuatro casos y para el año pasado registró 13, puede deberse al seguimiento más estricto que se hizo al paciente, pero lo extraño es que en Oruro y Pando

no se reporten casos, tomando en cuenta que son regiones con mucha pobreza”, dijo. Explicó que las cepas de tuberculosis resistentes a los antibióticos aparecen, fundamentalmente, cuando los pacientes abandonan los tratamientos o toman las drogas en forma intermitente, sin control. Pero hay casos denominados primarios, de personas que se contagiaron directamente de una forma de tuberculosis multirresistente, es decir, de una cepa proveniente de estas mutaciones que fortalecen al bacilo causante del mal. La población más afectada por la tuberculosis son hombres y mujeres que están entre los 15 y 45 años de edad. Una persona con tuberculosis contagia a 10 ó 12 personas al año si no se somete a algún tratamiento médico.

Bolivia se encuentra entre los tres países de Latinoamérica con alta incidencia de casos, junto a Perú y Ecuador, ya que tienen un promedio de más de 100 casos por cada 100.000 habitantes.

La responsable nacional del Programa de Tuberculosis del Ministerio de Salud, Miriam Nogales, reconoció que existen casos de drogorresistentes debido a que los pacientes dejan el tratamiento cuando ya se sienten mejor, sin haber cumplido los seis meses requeridos. “En promedio, son 30 casos al año que se confirman (pacientes resistentes a los medicamentos)”, indicó.

Según informes de la Organización Mundial de la Salud, cada año se registran 10 millones de nuevos casos de tuberculosis y unas 500.000 de las nuevas infecciones son resistentes a los fármacos usados para combatirla, como la isoniacida y la rifampicina.

6. MANIFESTACIONES CLINICAS.-

La tuberculosis pulmonar carece de manifestaciones clínicas propias que permitan diferenciarla con claridad de otras enfermedades broncopulmonares. Si se considera que además los síntomas suelen ser poco alarmantes, se entiende que en ocasiones la tuberculosis se diagnostique cuando ya está en fase avanzada, o que algunos pacientes

presenten lesiones residuales en la radiografía de tórax sin que tengan constancia de haber estado enfermos.

Los síntomas y signos sugestivos de la tuberculosis se clasifican en síntomas locales (respiratorios) y generales (sistémicos):

Los síntomas generales o sistémicos son los primeros en aparecer: decaimiento, cansancio fácil, pérdida de apetito, alzas térmicas no cuantificadas, sudoración nocturna, pérdida progresiva de peso, los síntomas generales de tuberculosis aparecen gradualmente en semanas y hasta en meses. Los síntomas respiratorios pueden aparecer simultáneamente o posteriormente a los generales. El más representativo es la tos que al comienzo es seca, irritativa y que se vuelve productiva con expectoración mucosa, muco purulenta o purulenta. Al ser la tos el principal síntoma orientador de la enfermedad, el paciente es identificado como sintomático respiratorio con sospecha de tuberculosis. Sintomático respiratorio es la persona que tiene tos y expectoración por más de 15 días y que debe ser examinado con tres baciloscopías de esputo. La expectoración sanguinolenta puede ser variable, desde pequeñas manchas hasta una gran pérdida de sangre rutilante de sabor metálico o salado (hemoptisis) signo importante de tuberculosis pulmonar de estadio avanzado, por tanto, si se observa sangre en la flema, esta debe ser sometida a baciloscopía, sin esperar la evolución de 15 días.

El dolor torácico no es frecuente cuando la tuberculosis afecta sólo al pulmón, es de regla general cuando compromete la pleura (pleuresía o derrame pleural). Algunos pacientes se quejan de dolor inesperado, la mayoría de las veces atribuible a la tos persistente. La disnea o falta de aire, de poca importancia al inicio de la enfermedad, puede ser motivo de consulta posterior debido al extenso daño del tejido pulmonar.

SINTOMAS LOCALES	SINTOMAS GENERALES
Tos y expectoración mucopurulenta o purulenta	Hiporexia y anorexia adinamia (disminución de apetito)
Expectoración hemoptoica (manchada con sangre)	Astenia (falta o pérdida de fuerza muscular y energía)

Hemoptisis (sangre abundante viva proveniente de los pulmones)	Pérdida de peso
Disnea (dificultad para respirar)	Fiebre y diaforesis nocturna (sudoración)
Dolor torácico (no es frecuente, se presenta en los casos con compromiso pleural)	Malestar general

Fuente: Medicina Interna, MASSON

7. DIAGNOSTICO.-

7.1. PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA.-

Es un examen laboratorial realizado para detectar la Sensibilidad y resistencia de micobacterias Tuberculosis a las drogas utilizadas en el tratamiento de tuberculosis. La resistencia a las drogas antituberculosas es definida por los resultados de los Test bacteriológicos.

El objetivo del Test de Sensibilidad es determinar si los microorganismos presentes en el paciente responderán al tratamiento con drogas de primera línea.

Existe controversia sobre la utilización del Test de Sensibilidad en el manejo del tratamiento individual de pacientes. Los países que poseen recursos financieros recomiendan la realización del Test de Sensibilidad para todos los pacientes en el momento del diagnóstico. Los países con pocos recursos no siguen esta práctica y el Test de Sensibilidad queda entonces recomendado para casos especiales.

Las indicaciones prioritarias para la realización del Test de Sensibilidad del M. Tuberculosis a las drogas son:

- Retratamiento después de la falencia bacteriológica al esquema I.
- Recidiva de la enfermedad.
- Reinicio después de abandono.

- Pacientes con supuesta resistencia primaria.
- Contactos con un caso de TB resistente.
- Vigilancia epidemiológica Pacientes con fracaso y/o recaída
- Pacientes que tienen un contacto con TB MDR conocido
- Trabajadores de salud en riesgo
- Pacientes que tienen un contacto que falleció durante la terapia directamente observada de TB
- Paciente con VIH +
- Paciente con RAFA a dos o mas medicamentos

La Sensibilidad de *M. tuberculosis* a las drogas puede ser evaluada por el método de concentraciones absolutas método de la razón de resistencia y método de las proporciones. Esos son considerados los métodos clásicos y convencionales para el Test de Sensibilidad de *M. tuberculosis*.

Los métodos validados para investigar la Sensibilidad de *M. tuberculosis* a las drogas antituberculosas de primera línea cuantifican la proporción de mutantes resistentes a cada una de las drogas. Esos métodos son muy precisos, aplicando una eficacia de 97 a 99% para determinar la actividad de INH e RMP, respectivamente y alrededor de 92% para EMB e SM. Por tanto, para asegurar esa precisión es importante observar todas las etapas con mucho cuidado y atención, desde la adquisición de las drogas, conservación, preparación de los medios de cultivo, preparación de las disoluciones, observación del tiempo de lectura del Test hasta el cálculo de proporción de colonias resistentes.

7.1.1. METODO DE LAS PROPORCIONES EN MEDIO DE LOWENSTEIN JENSEN

Ese método fue descrito por Canetti, Rist e Grosset en 1963 (Test padrón) y en 1969 (Test simplificado). La versión simplificada del Test con apenas una concentración de droga es la más utilizada. Consiste en detectar una proporción de bacilos resistentes contenidos en una muestra de *M. tuberculosis*, frente a una concentración de droga que es capaz de inhibir el desarrollo de las células sensibles, más no de las células resistentes (concentración crítica).

Para cada droga fue definida una proporción de mutantes resistentes en una población bacilar, igual o por encima de la cual la muestra es considerada resistente (proporción crítica).

En el cuadro siguiente están las concentraciones para cada droga (concentración final en el medio de cultivo) y la proporción crítica, que da un criterio para definir si una población bacteriana es resistente o sensible a la droga.

DROGAS	CONCENTRACION CRITICA(g/ml)	PROPORCION CRÍTICA (%)
ISONIAZIDA	0.2	1
RIFAMPICINA	40	1
ETAMBUTOL	2	1
ESTREPTOMICINA	4	1

Fuente: Instituto Nacional de Laboratorios en Salud

De ese modo, se considera que una droga de primera línea no tiene actividad en el tratamiento de tuberculosis cuando ella es Testada frente a una población de M. tuberculosis que contiene más de 1% de bacilos resistentes a una concentración crítica de determinada droga, previamente establecida.

El método de las proporciones puede ser realizado directamente a partir de una muestra positiva a baciloscopía (Test directo) o a partir de un islote bacteriano (Test indirecto).

El Test indirecto es realizado a partir del crecimiento en medio de cultivo y debe ser realizado en islote bacteriano identificado como M. tuberculosis. Es más largo que el Test directo, con la ventaja de presentar menor riesgo de contaminación.

El Test directo es aquel realizado a partir de una muestra clínica que pasó por el proceso de descontaminación.

Se debe diluir el material homogeneizado antes de inocular en medios de cultivo de acuerdo con el resultado de baciloscopia.

La versión del método de proporciones en medios de cultivo sólidos a base de huevos (Lowenstein Jensen) es la más utilizada en la mayoría de los países de América Latina. Las drogas son incorporadas antes de la coagulación. Las drogas utilizadas en el Test de Sensibilidad son las del esquema de tratamiento de primera línea (INH, RMP, EMB y SM). Para facilitar la operacionalización y la realización del Test en el laboratorio son incluidas otras dos drogas para identificación de micobacterias, que no son utilizadas en el tratamiento (ácido p- nitrobenzoico –PNB e hidracida de ácido tiofeno-2 carboxílico-TCH).

El método de proporciones también puede ser realizado en medios de cultivo sólidos a base de agar (Middlebrook 7H10), esta variante utiliza las drogas en concentraciones diferentes de aquellas utilizadas en los medios a base de huevos.

Para el método de proporciones se emplea el medio LJ sin o con droga. El medio sin droga permite conocer el número total de bacilos sembrados y un medio con droga el número de mutantes resistentes a la droga correspondiente.

7.1.1.1. METODO DE LAS PROPORCIONES EN LJ. TEST INDIRECTO.-

El método de las proporciones indirecto es el más utilizado en los laboratorios de salud pública y consiste en realizar el Test de Sensibilidad a partir de un islote puro de M. tuberculosis.

Se debe realizar el Test con preferencia a partir del cultivo primario que debe estar en su fase de crecimiento logarítmica (media de 21 días). Por otro lado, se debe evitar realizar el Test de Sensibilidad con más de 60 días de sembrados.

En los cultivos en que el número de colonias es menor que 20 no recomendamos la realización del Test de Sensibilidad, pues esa muestra puede no ser representativa de la población bacilar en la lesión.

MATERIALES:

- CSB
- Agitador mecánico
- Estufa bacteriológica a 36 \pm 1 grados centígrados
- Pipetador automático o manual

REACTIVOS:

- Agua destilada estéril

INSUMOS:

- Papel absorbente
- Gasa estéril en pedazos
- Estante para los tubos de ensayo estéril 20 * 150 mm.
- Asa bacteriológica descartable y estéril
- Tubos de ensayo 20*150 mm. , de paredes reforzadas, con tapa de rosca conteniendo 10 perlas de vidrio estériles.
- Tubos de ensayo 20*150 mm., para las diluciones.
- Pipetas estériles de 1 y 10 ml.
- Recipiente de vidrio o metal, de fondo y boca larga, para descarte de material a ser autoclavado y lavado.
- Bandeja de polipropileno con agujeros para la circulación de aire, para incubación 2 tubos sembrados. De preferencia, una bandeja para cada conjunto de tubos de una misma muestra.
- Para cada muestra: 6 tubos de medios LJ sin droga y dos tubos de medios LJ con las drogas (INH, RMP, EMB, SM) y un tubo para TCH y PNB.
- Cepa de referencia para control de calidad de Test de Sensibilidad (cepa sensible o cepa resistente) sugerimos que estas cepas sean preparadas junto con las muestras que serán testadas.

- Tubo Nro. 1 de Escala Mc Farland.

PROCEDIMIENTOS DE ORGANIZACIÓN:

1. Identificar un número de cultivo en el tubo de ensayo con perlas, para la suspensión bacteriana.

2. Identificar la dilución y el número de cultivo en los tubos de ensayo para las diluciones de acuerdo con lo siguiente:

Para cada muestra, incluyendo las cepas control: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶.

3. Identificar el número de cultivo en los tubos de medios LJ sin y con droga para la siembra del Test de Sensibilidad, de acuerdo con lo siguiente:

- 1era serie, rotulados 10⁻³: dos tubos de medio LJ sin droga (control) los demás tubos de medio LJ contienen cada uno una droga correspondiente.
- 2da. serie, rotulados 10⁻⁵: dos tubos de medio LJ sin droga (control) los demás tubos de medio LJ contienen cada uno una droga correspondiente.
- 3ra. serie, rotulados 10⁻⁶: dos tubos de medio LJ sin droga (control). Esta dilución no siempre utilizada, facilita la lectura del Test de Sensibilidad cuando un inóculo fue muy turbio (espeso) y un contagio de las colonias quedó perjudicado en las otras diluciones.

1. Organizar los materiales que serán utilizados y colocar los materiales de descarte en otros recipientes.
2. Forrar la bandeja de metal con papel absorbente.

PROCEDIMIENTOS DE REALIZACION:

ETAPA 1: SUSPENSION BACTERIANA:

1. Transferir con asa bacteriológica descartable estéril, el mayor número posible de colonias de un cultivo en medio sólido para un tubo de ensayo con perlas y 0.5 ml de agua destilada estéril.
2. Homogeneizar en agitador mecánico por 20 a 30 segundos.
3. Mantener en reposo por 10 minutos.
4. Acrecentar aproximadamente 2 ml de agua destilada estéril.
5. Dejar en reposo por 10 minutos para sedimentar las partículas mayores.

ETAPA 2: DILUCIONES SERIADAS:

6. Ajustar la turbación de cada suspensión con una turbación de tubo nro. 1 de Escala de Mc Farland utilizando agua destilada estéril, gota a gota.
7. A partir de esa suspensión padronizada, efectuar seis nuevas diluciones en escala decimal.
8. Colocar 9 ml de agua destilada estéril en cada uno de los 2 tubos.
9. Transferir 1 ml de la suspensión padrón a un tubo 10⁻¹, agitar en un agitador mecánico.
10. Cambiar una pipeta y seguir las diluciones, transfiriendo 1 ml a un tubo de 10⁻² y así sucesivamente hasta un tubo de 10⁻⁶. Para cada dilución utilizar nuevas pipetas estériles.
11. Las diluciones 10⁻³, 10⁻⁵, 10⁻⁶ serán las diluciones sembradas en los medios LJ con o sin droga.

ETAPA 3: SIEMBRA EN LOS MEDIOS DE CULTIVO:

12. Inocular 0.1 ml. de las diluciones 10-3, 10-5 en cada tubo de medio de cultivo con droga y sin droga, ya identificados y 0.1 ml de dilución 10-6 en 2 tubos de medio LJ sin droga. Cambiar la pipeta para sembrar cada dilución.
13. Cerrar los tubos de medio de cultivo, sin rosquea la tapa hasta el fin y colocar esos tubos en el estante.
14. Retirar los tubos de medios de cultivo sembrados del estante y mover cada uno de ellos de modo que el inóculo bañe la superficie del medio. Distribuir el inóculo en toda la superficie del medio para facilitar el crecimiento de colonias separadas para un contagio.
15. Acondicionar los tubos de medios inoculados en bandejas de polipropileno, inclinados de manera que un lado de la tapa queda ligeramente más alto y con la superficie del medio volcada para arriba. Cuidar para que los tubos no rueden, porque esto propicia crecimiento en los bordes del medio de cultivo imposibilitando el contagio de las colonias.
16. Incubar en estufa bacteriológica a 36 +/- 1 grados centígrados por 48 horas y después, echar las tapas completamente, solamente si el inóculo hubiera sido absorbido totalmente, si aún permanece unido mantener la tapa cerrada por 24 o 48 horas más.
17. Realizar la limpieza y descontaminación del mezon y descartar el material contaminado.

MEDIO DE LOWESTEIN JENSEN

Fosfato monopotásico anhidro-----	2.4 g.
Sulfato de magnesio-----	0.24 g
Citrato de magnesio-----	0.6 g
L-asparagina-----	3.6 g
Glicerina-----	12.0 ml.
Agua destilada-----	600 ml.
Huevos enteros-----	1000 ml.
Solución verde de malaquita al 2% recién preparada (estéril) -----	20 ml.

EQUIPO NECESARIO:

Preparar y esterilizar

1. Un frasco fraccionador de 2 litros, provisto de tubo de goma o látex, pinza de Mohr y accesorio en forma de campana para verter. (Esterilizar a 120 oC, 20 minutos).
2. Un embudo grande con dos capas de gasa. Sujetar la gasa con tela adhesiva al borde del embudo para que no se mueva. Doblar un trozo de tela de algodón o lino sobre el embudo forrado con la gasa para protegerlo de la contaminación ambiental. Envolver en papel para esterilización (Esterilizar a 120 grados centígrados, 20 minutos).
3. Frasco de licuadora con tapa, de no contar con ellos preparar un matraz de 2 litros de capacidad, con trozos de vidrio en su interior a fin de homogeneizar los huevos por agitación manual. (Esterilizar a 120 grados centígrados, 20 minutos).
4. Tubos, preferiblemente con tapas a rosca, en cantidad suficiente. (Esterilizar a 120 grados centígrados, 20 minutos).

METODO DE PREPARACION:

1. Disolver las tres primeras sales y la asparagina en 200 ml. de agua destilada. Calentar en baño Maria hasta disolución de la asparagina.

2. Pasar a un frasco de 2000 ml. de capacidad, agregar la glicerina y el agua destilada hasta completar 600 ml.
3. Esterilizar en autoclave durante 20 minutos a 121 grados centígrados y dejar enfriar a temperatura ambiente.
4. Los huevos deben ser frescos, preferentemente de granja. Limpiarlos cuidadosamente con un cepillo, agua y jabón y dejarlos durante algunos minutos en un recipiente con agua jabonosa. Enjuagarlos cuidadosamente con agua corriente, colocarlos en un canastillo de alambre y limpiarlos con una gasa embebida con alcohol de 70 grados.
5. Quebrar los huevos, uno por vez en el borde de una probeta estéril de un litro y volcar en ella su contenido. Trasvasarlos luego al vaso de la licuadora hasta completar un litro y mezclarlos con cuidado de no causar exceso de burbujas. Volcar los huevos ya homogeneizados en el matraz que contiene la solución de sales, asparagina y glicerina y agregar la solución de verde de malaquita.
6. Filtrar por el embudo estéril forrado con gasa y recibir el filtrado en el frasco fraccionador, cuidando de cerrar con una pinza de Mohr el tubo de goma de salida.
7. Distribuir el medio utilizando la campana y la pinza de Mohr. Trabajar en forma estéril y evitar la formación de burbujas.
8. El medio se distribuye en cantidades de 9 ml. En tubos estériles de 20 x 125 mm., con tapa de rosca o de 7 ml., de tubos de 17x170 o 18x180 mm.
9. Coagular el medio colocando los tubos en posición inclinada en un horno termorregulador o en un coagulador especial a 80 grados centígrados durante 40 minutos. Terminada la coagulación, dejar enfriar los huevos 30 minutos y luego

incubar a 37 grados centígrados durante 24-48 horas para controlar su esterilidad y eliminar el agua de condensación excesiva.

7.2. REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).-

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de la biología molecular que permite amplificar exponencialmente una secuencia específica de ADN que puede ser detectada tras electroforesis en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. La técnica puede realizarse en tan solo 24 a 48 horas y es capaz de demostrar la presencia de fragmentos de ADN micobacteriano en muestras biológicas de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis y resultados negativos en la tinción de Ziehl-Neelsen o el cultivo, lo cual resulta particularmente útil en infecciones no bacilíferas y en pacientes con cuadros atípicos asociados con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana o a la inmunosupresión por trasplante. La amplificación de secuencias específicas de ADN micobacteriano mediante PCR ha sido utilizada en cultivo y directamente en muestras biológicas. Sin embargo, se han reconocido dos grandes obstáculos al éxito de la técnica: las dificultades relacionadas con la ruptura de la pared celular micobacteriana y la extracción del ADN, y la presencia de inhibidores de la PCR. La manipulación necesaria en la mayoría de los protocolos de extracción del ADN descritos los hace propensos a la contaminación cruzada de las muestras; además, es necesario utilizar reactivos y procedimientos agresivos que eventualmente podrían conducir a la pérdida del genoma micobacteriano presente en la muestra. Otros factores que pueden afectar a la sensibilidad y especificidad de la técnica son la variabilidad biológica y la amplificación inespecífica ¹¹.

La validez de los resultados de la PCR depende no solo de la sensibilidad y especificidad de la técnica particular, sino también del empleo de controles de contaminación paralelos en todos los procesos previos y posteriores a la amplificación, así como de controles positivos y negativos de la misma amplificación.

El beneficio de la utilización de esta técnica será óptimo si los médicos y el personal del laboratorio consideran todos estos factores y, conjuntamente, definen los criterios para seleccionar aquellas muestras que deban ser tamizadas de forma urgente por PCR. ¹¹.

La sensibilidad de la prueba está dada por la capacidad de dar resultados falsos negativos, si la técnica PCR da pocos falsos negativos es muy sensible y si da muchos falsos negativos es poco sensible.

Los requerimientos de un laboratorio que realiza PCR se establece en estándares internacionales, que fundamentalmente deben constar con 3 zonas o ambientes por separado y que son:

a) ZONA Pre PCR o Pre AMPLIFICACION, donde se manipula o extrae el material genético ADN.

b) ZONA DE PREPARACION, en donde se disponen y seleccionan los diferentes reactivos y materiales para realizar la amplificación.

c) ZONA DE AMPLIFICACION, donde se multiplica a varios millones de veces el ADN de la muestra por medio de los **TERMOCICLADORES** y por último una zona independiente donde se analiza el ADN ya amplificado llamado **ZONA POST PCR**.

También es muy importante que toda el área esté muy limpia y aséptica, el personal debe estar con ropas especiales y estériles; pero lo más importante es la manipulación de las muestras, evitando la contaminación de una de ellas, ya que contaminaría las demás dando resultados falsos negativos o positivos, realizando un estricto control de calidad de dichos resultados cumpliendo con los estándares internacionales.

La PCR requiere para su interpretación el trabajo serio del laboratorio donde las áreas de descontaminación bacteriana eviten resultados de PCR como falsos positivos puesto que pueden estar contaminados con bacilo de Koch en la ropa de trabajo, cabello, siendo portador del bacilo el laboratorista que realiza la prueba. La reacción en cadena de la polimerasa PCR puede ampliar material genético de una copia y dar resultados falsos positivos. En nuestro medio este examen es novedoso, lo realizan laboratorios exclusivos

de los cuales no existen referencias escritas o públicas de la biosensibilidad de la misma prueba 14.

La sensibilidad y especificidad de la PCR para el diagnóstico de TB pulmonar varían entre 42 y 80% y 90 y 100%, respectivamente. Para el diagnóstico de TB extrapulmonar, la sensibilidad y especificidad varían entre 27 y 81% y 67 y 100%, respectivamente. La variabilidad de los resultados radica principalmente en la carga bacteriana, el tipo de muestra estudiada y la técnica empleada. Se sabe que la PCR tiene mejor Sensibilidad si se realiza en muestras pulmonares con baciloscopia positiva (carga bacteriana elevada). Se ha demostrado que la PCR es más sensible cuando se realiza en LCR y en líquido pleural, debido a la ausencia de inhibidores de la enzima Taq polimerasa 6.

Además esta técnica tiene un límite de detección de 10 fg. (4 o 5 micobacterias), identifica correctamente a la totalidad de las micobacterias del complejo M. tuberculosis, es una técnica sensible y específica para detectar el complejo M. tuberculosis en muestras tanto positivas como negativas en la baciloscopia.

ETAPAS GENERALES EN LA REALIZACION DEL PCR.-

- Desnaturalización:** La reacción se calienta a altas temperaturas para reducir la doble hélice del ADN a cadenas simples. Estas cadenas se tornan accesibles a los cebadores

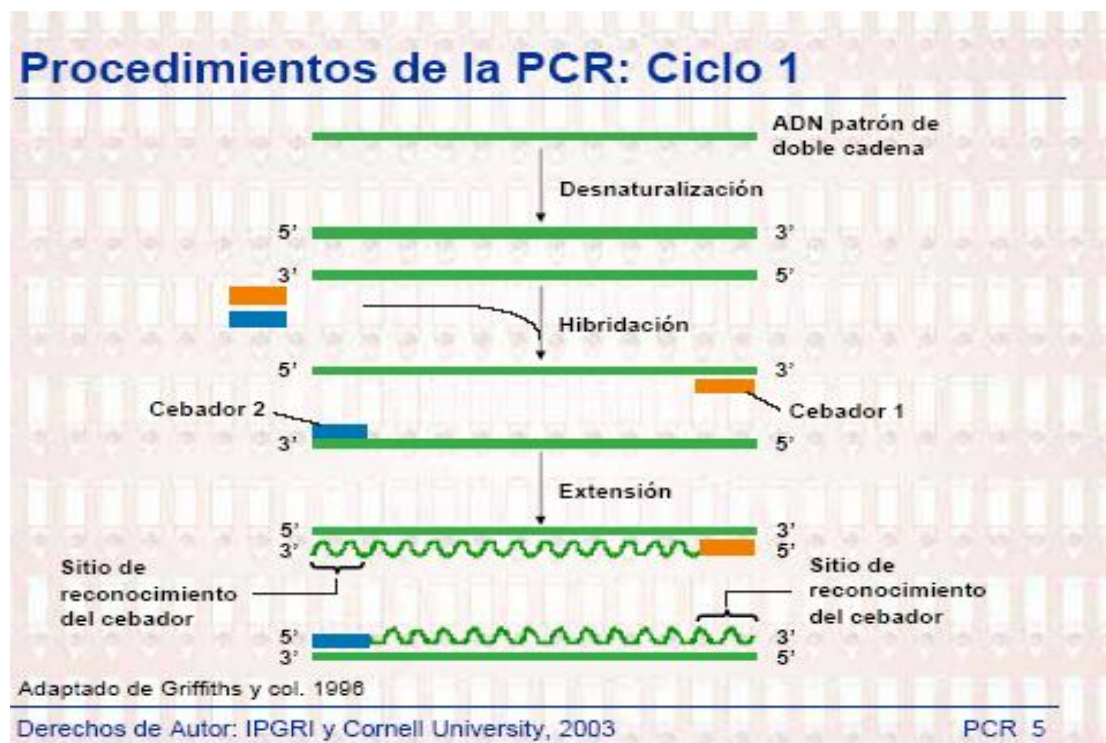
- Hibridación:** Se enfría la mezcla de reacción. Los cebadores hibridan con las regiones complementarias de las cadenas del ADN patrón, y se forman nuevamente cadenas dobles entre los cebadores y las secuencias complementarias

- Extensión:** La Taq polimerasa sintetiza una cadena complementaria. El enzima lee la secuencia de la cadena opuesta y extiende los cebadores agregando nucleótidos en el orden en que pueden emparejarse. El proceso entero se repite una y otra vez

PROCEDIMIENTO PCR: ETAPAS.-

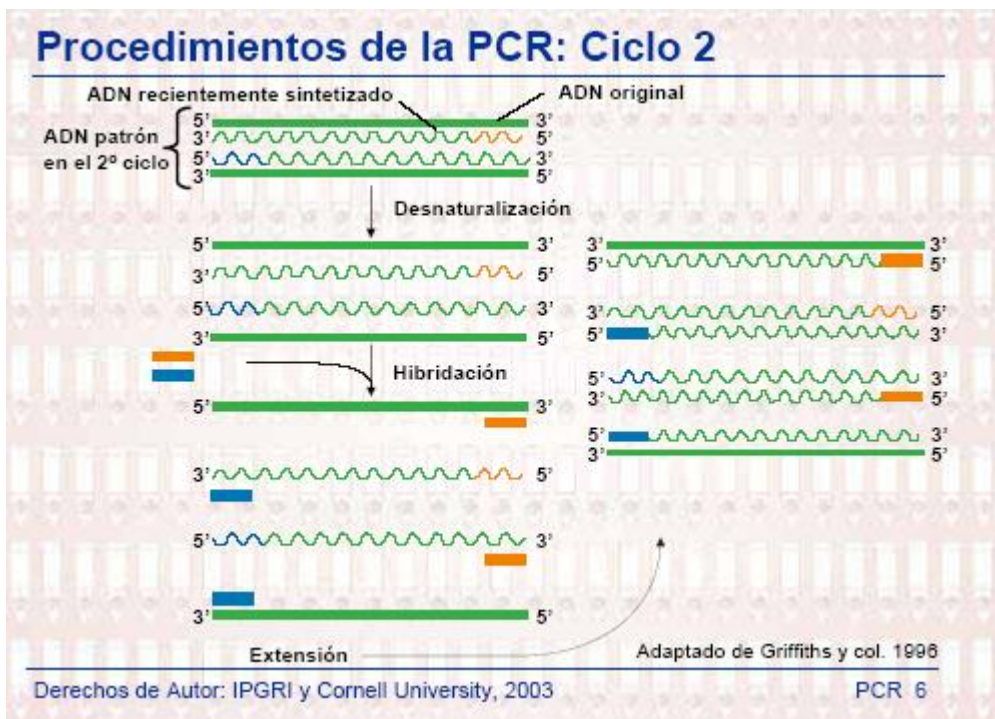
El ADN polimerasa, conocido como ‘Taq polimerasa’, se denominó así por la bacteria *Thermus aquaticus* que fue aislada originalmente de aguas termales. El enzima puede resistir las altas temperaturas necesarias para la separación de las cadenas del ADN, permaneciendo en el tubo de la reacción. El ciclo de calentamiento y enfriamiento se repite una y otra vez, lo que estimula a los cebadores a unirse a las secuencias originales y a las secuencias recién sintetizadas. El enzima volverá a alargar las secuencias del cebador. Este ciclo de temperaturas produce copias y luego copias de copias, y así sucesivamente, lo que lleva a un aumento exponencial del número de copias de determinadas secuencias. Dado que la cantidad de ADN colocado en el tubo al comienzo es muy pequeña, casi todo el ADN presente al final de los ciclos de reacción pertenece a secuencias copiadas.

Los productos de la reacción se separan mediante electroforesis. Según la cantidad producida y el tamaño del fragmento amplificado, los productos de reacción se pueden visualizar directamente tiñendo con bromuro de etidio o con tinción de plata, o mediante radioisótopos y autorradiografía.



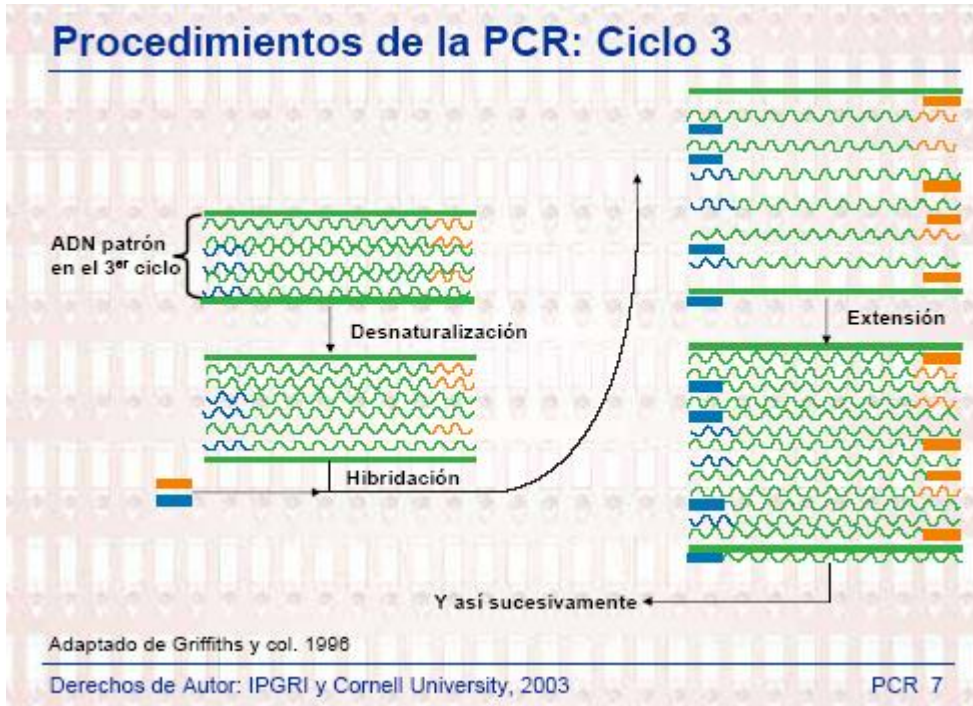
Las etapas de la PCR se llevan a cabo, una tras otra, en episodios cíclicos. El ciclo 1 es como sigue:

- Durante la desnaturalización (cerca de 1 min. a 95°C), las cadenas del ADN se separan para formar cadenas sencillas.
- Durante la hibridación (cerca de 1 min. a temperaturas que oscilan entre 45°C y 60°C), un cebador se une a una cadena de ADN y otro se une a la cadena complementaria. Los sitios de hibridación de los cebadores se han elegido para que fomenten la síntesis del ADN en la región de interés durante la extensión.
- Durante la extensión (cerca de 1 min. a 72°C), la síntesis del ADN se lleva a cabo en la región de interés y con distancias variables en la región flanqueante, produciendo fragmentos de longitudes variables.



Cuando comienza el segundo ciclo, hay en realidad dos tipos de patrón: (1) las cadenas del ADN original; y (2) las cadenas del ADN recién sintetizadas, que constan de la región de

interés y de fragmentos de longitud variable de la región flanqueante, en el extremo 3'. Cuando se usa este último patrón en este ciclo, solamente se copia la región de interés.



En el tercer ciclo, la región de interés recién sintetizada (es decir, sin regiones flanqueantes) actúa como patrón. La molécula de ADN original está todavía presente y lo estará hasta el final de la reacción. Sin embargo, después de unos pocos ciclos, el fragmento de ADN recién sintetizado se establece rápidamente como el patrón predominante.

Lo usual es que los ciclos se repitan de 25 a 45 veces. La normalización de las condiciones de funcionamiento del termociclador es esencial para poder reproducir los resultados.

Procedimientos de la PCR: Condiciones de los ciclos

- ▶ Desnaturalización completa del patrón de ADN
- ▶ Temperatura óptima para la hibridación
- ▶ Temperatura óptima para la extensión
- ▶ Número de ciclos de la PCR
- ▶ Etapa final de extensión

En la etapa inicial de desnaturalización, es esencial que se desnaturalice completamente el patrón de ADN. La desnaturalización incompleta del ADN dará como resultado el uso ineficiente del patrón en el primer ciclo de amplificación y, en consecuencia, en un escaso rendimiento del producto de la PCR.

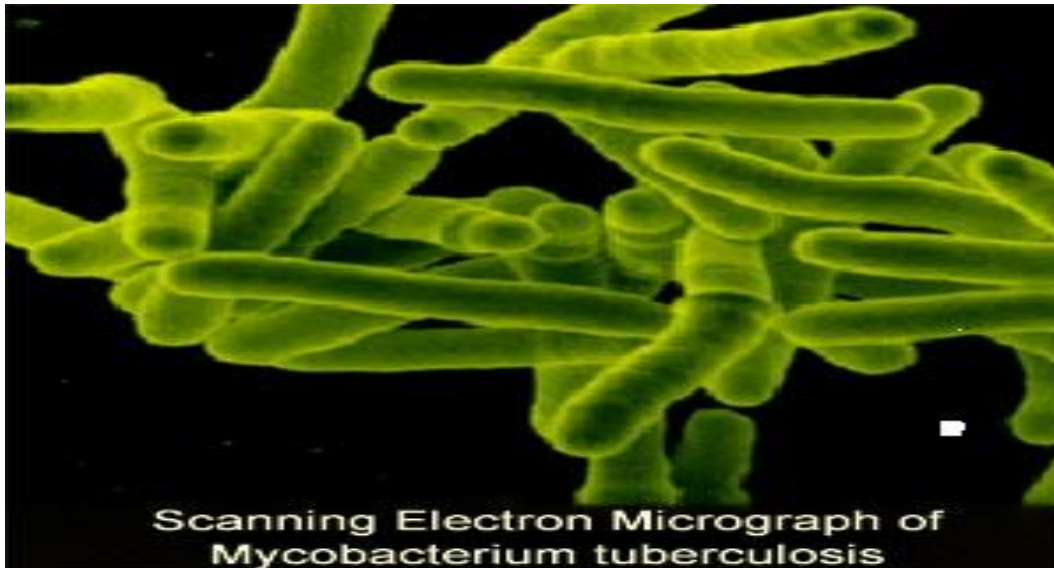
La temperatura de hibridación se calcula en 5°C por debajo de la temperatura de fusión del duplo cebador-patrón de ADN. Si se obtienen productos de la PCR no específicos, además del producto esperado, la temperatura de hibridación se puede optimizar aumentándola por incrementos de 1 a 2°C.

La etapa de extensión se realiza, generalmente, a 72°C y una extensión de 1 min. es suficiente para sintetizar fragmentos de PCR de hasta 2 kb (kb = kilobase = 1000 pb).

Cuando se amplifican fragmentos de ADN más grandes, el tiempo generalmente se extiende a razón de 1 min. por cada 1000 pb.

El número de ciclos de la PCR dependerá, básicamente, del rendimiento esperado del producto de la PCR.

Después del último ciclo, las muestras suelen incubarse a 72°C durante 5 min. para completar los extremos que sobresalen de los productos de la PCR recién sintetizados.



Procedimientos de la PCR: Componentes

Componentes:

- Agua desionizada estéril
- Solución tampón de PCR 10X
- Mezcla de dNTP
- Cebador
- Taq polimerasa
- MgCl₂
- ADN patrón

Consideraciones:

- ADN patrón
- Cebadores
- Concentración de MgCl₂
- Taq polimerasa
- dNTP

Actualmente hay muchas máquinas de PCR disponibles en formatos de 48, 96 ó 384 pocillos. Esta opción, combinada con el uso de pipetas multicanal, puede aumentar enormemente el número de reacciones que se pueden hacer simultáneamente. Para preparar

varias reacciones a la vez, se debe hacer una mezcla maestra que contenga lo siguiente: agua, solución tampón, dNTP, cebadores, MgCl₂ y Taq polimerasa, en un solo tubo.

Luego se repartirán alícuotas en los tubos individuales.

Consideraciones:

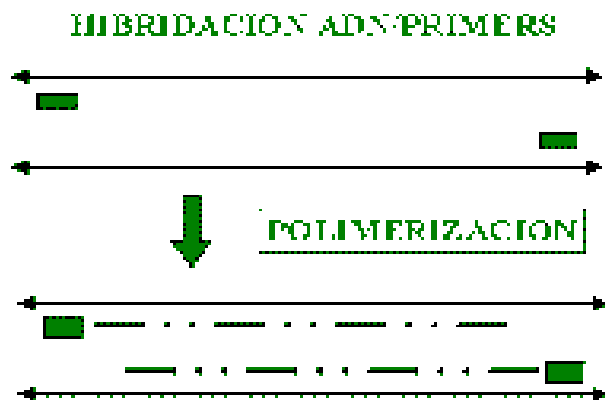
ADN patrón. Casi todos los métodos estándar de extracción de ADN son apropiados. La cantidad adecuada está entre 0.1 y 1 µg de ADN genómico, para una mezcla total de reacción de 100 µl. Cantidades más grandes de ADN patrón elevan, generalmente, el rendimiento de productos de la PCR no específicos.

Cebadores. (1) Los cebadores de la PCR deben tener entre 10 y 24 nucleótidos de longitud. (2) El contenido de GC debe estar entre 40% y 60%. (3) El cebador no debe ser auto-complementario o complementario de otro cebador en la mezcla de reacción, para evitar así la formación de dímeros de cebadores u horquillas. (4) Las temperaturas de fusión de los pares de cebadores no deben diferir en más de 5°C, de modo que tanto el contenido de GC como la longitud se deben elegir adecuadamente. (5) Las temperaturas de fusión y de hibridación de un cebador se calculan así: si la longitud del cebador es menor que 25 nucleótidos, el valor de la temperatura de fusión se calcula con la fórmula: $T_m = 4(G + C) + 2(A + T)$. (6) La temperatura de hibridación debe ser, aproximadamente, 5°C inferior que la temperatura de fusión.

Concentración de MgCl₂. Puesto que los iones Mg⁺⁺ forman complejos con los dNTP, con los cebadores y los patrones de ADN, hay que establecer la concentración óptima de MgCl₂ para cada experimento. Si los iones Mg⁺⁺ son demasiado escasos, se obtiene un bajo rendimiento del producto de la PCR y si son demasiado abundantes, aumentará el rendimiento de productos no específicos. El intervalo recomendado de concentración de MgCl₂ es de 1 a 3 mM, en las condiciones de reacción estándar especificadas.

Taq polimerasa. Si las concentraciones de Taq polimerasa son mayores que las requeridas pueden sintetizarse productos no específicos.

dNTP. La concentración de cada dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) en la mezcla de reacción es, generalmente, de 200 μ M. Se debe comprobar que estas concentraciones sean iguales, porque una inexactitud aumentará el grado de incorporación errónea.



La mezcla para la PCR se prepara sobre hielo. No se requiere ropa de seguridad, pero ésta puede beneficiar la reacción a menos que se practiquen buenas técnicas de manejo estéril.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 14

Los tubos de reacción se colocan en el termociclador.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 15

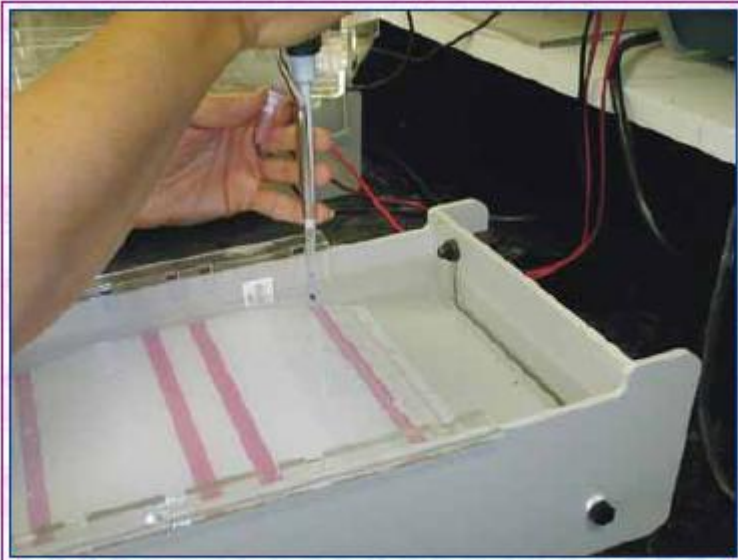
Se cierra el termociclador, se bloquea y se programa.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 16

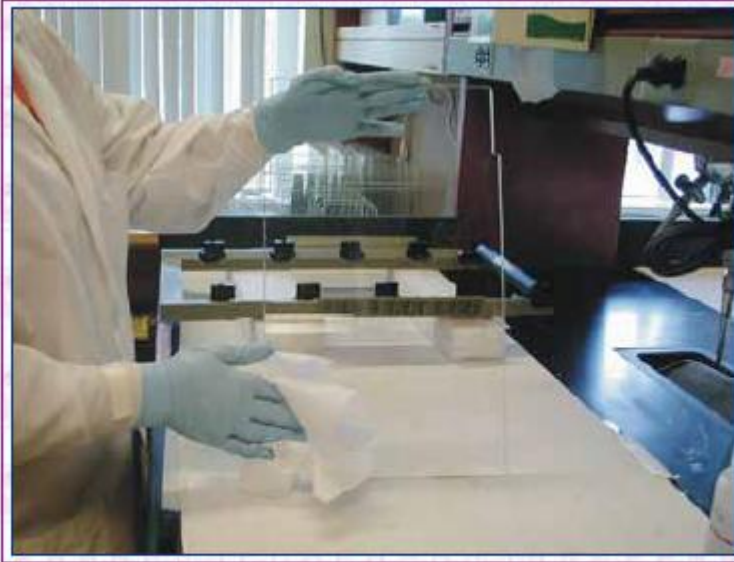
Hay diferentes tipos de termocicladores: el de color negro es una tétrada, y en él se pueden procesar simultáneamente 4 conjuntos de 96 muestras. Los cuatro más pequeños, de color blanco tienen, cada uno, una capacidad de 96 pocillos.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 17

Según el tamaño de las bandas que generó la PCR y de la discriminación que se requiera, la visualización de las bandas puede lograrse mediante un gel de azarosa corriente y horizontal, o con un gel de secuenciación vertical de acrilamida (ver la próxima diapositiva). En esta diapositiva, los productos migran en un gel de agarosa.

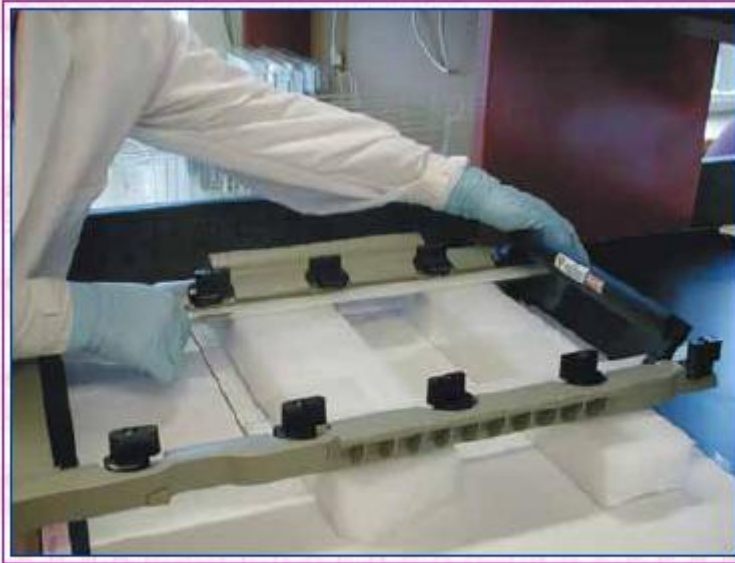


Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 18

El gel de acrilamida puede procesarse en una unidad independiente o en un secuenciador automático.

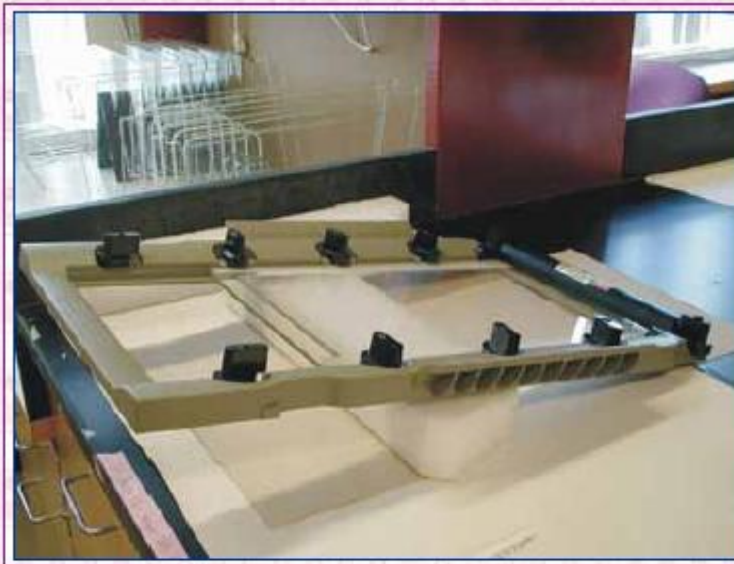
La preparación del gel de secuenciación, aunque es un poco compleja, es similar para ambos casos. En esta diapositiva se limpia el vidrio y se seca antes de preparar el gel que se usará en un secuenciador automático.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 19

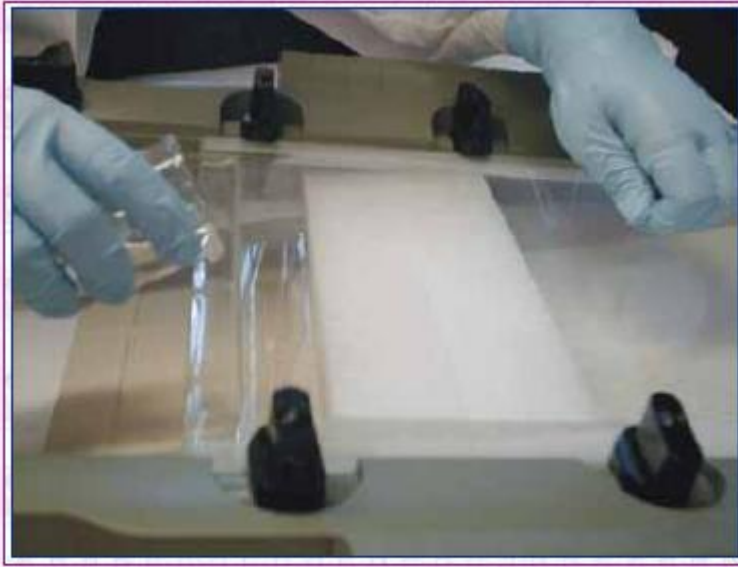
Las placas de vidrio se insertan en el marco, que se colocará en el secuenciador.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 20

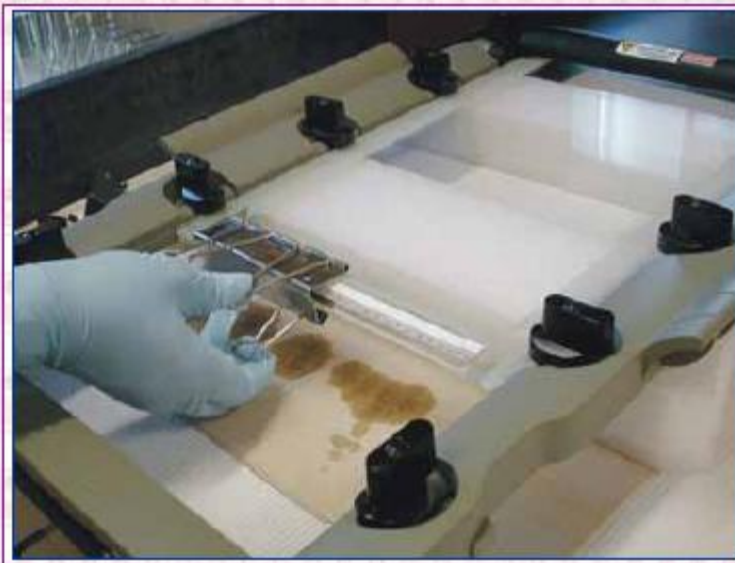
Las placas de vidrio se sujetan firmemente en su sitio, y se alista toda la unidad para verter en ella el gel.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 21

El gel de acrilamida líquido se vierte en el molde. Puesto que la acrilamida es un carcinógeno, debe usarse ropa de protección.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 22

Las pinzas sujetan los bordes inferiores de las placas de vidrio para impedir que haya fugas de gel.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 23

Se inserta un peine en el extremo superior del gel para formar los pocillos en los que se depositarán las muestras.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 24

Una vez que el gel se solidifica, la unidad se coloca en el aparato secuenciador.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 25

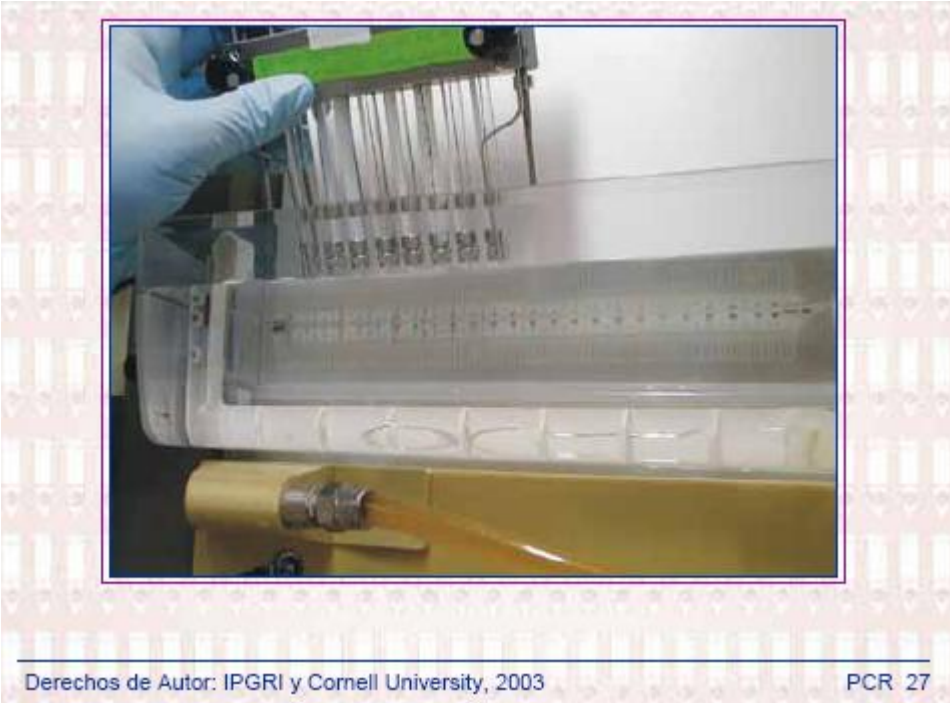
Las muestras son tomadas con una multipipeta.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 26

...y se cargan en los pocillos del gel.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 27

Esta diapositiva es una toma de cerca de la fotografía anterior. Observe que los pocillos son de tamaño muy pequeño lo mismo que las puntas de pipeta, lo que permite cargar muchas muestras en cada gel.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 28

Se coloca una placa de calentamiento contra el gel para garantizar una temperatura de funcionamiento constante.



Se vierte la solución tampón en el reservorio superior del gel.



...y en el reservorio inferior.



Derechos de Autor: IPGRI y Cornell University, 2003

PCR 31

Se le da un vistazo final, luego se cierra la puerta y empieza el programa.

GENOTYPE MTBDR

TEST DE GENETICA MOLECULAR PARA IDENTIFICACION DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA Y/O ISONIAZIDA DEL COMPLEJO MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS

METODOLOGIA.-

El kit GenoType MTBDR está basado en la tecnología DNA STRIP y permite la identificación mediante genética molecular del complejo Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a rifampicina y/o isoniazida, desde cultivo o material de paciente procedente de muestras pulmonares baciloscopia positivas. La identificación de la resistencia a rifampicina es posible gracias a la detección de las mutaciones más significativas del gen *rpoB* (que codifica por la subunidad beta de la ARN polimerasa).

Para el ensayo de resistencia a isoniazida, es examinado el gen katG (que codifica por la catalasa peroxidasa). El procedimiento completo se divide en tres pasos: aislamiento de DNA procedente de cultivo (placas de cultivo/medio líquido) o de material directo (muestras pulmonares baciloscopía positivas descontaminadas) los reactivos necesarios no se suministran, una amplificación múltiple con primers marcados con biotina (La DNA polimerasa termoestable no se incluye) y una hibridación reversa. La hibridación incluye los siguientes pasos: desnaturalización química del producto a amplificar, hibridación de amplicones en una sola cadena, marcados con biotina, a sondas unidas a membrana, lavado astringente, adición de conjugado de fosfatasa alcalina/streptavidina (AP) y una reacción de tinción mediada por AP. Una plantilla asegura la interpretación sencilla y rápida del esquema de bandas obtenido.

ALMACENAMIENTO Y PRECAUCIONES.-

Almacene la mezcla del Primer /Nucleótido PNM a 2 a 8 grados centígrados a su llegada aislándola de cualquier fuente potencial de DNA contaminante. Si se requiere almacenamiento durante más de 4 semanas, almacene a -20 grados centígrados. A fin de evitar congelaciones y descongelaciones repetidas, alicuote el PNM. Almacene el resto de los componentes del kit en 2 a 8 grados centígrados. No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.

Los especímenes de los pacientes y los cultivos realizados a partir de especímenes de pacientes deben ser considerados siempre como potencialmente infecciosos. Las muestras de pacientes de riesgo y los cultivos realizados a partir de esas muestras deben ser etiquetados y manejados siempre bajo las condiciones de seguridad adecuadas. Observe todas las normas medioambientales y de seguridad, tanto federales, estatales como locales.

Lleve siempre guantes y ropa adecuados. El tratamiento y preparación de la muestra, incluyendo el paso de inactivación por calor, deben ser llevados a cabo en una cabina de seguridad de clase II. Antes del paso de inactivación por calor las muestras deben ser centrifugadas en un rotor con contenedor de aerosoles. Abrir el rotor con contenedor de

aerosoles solamente en la cabina de seguridad. Después de la inactivación por calor se puede utilizar un rotor Standard para centrifugar las muestras fuera de la cabina de seguridad.

Es esencial que todos los materiales y reactivos usados para aislamiento de DNA y amplificación estén libres de DNAasas.

CONTROL DE CALIDAD.-

A fin de validar el funcionamiento correcto del test y la funcionalidad de los reactivos , cada tira incluye 4 zonas de control:

- Una zona de Control de Conjugado para comprobar la unión del conjugado a la banda y una reacción cromogénica correcta.
- Una zona de Control Universal que detecta, como es conocido, todas las micobacterias conocidas y miembros del grupo de bacterias gram positivas con un alto contenido en G/C.
- Dos zonas de control (rpoB y katG) para comprobar la sensibilidad óptima de la reacción de cada loci testado.

AISLAMIENTO DE DNA.-

Puede usarse un crecimiento bacteriano en placas de cultivo o en medio líquido, así como material directo de baciloscopías positivas. Este test no puede usarse para detectar mycobacteria directamente de muestras de pacientes con baciloscopías negativas. La zona de trabajo ha de estar libre de DNA amplificado. Es crucial el calentamiento de las muestras a 95-105 grados centígrados durante, al menos 15 minutos, con objeto de lisar totalmente las células e inactivar bacterias negativas. Se puede seguir cualquier procedimiento de aislamiento de DNA que produzca DNA de bacterias amplificable.

1a. Cuando use crecimiento bacteriano en medio sólido, recoja bacterias con una asa de inoculación y suspéndalas en aproximadamente 300 microlitros de agua (grado Biología Molecular).

1b. Cuando use crecimiento bacteriano procedente de medio líquido, aplique directamente 1 ml., cuando use material directo de paciente, aplique 500 microlitros de muestra decontaminada. Concentre las bacterias mediante centrifugación 15 min. en una centrifuga de sobremesa en un rotor con contenedor de aerosoles y en una cabina de seguridad de clase II a 10 000 x g aproximadamente. Deseche el sobrenadante y resuspenda las bacterias en 100 a 300 microlitros de agua (para muestras de cultivos), o 100 microlitros de agua (para material directo de pacientes) agitando con un vortex.

3. Incube las bacterias durante 20 minutos a 95 grados centígrados (termobloque o baño de agua).

5. Incube durante 15 min. en un baño de ultrasonidos.

6. Centrifuge durante 5 minutos a máxima velocidad y utilice directamente 5 microlitros del sobrenadante para la PCR. En caso de que la solución de DNA haya de almacenarse por periodos prolongados de tiempo, transfiera el sobrenadante a un tubo nuevo.

AMPLIFICACION.-

Prepare la mezcla de amplificación en una habitación libre de DNA. La muestra debe añadirse en un área separada.

MEZCLE POR TUBO:

- 35 microlitros de PNM
- 5 microlitros 10x de tampón para incubación de polimerasa- no suministrado.
- X microlitro de solución Mg Cl₂ -entre 1.5 y 2.5 nM.

- 1-2 unidades de DNA polimerasa termoestable
- y microlitro de agua para obtener un volumen de 45 microlitros.
- Añada 5 ml de solución de DNA (20 – 100 ng de DNA) para obtener un volumen final de 50 microlitros (sin considerar el volumen de enzima)

Dependiendo del termociclador usado, el perfil de amplificación puede tener que ser modificado.

Los productos para amplificación pueden almacenarse entre +4 y -20 grados centígrados.

Para comprobar la reacción de amplificación, aplique directamente 5 microlitros de cada muestra en un gel de azarosa al 2% sin la adición de tampón de carga. Los amplicones producidos tienen una longitud aproximada de 200 pb (Control universal) , 250 pb (rpoB) y 120 pb (katG), respectivamente.

HIBRIDACION.-

PREPARACION.-

Precaliente en baño de agua con agitación o TwinCubator a 45 grados centígrados; la máxima desviación tolerada en la temperatura idónea es de +/- 1 grado centígrado. Precaliente las soluciones HYB y STR a 37-45 grados centígrados antes de usar. Los reactivos han de estar libres de precipitado (tenga en cuenta no obstante que la solución CON-D es opaca). Mezcle si fuera necesario. Caliente a temperatura ambiente los restantes reactivos, con la excepción del CON-C y el SUB-C. Usando un tubo adecuado, diluye el conjugado con sus tampones respectivos en las cantidades necesarias. Mezcle bien y equilibre a temperatura ambiente. Para cada tira añada 10 microlitros de concentrado a 1 ml. de los respectivos tampones. Diluye el CON-C antes de cada uso. El SUB-C diluido es estable durante 4 semanas si se almacena a temperatura ambiente y se protege de la luz.

1. Dispense 20 microlitros de la Solución de Desnaturalización en una esquina de cada uno de los pocillos usados.
2. Añada a la solución 20 microlitros de muestra amplificada, pipetée arriba y abajo para mezclar bien e incube a temperatura ambiente durante 8 minutos. Entretanto, saque tiras de sus tubos usando pinzas e identifíquelas marcando bajo el marcador coloreado con un lápiz. Lleve siempre guantes cuando manipule tiras.
3. Añada cuidadosamente a cada pocillo 1 ml. de Tampón de Hibridación precalentado. Agite suavemente la bandeja hasta que la solución tenga un color homogéneo. Tenga la precaución de no derramar solución en los pocillos cercanos.
4. Ponga una tira en cada pocillo. Las tiras tienen que quedar completamente cubiertas por la solución y el lado con la sonda hacia arriba. Usando pinzas, dé la vuelta a las tiras que pudieran haberse girado durante su inmersión. Limpie cuidadosamente las pinzas después de cada uso para evitar contaminación. Ello. Es también de aplicación en los pasos siguientes.
5. Ponga la bandeja en el baño de agua con agitación durante 30 minutos a 45 grados centígrados. Ajuste la frecuencia de agitación del baño de agua para que realice una mezcla completa y constante de la solución. Para obtener una adecuada transferencia de calor, la bandeja debe estar sumergida en el agua, al menos, 1/3 de su altura.
6. Aspire completamente el Tampón de hibridación.
7. Añada 1 ml. de solución astringente de lavado a cada tira e incube durante 15 minutos a 45 grados centígrados en un baño con agitación.
8. Desde este paso, en adelante, trabaje a temperatura ambiente. Elimine completamente la solución astringente de lavado. Deseche la solución de lavado en

un contenedor y elimine todo el líquido restante volcando la bandeja y golpeándola suavemente sobre un papel absorbente. Ello es también de aplicación a todos los demás pasos de lavado.

9. Lave una vez cada tira con 1 ml. de solución de aclarado sobre la plataforma de agitado.
10. Añada 1 ml. de conjugado diluido a cada tira e incube durante 30 minutos sobre la plataforma de agitación.
11. Elimine la solución y lave cada tira dos veces durante 1 minuto con 1 ml. de solución de aclarado y de nuevo durante 1 minuto aproximadamente con 1 ml. de agua destilada sobre la plataforma de agitación. Asegúrese de eliminar cualquier resto de agua después del lavado anterior.
12. Añada 1 ml. de sustrato diluido a cada tira e incube sin agitación y protegiéndolas de la luz. Dependiendo de las condiciones del test, el tiempo de incubación del sustrato puede variar entre 3 y 20 minutos. Tiempos prolongados de incubación del sustrato pueden conducir a una tinción incrementada del fondo y podría dificultar la interpretación de los resultados.
13. Detenga la reacción aclarando brevemente por dos veces con agua destilada.
14. Usando pinzas, saque las tiras de la bandeja y séquelas entre dos capas de papel absorbente.

EVALUACION E INTERPRETACION DE RESULTADOS.-

Pegue las tiras y almacénelas protegidas de la luz. Con cada kit se proporciona un formulario de evaluación.

Cuando se utilice este formulario de evaluación, pegue las tiras reveladas en los campos marcados, alineando las bandas CC y UC con las respectivas líneas del formulario. Determine el estado de la resistencia y anote en las respectivas columnas.

8. TRATAMIENTO. –

MEDICAMENTOS ESENCIALES EN EL TRATAMIENTO ESTANDARIZADO DE LA TUBERCULOSIS MULTIDROGORRESISTENTE.-

El Esquema Forzoso en pacientes TB MDR, utiliza como fármacos: amikacina, kanamicina, fluoroquinolonas (ofloxacina, ciprofloxacina), cicloserina, etionamida, sulbactam, ácido clavulánico, derivados de la rifmapicina, macrólidos. (SEDES- LAPAZ)

Kn: Kanamicina

Of: Ofloxacina

Eth: Ethionamida

Cs: Cicloserina

Z: Pirazinamida

ESQUEMAS TERAPEUTICOS:

- A. **Enfermos nuevos categoría IV:** Pacientes que nunca han recibido tratamiento antituberculoso de segunda línea o si han recibido fue menos de un mes.

- B. **Enfermos categoría IV tratados anteriormente solo con medicamentos de primera línea:** Pacientes diagnosticados con tuberculosis que han recibido tratamiento por más de un mes.

- C. **Enfermos categoría IV tratados anteriormente con medicamentos de segunda línea:** Pacientes tratados durante un mes o más con medicamentos de segunda línea, combinados o no con otros de primera línea.

D. **Pacientes remitidos:** Aquellos de categoría IV que han sido remitidos desde otro registro de tratamiento de TB MDR para seguir tratamiento de categoría V.

E. **Otros:** Pacientes de categoría IV que no tienen cabida en las definiciones anteriores (se incluye en este grupo los tratados fuera de los programas DOTS).

MONITOREO DURANTE EL TRATAMIENTO.-

FASE INICIAL (6 meses)

- Valoración clínica
- Hemograma completo, transaminasas y creatinina (cada 2 meses)
- Baciloscopía y cultivo (cada mes)
- Hormonas tiroideas y Rx PA de tórax (cada 3 meses)
- Pruebas de embarazo en mujeres en edad fértil (sólo al inicio)
- Otros exámenes e interconsultas de especialidad de acuerdo a requerimiento.

FASE DE CONTINUACION (18 meses)

- Valoración clínica
- Hemograma completo, transaminasas y creatinina (cada 3 meses)
- Baciloscopía y cultivo (cada mes)
- Hormonas tiroideas y Rx PA de tórax (cada 6 meses)
- Otros exámenes e interconsultas de especialidad de acuerdo a requerimiento.

SUPERVISION

- Mensual por el Programa Regional de Tuberculosis
- Trimestral por el Programa Nacional y Comité Nacional TB MDR.

VIGILANCIA DE LA TB MDR

- Solicitar cultivos y pruebas de sensibilidad y resistencia en caso de ausencia de conversión bacteriológica al tercer mes de tratamiento en el esquema II y el segundo mes en el esquema I, fracaso terapéutico al esquema I, II y III, abandonos, recaídas y crónicos.
- Solicitar cultivos y pruebas de sensibilidad y resistencia en todos los casos previamente tratados que inicien tratamiento.

RESULTADO DE TRATAMIENTO EN CASO TB MDR.-

- a) **CURADO TB MDR.-** Es el paciente que ha completado un esquema terapéutico adecuado, presentando 5 cultivos mensuales negativos consecutivos guante los últimos 12 meses de tratamiento.
- b) **TRATAMIENTO TERMINADO.-** Es el paciente que ha terminado el tratamiento indicado por el comité, pero sin existencia de control bacteriológico al final del mismo (ya sea por no haber sido solicitada, no figurar en la historia clínica o porque el paciente no expectora).
- c) **ABANDONO.-** Suspensión mayor a 2 meses en la toma de medicación.
- d) **FRACASO TERAPEUTICO EN TB MDR.-** Es el paciente que persiste con 2 o mas cultivos positivos en los últimos 12 meses de tratamiento siempre y cuando este haya sido estrictamente supervisado.
- e) **TRANSFERENCIA DESCONOCIDA.-** Es el paciente que ha sido derivado a otro establecimiento de salud y cuyos resultados evolutivos son desconocidos.

- f) **FALLECIDO.-** Es el paciente que ha muerto por cualquier causa, inclusive por la TB MDR, en el curso del tratamiento.³⁴

9. PRONÓSTICO.-

Hace poco más de 50 años la tuberculosis era una de las enfermedades con un mayor porcentaje de mortalidad, ya que no se disponía de un tratamiento eficaz. En la actualidad, gracias a la moderna quimioterapia, es posible asegurar la curación en prácticamente el 100 % de los casos, con esquemas terapéuticos de fácil administración, bien tolerados y con escasas complicaciones. Incluso en las formas más graves (tuberculosis miliares, tuberculosis asociadas al SIDA), esta afirmación sigue siendo válida a condición de que el diagnóstico sea precoz, la pauta correcta y el cumplimiento estricto por parte del paciente.

El mayor problema viene representado por los abandonos del tratamiento (drogadictos, personas asociales o con incorrecta información médica), que convierten una enfermedad potencialmente curable en un importante peligro social, por el riesgo de crear multirresistencias a los medicamentos más eficaces. El médico debe tener presente que todo paciente mal controlado, o perdido y no declarado a los correspondientes organismos sanitarios de control de la tuberculosis, es una fuente de contagio y propagación incontrolada, y terreno abonado para el desarrollo de una enfermedad crónica de difícil tratamiento ³.

La persona que no se atiende a tiempo tiene dos años de vida, periodo que comprende desde la fase de incubación del bacilo, que se previene con un tratamiento para salvar la vida.

La vacuna BCG en los niños no evita pero sí previene un 60 por ciento de los contagios ³⁰.

10. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL TEMA DE ESTUDIO.-

10.1. ANALISIS COSTO EFECTIVIDAD.-

Los costos en salud han aumentado considerablemente en los últimos años por la introducción de nuevas tecnologías de alto costo y por el incremento en la incidencia de enfermedades infectocontagiosas en la población por lo que parece razonable orientar parte de nuestros proyectos de investigación hacia el área costo-efectividad.

En este caso la unidad de medida de la consecuencia de dos alternativas de intervención es la misma, (ie: años de vida ganados). Las alternativas pueden tener distinto grado de éxito en alcanzar la meta, así como costos distintos. Para comparar las alternativas se usa la medida de costo por unidad de efecto: costo por año de vida ganado o, al revés, año de vida ganado por dólar gastado.

La relación costo-efectividad o eficiencia considera tanto la efectividad de una intervención en salud como los recursos que se requieren para entregar dicha intervención. La eficiencia puede definirse en términos de alcanzar el máximo beneficio en salud, con una determinada cantidad de recursos o bien como la mínima cantidad de recursos que se requiere para alcanzar un objetivo determinado. En general, como los recursos en salud son fijos, se emplea la primera definición de eficiencia.

El análisis costo efectividad es el tipo de estudio de evaluación económica más utilizado en el ámbito sanitario y en general, desde que fue inicialmente aplicado a mediados de los 60, ha sido considerado hasta la fecha el instrumento más apropiado el impacto de las intervenciones en este contexto. Se trata de una técnica completa de evaluación económica de tecnologías sanitarias, a través de la cual se trata de identificar, cuantificar y valorar los costes por unidad de efecto de dos o más alternativas de intervención sanitaria disponibles para alcanzar determinado objetivo, siempre que los respectivos resultados vengan referidos a la misma clase de efectos y estos estén expresados en términos de unidades naturales. 34.

El análisis costo efectividad permite elegir aquella intervención que reduce los costos para una determinada unidad natural escogida. 35.

La efectividad se entiende como la medición de los resultados obtenidos por las intervenciones de salud en situaciones concretas y reales. La determinación de la

efectividad de las intervenciones es un proceso caro, complejo y de larga duración, lo que ha determinado que aunque sea deseable no este disponible para un importante número de ellas.

La efectividad depende de tres factores:

- de la eficacia, es decir de los resultados obtenidos si las intervenciones se aplicaran en condiciones óptimas, que es una estimación del beneficio potencial de la medida;
- de la penetración (o cobertura) que es la capacidad del programa de alcanzar a la población objetivo y
- del comportamiento (observancia o compliance) de los beneficiarios potenciales y de los profesionales en relación al cumplimiento de las recomendaciones técnicas.

$$\textit{Efectividad} = \textit{Eficacia} \times \% \textit{ Cobertura en Población Objetivo} \times \textit{Observancia}$$

F. COMPONENTES DE LA EFECTIVIDAD.-

a. Eficacia

La eficacia corresponde a los beneficios en la salud de una intervención, procedimiento, régimen o servicio, es decir es la capacidad de un programa o intervención para alcanzar sus objetivos en condiciones ideales, controladas u óptimas. Por lo tanto trata de evaluar la sensibilidad de un problema de salud a una acción preventiva o curativa. Para ser eficaz, la acción debe ser capaz de producir los mismos resultados cuando se repite en condiciones semejantes y el resultado obtenido debe ser similar al resultado que se espera obtener por su aplicación. La evaluación de eficacia descansa idealmente en la calidad de la evidencia proporcionada por las investigaciones empíricas. Por esta razón se han propuesto tres clases de pruebas para determinar el valor de una intervención: pruebas basadas en ensayos clínicos randomizados, estudios de casos y controles, estudios ecológicos, opinión de expertos.³³

Sin embargo, bajo condiciones de campo los resultados pueden ser muy diferentes debido a la heterogeneidad de los pacientes, de las prescripciones o de los gestores, por ello hablamos de efectividad. 36,

b. Cobertura

La cobertura es el resultado de una oferta eficaz y sistematizada de servicios básicos de salud, que satisfagan las necesidades de toda la población, se proporcionen en forma continua, en lugares accesibles y de manera aceptable por la misma y garanticen el acceso a los diferentes niveles de atención del sistema de servicios de salud.

La cobertura también puede ser definida como el factor que vincula la capacidad potencial de producción de servicios con la utilización efectiva de los servicios producidos. En este concepto se combinan dos aspectos: el acceso a los servicios y la utilización. El concepto de cobertura implica una relación dinámica en la que intervienen las necesidades de la población, manifestada por la demanda de servicios y, por otra, los recursos disponibles y sus combinaciones

Bajo esta perspectiva pueden existir problemas de cobertura derivados de la falta de recursos o bien por la no utilización de los recursos disponibles debido a dificultades de acceso. A continuación se definen los componentes de la cobertura:

- **Accesibilidad:** El acceso se pueden definir al menos desde dos perspectivas: la accesibilidad geográfica y la accesibilidad sociorganizacional. La primera es “La resistencia al desplazamiento” (Donabedian) debido que el usuario debe desplazarse desde el lugar en que se encuentra hacia donde se proveen los servicios.

La accesibilidad Sociorganizacional corresponde a las características no espaciales de los recursos que obstaculizan o facilitan la utilización de los servicios. Penchansky y Thomas incorporan cuatro dimensiones: Disponibilidad (que el recurso exista), Comodidad (que es la relación entre el sistema de acogida y la

capacidad de los usuarios de adaptarse a ella), Accesibilidad económica (relación entre el precio de los servicios y la capacidad de pago de los usuarios), Aceptabilidad (relación entre las actitudes de los clientes hacia las características personales y profesionales de los que brindan la atención y respecto de la forma en que los atienden).

- **Utilización de Servicios:** En la práctica la accesibilidad se traduce en indicadores sobre la utilización de los servicios por la población. Ejemplos de este tipo de indicadores son: tasas de consultas médicas por habitante, tasas de intervenciones quirúrgicas por habitantes, etc. Las tasas relacionan frecuencia de intervenciones o utilización de un recurso con las poblaciones potencialmente usuarias durante un período de tiempo determinado, que habitualmente es de un año. En síntesis, la evaluación de cobertura deberá conjugar los dos aspectos ya señalados: accesibilidad y utilización de servicios. De esta forma, existirá una alta cobertura cuando los servicios son accesibles y se haga una utilización adecuada de ellos.

c. Adherencia a las intervenciones

La adherencia se define como el grado en que el comportamiento del paciente coincide con la indicación del médico.

La adherencia ha sido profusamente estudiada en el extranjero, a través del reporte de los pacientes, del conteo de píldoras, de exámenes para detectar la presencia del medicamento, de los registros de citas suspendidas y del número de contactos a proveedores de salud. Las tasas de adherencia varían entre 30 y 70 por ciento, sobre una gama amplia de problemas de salud y de indicaciones médicas.

Davis, basándose en revisiones bibliográficas, estimó que aproximadamente un 30-35 por ciento de todos los pacientes no sigue las recomendaciones de su médico.

A pesar del gran número de estudios que han explorado la adherencia a tratamientos médicos y a acciones preventivas, existen escasas referencias sobre la adherencia a tratamientos quirúrgicos.

d. Cumplimiento de los proveedores.

Este aspecto captura la disminución de la eficacia debido a variaciones en la aplicación de los métodos recomendados de diagnóstico, tratamiento y el protocolo de implementación.

La adherencia de los proveedores a realizar indicaciones médicas adecuadas tiene relación con el tema del desempeño de los proveedores. Existen evidencias de que la efectividad de los clínicos comienza a decaer apenas termina el período de formación clínica. Mientras la capacidad de diagnosticar por reconocimiento de patrones mejora con la experiencia, así como se hace más eficiente el uso del enfoque hipotético-deductivo, hay otras áreas en que se produce deterioro, como son: el conocimiento de la biología humana (por olvido y por no incorporar los nuevos conocimientos), y las habilidades clínicas, no solo por el envejecimiento, también por no incorporar los avances en las técnicas diagnósticas y terapéuticas, lo que estaría asociado al tiempo transcurrido desde la graduación de los médicos.

La capacidad de lograr un diagnóstico preciso y de prescribir una terapia eficaz determina la efectividad clínica actual. La habilidad de autoevaluarse y de poder evaluar e incorporar el conocimiento biomédico, en cambio, determinará la efectividad futura.

Desempeño Clínico: Algunos autores denominan “competencia clínica” al conjunto de actitudes, conocimientos y habilidades clínicas. Esta refleja la capacidad potencial (o teórica) de evaluar y tratar adecuadamente a los pacientes y es el aspecto que continuamente se evalúa durante la carrera de medicina.

La competencia es un requisito para el correcto desempeño clínico, pero por sí sola no asegura un desempeño adecuado. En el desempeño influyen otros determinantes como la motivación y las barreras, que se refieren a las circunstancias en que se da la práctica clínica. En ocasiones diferencias en competencia clínica (ej. la certificación de especialidad) no se traduce en diferentes desempeños clínicos.

La motivación se entiende como la inclinación positiva de los clínicos a utilizar toda su competencia en la práctica. En un estudio realizado por Robert Fox sobre cambios en la práctica médica se les preguntó a los clínicos sobre los factores que habían motivado los cambios, encontrándose tres relevantes: el descubrimiento de una innovación que mejora la práctica médica; la insatisfacción con los resultados actuales de su práctica médica y finalmente el deseo por la excelencia, que es un componente intrínseco relacionado con las expectativas personales de lo que debe ser la práctica médica.

Las barreras que impiden pasar de la competencia clínica al desempeño adecuado (Sackett) tienen relación con la capacidad de pago de los pacientes, la sobrecarga de trabajo de los médicos, las restricciones financieras y las prácticas organizacionales inadecuadas en los establecimientos. También se mencionan barreras subconscientes como los prejuicios relacionados con la raza, sexo y estatus socioeconómico de los pacientes.

G. COSTOS.-

Los costos asociados a la provisión de servicios de salud han sido objeto de preocupación creciente en las diferentes instancias vinculadas al quehacer de la salud, debido a la sostenida tendencia al aumento que se ha observado durante el último tiempo, situación que afecta a la mayor parte de los países, independientemente de su nivel de desarrollo.

Este incremento en los costos se puede explicar, en términos generales, por la acción combinada de, al menos, dos variables:

- el aumento de la demanda, y
- la creciente tecnificación y especialización de la provisión de servicios de salud.

La demanda aumenta por el crecimiento vegetativo de la población, por la aparición de nuevas enfermedades y por el cambio en el perfil epidemiológico debido al incremento de las expectativas de vida al nacer, situación que significa que se incorporen a la demanda los grupos etáreos de senescentes que presionan por mayor cantidad de servicios asistenciales, los que a su vez, tienen un mayor costo relativo.

Presiona también sobre los costos de la atención de salud, el vertiginoso avance científico y tecnológico que se aprecia en el campo de la medicina. Ello determina la disponibilidad en el mercado de equipos cada vez más complejos, sofisticados y costosos, tanto en su adquisición, como en su operación y mantenimiento. En este contexto de demandas crecientemente complejas y costosas, parece ineludible el imperativo de maximizar los recursos relativamente escasos, a fin de obtener de ellos su mayor productividad.

Un elemento indispensable a fin de aumentar la eficiencia en la provisión de servicios de salud, es conocer los costos de producción en los cuales incurre un sistema. Cabe mencionar que éstos involucran tanto las funciones de provisión de servicios de promoción y/o prevención, como asistenciales.

Una intervención en salud, como conjunto de acciones con un propósito definido, utiliza distintos tipos de recursos que implican un costo de oportunidad, un costo para la sociedad. Es decir, tales recursos, de no ser utilizados en una intervención dada, pueden ser utilizados en otra intervención; o si no fueran utilizados con propósitos sanitarios, podrían incluso destinarse a otros fines que la sociedad también valora como prioritarios (Por ej. educación, vivienda, descontaminación). En este sentido, los recursos que una intervención conlleva no son neutros: involucran el esfuerzo de una sociedad y tiene asociados diversos costos.

Teóricamente, los distintos costos o beneficios monetarios asociados a las intervenciones de salud a considerarse son los siguientes:

- Los costos fijos relacionados con el uso de la infraestructura del sistema de salud para entregar cualquier intervención en general.
- Los costos variables, que por definición varían en función del número de intervenciones realizadas.

El proceso de costeo de las intervenciones puede ser dividido en tres pasos. Primero, se calculan los costos de infraestructura, fijos y variables de productos y servicios de salud intermedios, como consultas, días cama y hora de uso de quirófano, por medio de métodos estandarizados de costeo. Segundo, se cuantifican los recursos utilizados para producir una intervención por paciente receptor. Con ello se define un patrón en la utilización de recursos necesario para producir tal intervención. Este patrón se considera como un punto dentro de la función de producción multivariada para una intervención, o sea es una muestra representativa de la función de producción. Esto facilita la comparación en la producción de diferentes intervenciones bajo distintos escenarios donde los costos unitarios de cada insumo varían ampliamente y facilita el uso de información de costo efectividad en un modelo optimizador para la planificación. Tercero, se combina el patrón de utilización de recursos e infraestructura, fijo y variable, para estimar el costo promedio de una intervención por paciente receptor.

Su aplicación en el presente tema de tesis tiene como antecedentes que en Bolivia de acuerdo con un reportaje realizado por el periódico La Prensa el año 2002 a la Directora del Programa Nacional contra la tuberculosis, Dra. Mirtha Camacho, el programa recibía dos millones de dólares del Fondo Mundial de Cooperación que cubre el tratamiento de los pacientes con tuberculosis multidrogorresistente, y cuando se trataba de enfermos resistentes, que no concluyeron el primer tratamiento, el programa debía destinar 6.000 dólares para adquirir los fármacos que precisa cada uno, lo cual se hacía muy difícil tomando en cuenta que en Bolivia se detectan 200 mil casos de tuberculosis cada año y que el programa recibía para el año 2002, 2,3 millones de bolivianos anuales del Tesoro eneral de la Nación (TGN) y dos millones de dólares del Fondo Mundial de Cooperación. Este último monto debía ser distribuido en los próximos cinco años.

Según la Dra. Mirtha Camacho, los recursos han sido destinados al apoyo de la supervisión y seguimiento a los servicios de salud que proporcionan el tratamiento a los contagiados,

buscando que el TGN pueda incrementar el presupuesto porque realmente es un grupo demasiado grande que no tiene tratamiento 1.

Sin embargo el no identificar rápidamente cepas de bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes al tratamiento estándar genera su proliferación exponencial al mismo tiempo tratamientos más costosos y más prolongados. El conocimiento actual del genoma de MTB y las técnicas modernas de biología molecular han permitido saber que gran parte de este tipo de resistencia se produce por mutaciones que el MTB realiza en su genoma para sobrevivir al tratamiento antituberculoso, estas mutaciones pueden ser identificadas a nivel molecular de una forma rápida, lo cual puede coadyuvar a un tratamiento oportuno y rápido que impida su proliferación, puesto que por otro lado, el tratamiento para TB MDR es bastante tóxico por lo que se requiere control laboratorial e interconsultas con especialidades como nefrología, otorrinolaringología, gastroenterología, dermatología, psiquiatría, etc. constantemente lo cual implicaría mayores gastos para el paciente. Preocupa saber que entre los efectos adversos más indeseables de la cicloserina está el suicidio por su uso frecuente.

Según la responsable del Programa Nacional de Control de Tuberculosis, Miriam Nogales los medicamentos de primera línea tienen un costo semestral de 25 a 30 dólares por paciente, pero los de segunda línea para pacientes que desarrollaron resistencia a los antibióticos por tratamiento incompleto, el costo es de 6.000 a 12.000 dólares para un tratamiento de dos años por paciente, según informes del Ministerio de Salud.

En el presente estudio mediante un análisis de costos se pretende buscar el método más conveniente en el diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente comparando una prueba tradicional fenotípica como es la prueba de sensibilidad y resistencia en relación a la prueba genotípica reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) justificando el costo de ambas pruebas después del análisis de costos en la realización de ambas tomando en cuenta los equipos utilizados, los insumos, servicios de luz y agua, salarios de los profesionales que realizan ambas pruebas y el costo de infraestructura.

La prueba reacción en cadena de la polimerasa puede mejorar el resultado final del manejo del paciente y disminuir los costos de manejo del paciente por la rapidez con la que se

llega al diagnóstico en relación a la prueba de sensibilidad y resistencia que requiere mayor tiempo en su realización, de esta manera la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) a pesar de ser más costosa en su realización se muestra más efectiva y de hecho beneficiosa con respecto a la prevención y vigilancia epidemiológica de la multidrogorresistencia y prevención de mayores efectos adversos por la realización de malos tratamientos, buscando un menor costo y mor beneficio para el Estado y el paciente.

H. MEDICION DE LA EFECTIVIDAD.-

En la práctica, la efectividad se refiere al grado de consecución de los objetivos del sistema, que en última instancia corresponden a la mejoría de la situación de salud de la población expresada a través de indicadores sanitarios.³³

La principal dificultad en esta área es la latencia que se produce entre las intervenciones y la obtención de resultados mensurables al nivel poblacional, especialmente cuando se usan indicadores de mortalidad, donde el impacto en ahorro de vidas ocurre en el largo plazo. Sin embargo, pueden identificarse indicadores más sensibles, como históricamente ha sido la mortalidad infantil o indicadores más complejos que incorporen mejorías en nivel de salud, como los Años de Vida Perdidos (AVISA) o QALY.

Los AVISA se han utilizado extensamente, a partir de su descripción, como una medida de la efectividad de las intervenciones. Este indicador mide la pérdida de salud producto de la enfermedad, discapacidad y muerte, expresada en una unidad de medida común a estos tres estados: el tiempo. Esta característica permite cuantificar y adicionar el impacto de cada una de estas condiciones logrando un indicador sintético que se utiliza para la identificación de los problemas de salud prioritarios.

Los AVISA son una medida que extiende el concepto de años de vida potencial perdidos AVPP, debido a muerte prematura, al incluir los años de vida saludable perdidos en virtud de vivir en condiciones de mal estado de salud o discapacidad.

Un AVISA puede ser entendido como un año perdido de vida saludable.

Los AVISA para cualquier enfermedad son calculados mediante la suma de los años perdidos por muerte prematura AVP en la población más los años de vida perdidos debido a discapacidad AVD a consecuencia de los casos incidentes de la condición de salud.

$$AVISA = AVP + AVD$$

Los AVP básicamente corresponden al número de muertes multiplicado por la expectativa de vida estándar a la edad en que las muertes ocurren.

Los AVD corresponden al número de casos incidentes en un periodo de tiempo, multiplicado por la duración promedio de la enfermedad y por un factor que refleja la severidad de la enfermedad, en una escala de 0 a 1, donde 0 es la salud completa y 1 la muerte.

Los factores de ponderación de la discapacidad han sido ampliamente estudiados y se encuentra disponible un listado de ellos en el GLOBAL BURDEN DISEASE STUDY.

I. CALCULO DE COEFICIENTES COSTO EFECTIVIDAD (CCE).-

Los CCE correspondientes a cada alternativa de intervención se definen como:

$$CCE = Costo / Efectividad$$

Donde Costo representa la suma de los costos netos totales de emprender la intervención y en términos de pesos monetarios, y Efectividad representa la suma de los efectos positivos y negativos que la intervención proporciona en términos de años de vida salvados. Ambos factores han sido debidamente actualizados a valor presente.

Este coeficiente determina el costo medio de la efectividad de una intervención. Es decir el costo que por cada año de vida salvado tiene una intervención. En este sentido, da cuenta de todos los recursos que destina la sociedad con el propósito de mejorar el estado de salud de las personas, a través de una intervención en particular. Mediante este indicador es posible

comparar distintas intervenciones que abordan un problema de salud para una determinada población, así como distintas intervenciones que abordan problemas de salud diferentes. De esta forma, se pueden ordenar todas las intervenciones de menor a mayor CCE y escoger desde la primera en adelante, hasta que se agoten los recursos disponibles o hasta que la sociedad no esté dispuesta a invertir más en la implementación de estas intervenciones.

Entonces, la regla de decisión es: “implementar intervenciones (o alternativas) no excluyentes de menor a mayor CCE”. Así, se cumple la premisa básica del análisis costo efectividad de maximizar el estado de salud de una población o de minimizar los costos agregados.

Un aspecto crítico para interpretar la información de costo efectividad es la selección del límite bajo el cual una intervención es considerada costo efectiva, de tal forma que el gobierno debería proveerla.

CAPITULO II: DISEÑO METODOLOGICO.-

1. DISEÑO O TIPO DE ESTUDIO.-

El estudio de costo efectividad se realizo en tres etapas:

- a) Identificación y cuantificación de costos basado en un sistema de costos tomando en cuenta costos fijos y variables encaminados a evaluar 2 métodos diagnósticos (PCR HIBRIDACION vs. CULTIVO Y METODO DE LAS PROPORCIONES)
- b) Identificación y cuantificación de beneficios
- c) Medición de efectividad

La valoración se hizo en bolivianos, aunque en el caso de la infraestructura se utilizo una tasa de cambio de 7.07 de la gestión 2009.

2. INTERVENCION O METODOLOGIA.-

2. 1. ANALISIS DE LOS COSTOS.-

En este sistema de costos se tomo en cuenta los siguientes costos:

- **COSTO TOTAL:** Es el resultado de la acumulación de todos los costos necesarios para poder prestar el servicio. Es la suma del costo fijo mas el costo variable, este costo total podemos dividirlo entre cada una de las pruebas para poder determinar el costo de cada prueba
- **COSTO UNITARIO:** Es el resultado de dividir el total de gastos acumulados por el nivel de la actividad.
- **COSTOS FIJOS.** O estructurales, en periodos de corto a mediano plazo, son constantes, independientes del volumen de producción. Se refiere a los inmuebles, equipos y otros que no se diluyen en un solo momento de producción.
- **COSTOS VARIABLES:** Que mantienen una relación directa con las cantidades producidas, son proporcionales al volumen de trabajo. Se refieren a salarios, alquileres, luz, agua, teléfono, mantenimiento, insumo como por ejemplo medicamentos u otros.

Esta metodología debe ser aplicada por separado al laboratorio de PCR HIBRIDACION para TB MDR del Instituto de Genética de la Facultad de Medicina y al laboratorio de tuberculosis del instituto INLASA que realiza el CULTIVO y METODO DE PROPORCIONES.

En ambas valoraciones se incluyeron los costos de infraestructura proporcionados en el caso del Instituto de Genética por el Arq. Hernán de la Riva del Departamento de Infraestructura de la UMSA y en el caso del Instituto INLASA por el Lic. Hernán Alipaz, Jefe del Departamento de Activos Fijos INLASA.

En cuanto a los costos de equipos e insumos. En el caso de la prueba reacción en cadena de la polimerasa fueron proporcionados por la Dra. Sonia Baldivieso encargada del Departamento de Ventas de la Importadora BECO International Ltda. y en el caso de la prueba de sensibilidad y resistencia referente al método de proporciones por el Dr. Milton Magne.

El costo de los salarios de los profesionales encargados de realizar ambas pruebas se obtuvo tras entrevistas con ambos profesionales.

El costo de servicios básicos de ambos institutos se obtuvo del Departamento de Contabilidad de ambos institutos, durante la gestión 2007, pero se actualizó los costos tomando en cuenta las tasas de inflación de las gestiones 2008 y 2009.

El mantenimiento en ambos casos se obtuvo tomando en cuenta el 13% del costo total de los costos fijos y variables.

Por lo que el costo unitario de operación de cada prueba refleja el valor de los recursos humanos y materiales involucrados en cada actividad tomando en cuenta la infraestructura de cada instituto, los equipos e insumos utilizados en cada prueba, los salarios de los recursos humanos que realizaron cada prueba, los servicios básicos de agua y luz utilizados por prueba y el mantenimiento.

A. LUGAR: INSTITUTO DE GENÉTICA – FACULTAD DE MEDICINA

1. COSTOS FIJOS: Se han tomado en cuenta como costos fijos los siguientes:

1.1. LA INFRAESTRUCTURA: Se utiliza las siguientes fórmulas:

COSTO AÑO = Costo /30 años /13 pisos

COSTO MES = Costo año/ 12 meses

COSTO DIA = Costo mes/ 30 días mes

COSTO PRUEBA = Costo día / 100 pruebas día

El costo de la infraestructura de la Facultad de Medicina de la UMSA tiene un costo actual de 2.404.875 \$us. y para obtener el costo por año del Instituto de Genética, se divide este valor entre 30 años (tiempo de vida del instituto de Genética) y este valor

entre 13, que es el número de pisos que tiene esta facultad, obteniéndose un **costo por año** de 6166.3 \$us. Para obtener el **costo mes**, se divide este valor entre los 12 meses del año obteniéndose el valor de 513.8 \$us. y para obtener el **costo día** este valor se divide entre los 30 días del mes obteniéndose el valor de 17.12 \$us. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas por kit de sensibilidad y resistencia que realiza al día este instituto, obteniéndose el **costo de la prueba de** 0.2 \$us. que al cambio oficial de la gestión equivale a 1.41 Bs.

1.2. EQUIPOS PARA LA REALIZACION DE LA PRUEBA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA:

Se utiliza las siguientes fórmulas:

COSTO DE DEPRECIACION AÑO = Costo actual / años de vida útil

COSTO MES = Costo de depreciación año / 12 meses

COSTO DIA = Costo mes/ 30 días mes

COSTO PRUEBA = Costo día / 100 pruebas día

- **INCUBADORA CON AGITADOR:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 6 años y considerando el costo actual del equipo de 645000 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 107500 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 8958.3 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 3583 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto al mes, obteniéndose un **costo prueba** de 35.8 Bs.
- **TERMOCICLADOR:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 11453400 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 2290680 Bs., este valor se lo divide entre 12

meses, obteniéndose un **costo mes** de 190890 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 76356 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto por kit, obteniéndose un **costo prueba** de 763.5 Bs.

- **TRANSILUMINADOR:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 2100000 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 420000 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 35000 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 14000 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto por kit, obteniéndose un **costo prueba** de 140 Bs.
- **CAMARA ELECTROFORETICA:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 530000 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 106000 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 883.3 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 3533 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto por kit, obteniéndose un **costo prueba** de 35.3 Bs.
- **CONGELADORA:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 6 años y considerando el costo actual del equipo de 650000 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 108333 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 9027.7 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 3 611 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto por kit, obteniéndose un **costo prueba** de 36.1 Bs.

- **FUENTE DE PODER:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 6 años y considerando el costo actual del equipo de 630000 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 105000 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 8750 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 3500 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto por kit, obteniéndose un **costo prueba** de 35 Bs.
- **HORNILLA:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 100 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 20 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 1.6 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 0.66 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto por kit, obteniéndose un **costo prueba** de 0.6 Bs.

Obteniéndose como valor total de los costos de equipos por prueba de 1045.7 Bs. y un valor total de costos fijos por prueba de 1047.1 Bs.

2. COSTOS VARIABLES: Se han considerado como costos variables los siguientes:

2.1. INSUMOS KIT PCR

Se utiliza la siguiente fórmula:

COSTO PRUEBA= Costo unitario/ 100 pruebas – día

- **GENOTYPE MTBDR:** Cuyo **costo unitario** es de 8692.46 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas por kit que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 86.92 Bs.
- **BLUE JUICE GEL LOADING BUFFER.:** Cuyo **costo unitario** es de 517.08 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto por kit, obteniendo un **costo prueba** de 5.17 Bs.
- **AGAROSE ULTRA PURE:** Cuyo **costo unitario** es de 7 225.4 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto por kit, obteniendo un **costo prueba** de 72.25 Bs.
- **TUBOS EPPENDORF 1.5 ml.:** Cuyo **costo unitario** es de 0.45 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto por kit, obteniendo un **costo prueba** de 0.0045 Bs.
- **TUBOS EPPENDORF 0.5 ml.:** Cuyo **costo unitario** es de 0.45 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto por kit, obteniendo un **costo prueba** de 0.0045 Bs.
- **TIPS PARA MICROPIPETAS AZUL:** Cuyo **costo unitario** es de 0.46 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto por kit, obteniendo un **costo prueba** de 0.0046 Bs.
- **TIPS PARA MICROPIPETAS AMARILLO:** Cuyo **costo unitario** es de 420 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto por kit, obteniendo un **costo prueba** de 4.2 Bs.

El costo total de insumos por costo prueba asciende a 168.5 Bs.

2.2. SALARIOS DEL PERSONAL QUE REALIZA PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA:

Se aplica las siguientes fórmulas:

COSTO AÑO = Costo total ganado + AFP +10%TG+14.72 aguinaldo

COSTO MES = Costo año /12 meses

COSTO DIA = Costo mes/ 30 días mes

COSTO PRUEBA = Costo día / 100 pruebas día

PROFESIONAL ENCARGADO: Cuyo **costo total ganado** es de 2600 Bs. sumando descuentos obligados y dividiendo este valor entre 12 meses se obtiene el **costo año** de 2350 mismo que se divide entre 12 meses para obtener el **costo mes** de 196 Bs., este valor se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 6.52 Bs. Asimismo este valor se divide entre 100 pruebas/kit que realiza este instituto para obtener un **costo prueba** de 0.065 Bs. Se obtiene un costo total de salarios por costo prueba de 0.065 Bs.

2.3. COSTO LUZ MENSUAL: Para este estudio de costos se obtuvo facturas de luz del año 2007 y se utilizó la siguiente fórmula:

COSTO ACTUAL= Costo 2007 + 30% de inflación 08-09

COSTO DIA = Costo actual /30 días

COSTO PRUEBA = Costo día /100 pruebas día

- **COSTO LUZ DEL MES DE NOVIEMBRE DE 2007:** El costo de uso del instituto asciende al monto de 1741.9 Bs. Aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 2264.47 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 75.4 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas/ kit para obtener un **costo prueba** de 0.75 Bs.

- **COSTO LUZ DEL MES DE DICIEMBRE DE 2007:** El costo de uso del instituto asciende al monto de 1653.9 Bs. Aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 2150.07 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 71.6 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas/kit para obtener un **costo prueba** de 0.71 Bs.

2.4. COSTO AGUA MENSUAL: Para este estudio de costos se obtuvo facturas de agua del año 2007 y se utilizó las siguientes fórmulas:

COSTO ACTUAL= Costo 2007 + 30% de inflación 08-09

COSTO DIA = Costo actual /30 días

COSTO PRUEBA = Costo día /100 pruebas día

COSTO AGUA DEL MES DE OCTUBRE DE 2007: El costo total de uso del instituto asciende al monto de 574.58 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 747 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 24.8 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas /kit para obtener un **costo prueba** de 0.25 Bs.

Obteniéndose un total de costos de servicios por prueba de 1.71 Bs. y un total de costos variables por prueba de 170.2 Bs. y un total de costos fijos y variables por prueba de 1217.3 Bs. del cual se considera un 13% de mantenimiento que equivale a 158 Bs. finalmente se obtiene un total de costos de la prueba de sensibilidad y resistencia de 1375 Bs. por prueba.

B. LUGAR: INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD (INLASA)

1. COSTOS FIJOS: Se han tomado en cuenta como costos fijos los siguientes:

1.1. LA INFRAESTRUCTURA: Se utiliza las siguientes fórmulas:

COSTO AÑO = Costo /20 años /30 departamentos.

COSTO MES = Costo año/ 12 meses

COSTO DIA = Costo mes/ 30 días mes

COSTO PRUEBA = Costo día / 100 pruebas día

El costo de la infraestructura del Instituto INLASA tiene un valor neto de 121929709 Bs. y para obtener el costo por año del Laboratorio de Tuberculosis, se divide este valor entre 20 años (tiempo de vida del instituto INLASA) y este valor entre 23, que es el número de departamentos que tiene este instituto, obteniéndose un **costo por año** de 265064.59 Bs. Para obtener el **costo mes**, se divide este valor entre los 12 meses del año obteniéndose el valor de 22088.7 Bs. y para obtener el **costo día** este valor se divide entre los 30 días del mes obteniéndose el valor de 736.2 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza al día este instituto, obteniéndose el **costo de la prueba** de 7.37 Bs. que al cambio de 7.07 equivale a 52 Bs.

1.2. EQUIPOS PARA LA REALIZACION DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA:

Se utiliza las siguientes fórmulas:

COSTO DE DEPRECIACION AÑO = Costo actual /años de vida útil

COSTO MES = Costo de depreciación año / 12 meses

COSTO DIA = Costo mes/ 30 días mes

COSTO PRUEBA = Costo día / 100 pruebas día

- **INCUBADORA DE 37oC Marca MMM Alemana:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 25 800 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 516 000 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 43 000 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 1433.3

Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto al mes, obteniéndose un **costo prueba** de 14.3 Bs.

- **AUTOCLAVE Marca ALL de 24 l. eléctrica:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 6 999 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 1 399.8 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 116.6 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 3.8 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto al mes, obteniéndose un **costo prueba** de 0.038 Bs.
- **HORNO TERMORREGULADOR:** Se toma en cuenta un aproximado de los años de vida útil que equivalen a 5 años y considerando el costo actual del equipo de 29 900 Bs. se divide este valor entre los años de vida útil obteniendo un **costo de depreciación año** de 5 980 Bs., este valor se lo divide entre 12 meses, obteniéndose un **costo mes** de 498.3 Bs., este valor se lo divide entre 30 días del mes obteniéndose un **costo día** de 16.6 Bs. y finalmente este valor se divide entre 100 pruebas de sensibilidad y resistencia que realiza este instituto al mes, obteniéndose un **costo prueba** de 0.16 Bs.
Obteniéndose como valor total de los costos fijos por prueba de 67 Bs.

2. COSTOS VARIABLES: Se han considerado como costos variables los siguientes:

2.1. INSUMOS:

2.1.1. INSUMOS PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA:

Se utiliza la siguiente fórmula:

COSTO PRUEBA= Costo unitario/ 100 pruebas – día

- **CANASTILLA METALICA:** Cuyo **costo unitario** es de 350 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 3.5 Bs.
- **EMBUDO DE VIDRIO 14.5 cm.:** Cuyo **costo unitario** es de 80 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.8 Bs.
- **MATRAZ de 2 L.:** Cuyo **costo unitario** es de 250 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 2.5 Bs.
- **PIPETA DE 10 ml.:** Cuyo **costo unitario** es de 20 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.2 Bs.
- **LICUADORA:** Cuyo **costo unitario** es de 80 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.8 Bs.
- **GRADILLA:** Cuyo **costo unitario** es de 400 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 4 Bs.
- **ASA BACTERIOLOGICA:** Cuyo **costo unitario** es de 200 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 2 Bs.

- **TUBO TAPA ROSCA 16*125 mm.** : Cuyo **costo unitario** es de 8 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.08 Bs.
- **PIPETA DE 10 ml:** Cuyo **costo unitario** es de 20 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.2 Bs.
- **PIPETA DE 1 ml:** Cuyo **costo unitario** es de 10 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.1 Bs.
- **PERLAS DE VIDRIO:** Cuyo **costo unitario** es de 250 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 2.5 Bs.
- **AGUA DESTILADA 1 L:** Cuyo **costo unitario** es de 105 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 1.05 Bs.

2.1.2. INSUMOS MEDIO DE LOWENSTEIN JENSEN:

- **GLICERINA:** Cuyo **costo unitario** es de 80 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.8 Bs.
- **L- ASPARAGINA:** Cuyo **costo unitario** es de 350 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 3.5 Bs.
- **CITRATO DE MAGNESIO:** Cuyo **costo unitario** es de 140 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 1.4 Bs.

- **PIRUVATO DE SODIO:** Cuyo **costo unitario** es de 600 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 6 Bs.
- **VERDE DE MALAQUITA:** Cuyo **costo unitario** es de 1535.8 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 15.3 Bs.
- **FOSFATO MONOPOTASICO:** Cuyo **costo unitario** es de 150 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 1.5 Bs.
- **SULFATO DE MAGNESIO:** Cuyo **costo unitario** es de 1577.9 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 15.7 Bs.
- **HUEVOS:** Cuyo **costo unitario** es de 0,70 Bs. mismo que se divide entre 100 pruebas día que realiza este instituto, obteniendo un **costo prueba** de 0.007 Bs.

El costo total de insumos por prueba asciende a 61.9 Bs.

2. SALARIOS DEL PERSONAL QUE REALIZA PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA:

Se aplica las siguientes fórmulas:

COSTO MES = Costo total ganado + AFP +10%TG+14.72 aguinaldo /12 meses

COSTO DIA = Costo mes/ 30 días mes

COSTO PRUEBA = Costo día / 100 pruebas día

PROFESIONAL ENCARGADO: Cuyo **costo total ganado** es de 5000 Bs. sumando descuentos obligados y dividiendo este valor entre 12 meses se obtiene el **costo mes** de 416.6 Bs., este valor se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 13.8 Bs. Asimismo este valor se divide entre 100 pruebas/día que realiza este instituto para obtener un **costo prueba** de 0.13 Bs.

Se obtiene un costo total de salarios por costo prueba de 0.13 Bs.

3. COSTO LUZ MENSUAL: Para este estudio de costos se obtuvo facturas de luz del año 2007 y se utilizó las siguientes fórmulas:

COSTO ACTUAL= Costo 2007 + 30% de inflación 08-09

COSTO DIA = Costo actual /30 días

COSTO PRUEBA = Costo día /100 pruebas día

- **COSTO LUZ DEL MES DE OCTUBRE DE 2007:** Del costo total de uso del instituto que asciende al monto de 32.510.90 se divide entre los 23 departamentos del instituto obteniéndose un costo por departamento de 1413.4 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 1837.42 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 61.2 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas día para obtener un **costo prueba** de 0.612 Bs.
- **COSTO LUZ DEL MES DE NOVIEMBRE DE 2007:** Del costo total de uso del instituto que asciende al monto de 28.677.20 Bs. se divide entre los 23 departamentos del instituto obteniéndose un costo por departamento de 1246.8 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 1620.8 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 54.02 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas día para obtener un **costo prueba** de 0.54 Bs.
- **COSTO LUZ DEL MES DE DICIEMBRE DE 2007:** Del costo total de uso del instituto que asciende al monto de 27.542.60 se divide entre los 23 departamentos

del instituto obteniéndose un costo por departamento de 1197.4 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 1556.62 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 51.8 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas día para obtener un **costo prueba** de 0.51 Bs.

- 4. COSTO AGUA MENSUAL:** Para este estudio de costos se obtuvo facturas de agua del año 2007 y se utilizó las siguientes fórmulas:

COSTO ACTUAL= Costo 2007 + 30% de inflación 08-09

COSTO DIA = Costo actual /30 días

COSTO PRUEBA = Costo día /100 pruebas día

- **COSTO AGUA DEL MES DE OCTUBRE DE 2007:** Del costo total de uso del instituto que asciende al monto de 6439.3 se divide entre los 23 departamentos del instituto obteniéndose un costo por departamento de 280 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 364 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 12.13 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas día para obtener un **costo prueba** de 0.12 Bs.
- **COSTO AGUA DEL MES DE NOVIEMBRE DE 2007:** Del costo total de uso del instituto que asciende al monto de 5472.60 Bs. se divide entre los 23 departamentos del instituto obteniéndose un costo por departamento de 237.9 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 309.27 Bs. mismo que se divide entre 30 días para obtener un **costo día** de 10.3 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas día para obtener un **costo prueba** de 0.103 Bs.
- **COSTO AGUA DEL MES DE DICIEMBRE DE 2007:** Del costo total de uso del instituto que asciende al monto de 5217.6 Bs. se divide entre los 23 departamentos del instituto obteniéndose un costo por departamento de 226.8 Bs., aplicando la primera fórmula se obtiene un **costo actual** de 294.8 Bs. mismo que se divide entre

30 días para obtener un **costo día** de 9.8 Bs. y finalmente se divide este monto entre 100 pruebas día para obtener un **costo prueba** de 0.98 Bs.

Obteniéndose un total de costos de servicios por prueba de 1.98 Bs. y un total de costos variables por prueba de 64.09 Bs. y un total de costos fijos y variables por prueba de 131.09 Bs. del cual se considera un 13% de mantenimiento que equivale a 17 Bs. finalmente se obtiene un total de costos de la prueba de sensibilidad y resistencia de 148 Bs.

2.2. ANALISIS DE BENEFICIOS.-

Los beneficios son los resultados deseables y esperados de la modificación del programa, expresados en valores monetarios. En este trabajo se enfocan principalmente en el efecto que tiene la mayor detección temprana en los costos del sector salud.

Los beneficios cubren tres ámbitos básicos: el propio programa, los servicios médicos curativos y las muertes prematuras evitadas en la población por tuberculosis multidrogorresistente.

Los recursos destinados a generar cada una de las muestras cuando se detectan los casos positivos y no se tratan tempranamente, representan una pérdida absoluta para el sector. El beneficio que es la detección temprana de los casos para facilitar su tratamiento oportuno y evitar los efectos complicados e inevitables de la progresión del padecimiento.

En los servicios curativos del sector salud, la detección temprana de los casos reduciría los tratamientos complejos necesarios, cuyos costos se traducirían en ahorros. También se reducirían las muertes prematuras por esta causa.

En Bolivia se detectaron un total de 426 casos de TB MDR entre la gestión 2003 y 2009, de los cuales sólo el 10% recibió el tratamiento adecuado ya que no existen recursos económicos que puedan cubrir el tratamiento para el 90% restante, puesto que

aproximadamente por paciente se requiere 10 000 \$us. para cubrir el tratamiento , los controles laboratoriales respectivos y las interconsultas por especialidades que requiere este tratamiento puesto que por ejemplo La Razón informó del incremento de enfermos que presentan Reacción Adversa a los Fármacos Antituberculosos en Bolivia, denominados RAFA. Hasta el 2005, se reportaban unos 15 casos por año, pero en los subsiguientes el número subió a un promedio de 70, como sucedió el 2009, según el Instituto del Tórax. En tanto que el Servicio de Salud de La Paz cifra en 90 los nuevos pacientes RAFA cada año.

En Bolivia, cada año mueren 700 personas como consecuencia de diagnósticos tardíos y por diferentes causas durante el tratamiento.⁴¹

Durante la gestión 2009 se registraron dieciocho fallecidos a causa de la tuberculosis solo en la ciudad de El Alto, informó la responsable de Control de la Tuberculosis del Servicio Regional de Salud (Seres), Martina Enríquez.

Una detección eficiente de tuberculosis multidrogorresistente permitiría el manejo oportuno. Ajustando la información disponible, si un paciente multidrogorresistente contagia a sólo tres contactos cercanos, esto significaría un costo de 30 000 \$us adicionales para el programa de tuberculosis, que al cambio de 7.07 del último trimestre del 2009 equivale a 212 100 Bs.

Es necesario hacer notar que el Instituto de Laboratorios en salud – INLASA, al ser un laboratorio de referencia procesa las cepas de micobacterium tuberculosis de todo el país y realiza el perfil de sensibilidad y resistencia mediante el método de proporciones de Canetti y Rist para rifampicina, isoniazida, etambutol, estreptomycin y pirazinamida, sin embargo retarda el tratamiento de la población por mostrar los resultados a las 4 a 6 semanas, lo que propicia en muchos casos tratamientos empíricos por parte de los médicos tratantes que pueden conducir posteriormente a abandono del tratamiento por no encontrar respuesta favorable o por la toxicidad de los medicamentos, sin la seguridad de ser realmente los correctos, así mismo retardan el tratamiento y conducen a la diseminación de la enfermedad

en pacientes que por alguna razón llegan del área rural y requieren un tratamiento temprano y oportuno porque deben volver a más tardar en 48 horas a su lugar de origen.

En cambio la prueba genotípica Reacción en Cadena de la Polimerasa, cuyo perfil de sensibilidad y resistencia es efectivo para la detección de multidrogorresistencia a rifampicina e isoniazida, los dos principales medicamentos utilizados en el tratamiento de tuberculosis, muestra gran beneficio por proporcionar un diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente a las 48 horas máximo, de esta manera es propicia para iniciar un tratamiento temprano y oportuno en especial en pacientes que vienen del área rural, en pacientes que abandonaron el tratamiento, en fracasos terapéuticos, en recaídas y en pacientes que han entrado en contacto con pacientes multidrogorresistentes. Todas estas cepas son enviadas al Laboratorio de Genética de la Facultad de Medicina de la UMSA para su procesamiento por el instituto de referencia INLASA.

Así mismo, esta prueba ayuda a detectar tuberculosis multidrogorresistente en cepas disgonicas que son bacilos de Koch que cultivan con lentitud y escasamente en los medios glicerizados, generalmente estas cepas son también enviadas por el laboratorio de referencia del instituto INLASA al laboratorio de genética de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés para su procesamiento.

También se puede implementar la (PCR HIBRIDACION) como apoyo para el diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar para disminuir el tiempo en la obtención de resultados y contribuir a la instauración de tratamientos oportunos para estas patologías. 32.

Todo esto en la prevención de la tuberculosis extremadamente resistente que la OMS la ha definido como resistente a la isoniazida y rifampicina entre las drogas de primera línea y al menos resistente a tres o más de las seis principales clases de fármacos de segunda línea es decir aminoglucósidos, polipéptidos, fluoroquinolonas, tiaminas, cicloserina y ácido p-aminosalicílico, o a alguna fluoroquinolona y por lo menos a una de las tres drogas de segunda línea inyectables es decir amikacina, kanamicina o capreomicina.³⁸

Cada muerte evitada se valoro aproximadamente en 155 280 Bs. Esta cifra equivale a las pérdidas de ingreso medio (dos salarios mínimos de 2009) y prestaciones legales, durante los años perdidos. Su valor se anualizó en un periodo de 10 años.

2.3.MEDICION DE LA EFECTIVIDAD.-

Se considera que un año perdido de vida saludable por tuberculosis equivale a 9 AVISAS.³⁶.

CAPITULO III: DESCRIPCION DE LOS RESULTADOS

Posterior al análisis de costos se obtiene como resultados: Para la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) un costo por prueba de 1375 Bs. y para la prueba de sensibilidad y resistencia por el método de las proporciones un costo por prueba de 148 Bs.

Tabla 1 COSTOS UNITARIOS DE OPERACIÓN POR PRUEBA

COSTOS PRUEBA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR HIBRIDACION)		COSTOS PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA (PSR)	
COSTOS FIJOS		COSTOS FIJOS	
INFRAESTRUCTURA	1.41	INFRAESTRUCTUR	52

		A	
EQUIPOS	1045.7	EQUIPOS	15
TOTAL	1047.1	TOTAL	67
COSTOS VARIABLES		COSTOS VARIABLES	
INSUMOS	168.5	INSUMOS	61.98
SALARIOS	0.065	SALARIOS	0.13
SERV. BASICOS	1.71	SERV. BASICOS	1.98
TOTAL	170.2	TOTAL	64.09
TOTAL COSTOS FIJOS Y VARIABLES	1217	TOTAL COSTOS FIJOS Y VARIABLES	131
MANTENIMIENTO	158	MANTENIMIENTO	17
TOTAL COSTO PCR	1375	TOTAL COSTO PSR	148

Fuente: Propia

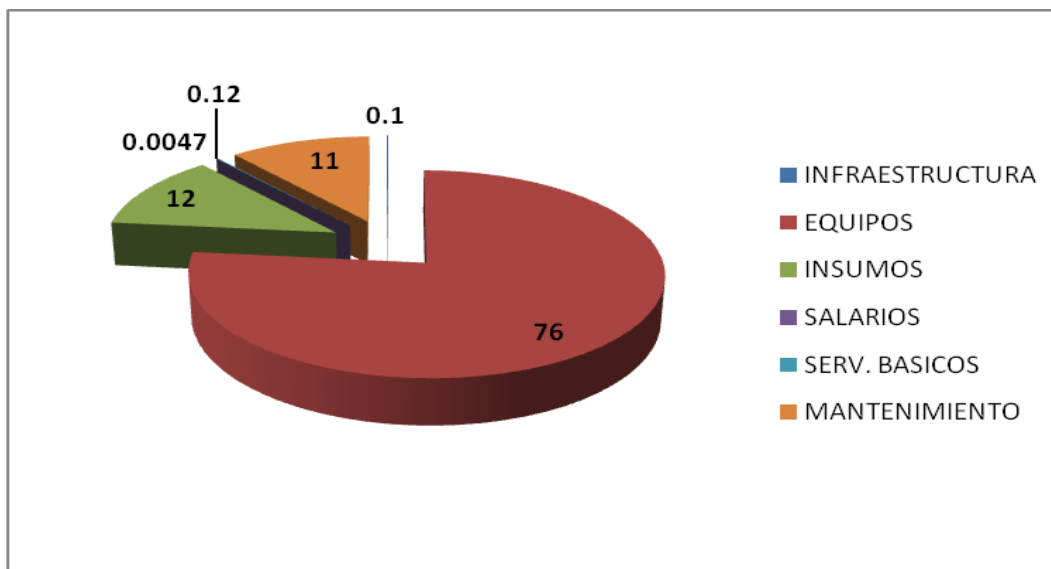


Grafico 1 PORCENTAJES DE COSTOS POR PRUEBA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA HIBRIDACION

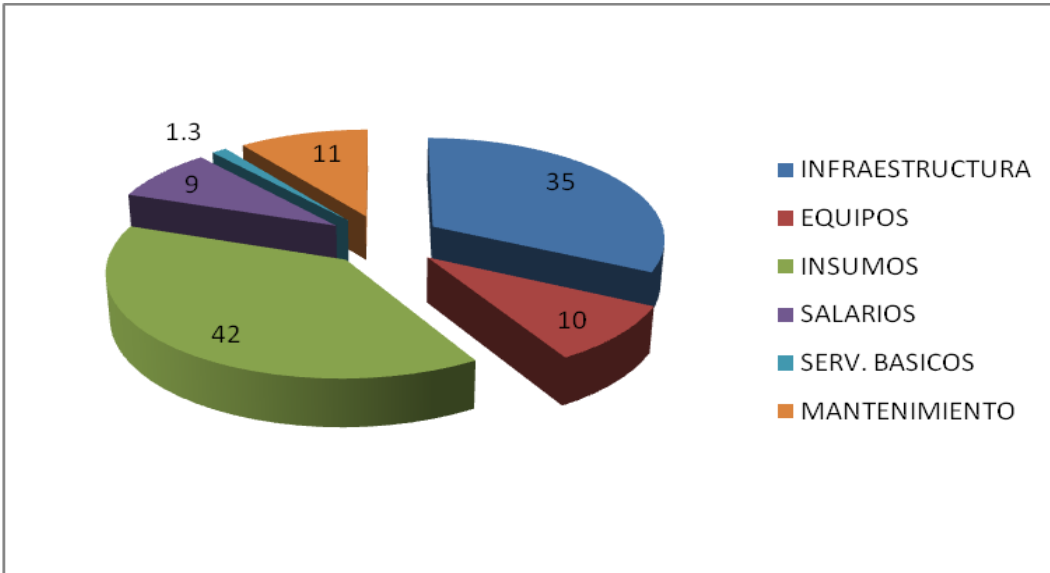


Grafico 2 PORCENTAJES DE COSTOS POR PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA METODO DE PROPORCIONES

COEFICIENTE DE COSTO EFECTIVIDAD.-

$$CCE = \text{Costo} / \text{Efectividad}$$

PRUEBA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR HIBRIDACION)

$$CCE = 1375 \text{ Bs.} / 9 \text{ AVISAS}$$

$$CCE = 153 \text{ Bs./AVISA}$$

PRUEBA DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA.-

$$CCE = 148 \text{ Bs.} / 9 \text{ AVISAS}$$

$$CCE = 16 \text{ Bs./AVISA}$$

CAPITULO IV: DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El análisis costo efectividad de la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) en relación a la prueba de sensibilidad y resistencia por el método de proporciones de Canetti y Rist busca propiciar la adopción de la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) demostrando la rentabilidad social de los recursos dedicados a este fin. Una de las principales aplicaciones del análisis costo efectividad consiste en la demostración de la efectividad relativa de una nueva tecnología o terapia comparada con una antigua. En salud la medición de la efectividad requiere la demostración que la nueva tecnología al ser aplicada en un grupo de pacientes, produce más efectos favorables que daño al compararse con la antigua. En este caso la unidad de medida de la consecuencia de dos alternativas de intervención es la misma es decir años de vida perdidos.

Los años de vida perdido AVISA se han utilizado extensamente, a partir de su descripción, como una medida de la efectividad de las intervenciones. Este indicador mide la pérdida de salud producto de la enfermedad, discapacidad y muerte, expresada en una unidad de medida común a estos tres estados: el tiempo. Esta característica permite cuantificar y adicionar el impacto de cada una de estas condiciones logrando un indicador sintético que se utiliza para la identificación de los problemas de salud prioritarios. El concepto de AVISA permite conocer cuánto se gana por una intervención al evitar la mortalidad o la discapacidad, donde el concepto de carga de la enfermedad se refiere a los AVISAS generados por la mortalidad prematura o por la discapacidad.

En Bolivia la discapacidad y letalidad producida por la tuberculosis debe tener en cuenta las dificultades específicas de detección temprana y tratamiento completo de la enfermedad en Bolivia. Como marco general, el ciclo completo de la enfermedad en un caso "normal" (detección no demasiado tardía) es de 8 meses, de los cuales 2 meses son de tratamiento intensivo y recuperación. A esto se debe agregar unas 2 a 4 semanas de convalecencia previa al retorno a la actividad laboral, por lo que supondremos en nuestros cálculos una discapacidad de 3 meses al año, es decir, una tasa de discapacidad de un 25%. La letalidad de la tuberculosis se estima en un 4% de los casos.

En nuestro medio no existen datos ni estudios realizados sobre años de vida perdidos por tuberculosis porque debido al subregistro no se tienen datos exactos de mortalidad por esta enfermedad, lo cual fue respaldado por la entrevista realizada a la Responsable Nacional del Programa de Tuberculosis Dra. Miriam Nogales. Por lo que se adecuó el índice de años de vida saludables perdidos por tuberculosis del artículo de estudios de costo efectividad de intervenciones para los principales problemas de salud pública publicado por el Ministerio de Salud de Chile el año 1999 publicado por la Dra. Marisol Concha y cols. que considero un año perdido de vida saludable por tuberculosis equivalente a 9 AVISAS.³⁶

La relación costo efectividad de la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa en relación a la Prueba de Sensibilidad y Resistencia para el diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente estimo los costos de operación máximos que se elevaría si se utilizaría esta tecnología nueva, siendo alta por la consideración de los costos de infraestructura donde los costos de la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa que ascienden a 1375 Bs. por prueba son mayores en relación a los costos generados por la prueba de sensibilidad y resistencia que ascienden a 148 Bs. por kit. lo cual se verifica en la operación de cada prueba. **Tabla 1.**

En cuanto a la infraestructura la prueba reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, realizada en el laboratorio de Genética de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés, construcción realizada hace 49 años aproximadamente tiene un menor costo de infraestructura por prueba equivalente a 1.41 Bs. lo que representa el 0.1 % del costo total por prueba en relación al costo de infraestructura por prueba de la prueba de sensibilidad y resistencia por el método de las proporciones, construcción realizada hace 35 años aproximadamente con un costo de infraestructura por prueba de 52 Bs. tomando en cuenta que esta construcción tiene 23 departamentos, lo que representa el 35% del costo total de la prueba. **Gráficos 1 y 2.**

En cuanto a los equipos la prueba reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, tiene un mayor costo en equipos por prueba equivalente a 1045.7 Bs. lo que representa el 76% del costo total de la prueba en relación a los costos por prueba de la

prueba de sensibilidad y resistencia que equivale a 15 Bs. lo que representa el 10% del costo total de la prueba. **Gráficos 1 y 2.**

En cuanto a los insumos la prueba reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, tiene un mayor costo en insumos por prueba equivalente a 168.5 Bs. lo que representa el 12% del costo total de la prueba en relación a los costos por prueba de la prueba de sensibilidad y resistencia que equivale a 61.98 Bs. lo que representa el 42% del costo total de la prueba. **Gráficos 1 y 2.**

En cuanto a los salarios la prueba reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, tiene un menor costo por prueba equivalente a 0.065 Bs. lo que representa el 0.0047% del costo total de la prueba en relación a los costos por prueba de la prueba de sensibilidad y resistencia que equivale a 0.13 Bs. lo que representa el 9% del costo total de la prueba. **Gráficos 1 y 2.**

En cuanto a los servicios básicos la prueba reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, tiene un menor costo por prueba equivalente a 1.71 Bs. lo que representa el 0.12% del costo total de la prueba en relación a los costos por prueba de la prueba de sensibilidad y resistencia que equivale a 1.98 Bs. lo que representa el 1.3% del costo total de la prueba. **Gráficos 1 y 2.**

En cuanto al mantenimiento la prueba reacción en cadena de la polimerasa PCR HIBRIDACION, tiene un mayor costo por prueba equivalente a 158 Bs. lo que representa el 11% del costo total de la prueba en relación a los costos por prueba de la prueba de sensibilidad y resistencia que equivale a 17 Bs. lo que representa el 11% del costo total de la prueba. **Gráficos 1 y 2.**

Por lo que la relación costo efectividad favorece a la prueba reacción en cadena de la polimerasa con un total de 153 bolivianos por año de vida perdido, lo que se ganaría por intervención al evitar la mortalidad por tuberculosis multidrogorresistente.

La mayoría de los laboratorios disponen desde hace varios años de las técnicas convencionales basadas en la prueba de sensibilidad y resistencia mediante cultivo en nuestro medio el método de proporciones descrito por Caneti desde 1963, método que en la actualidad continúa siendo la técnica de referencia, por ser altamente reproducible, de elevada correlación clínica y de bajo costo, sin embargo es un método muy laborioso y debido al crecimiento lento de *M. tuberculosis*, tienen el inconveniente de requerir entre 4-6 semanas de incubación para brindar sus resultados, por lo que se debe poner en conocimiento del personal médico este tipo de metodologías moleculares de diagnóstico, las cuales permiten contribuir a la toma de decisiones y a la instauración de tratamientos oportunos.

Se sugiere continuar este tipo de estudios y avanzar hacia la implementación de la prueba reacción en cadena de la polimerasa (PCR HIBRIDACION) en el diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente.

CAPITULO V: CONCLUSIONES

1. La relación costo efectividad de la Técnica genotípica Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR HIBRIDACION en relación a la Prueba fenotípica de Sensibilidad y Resistencia para Tuberculosis Pulmonar Multidrogorresistente en el Instituto de Genética de la Facultad de Medicina durante la gestión 2009 favorece a la prueba genotípica con un mayor coeficiente de efectividad de 153 bolivianos por año de vida perdido en relación a la prueba fenotípica con un coeficiente de efectividad de 16 bolivianos por año de vida perdido.
2. Los costos fijos de la Técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR HIBRIDACION ascienden a un total de 1047.2 Bs. lo que equivale al 76% e incluye costos de infraestructura y equipos. En cambio los costos variables de esta técnica ascienden a un costo de 170.2 Bs. lo que representa el 12% del costo total por prueba, e incluye costos de insumos, salarios y servicios básicos. **Grafica 3.**

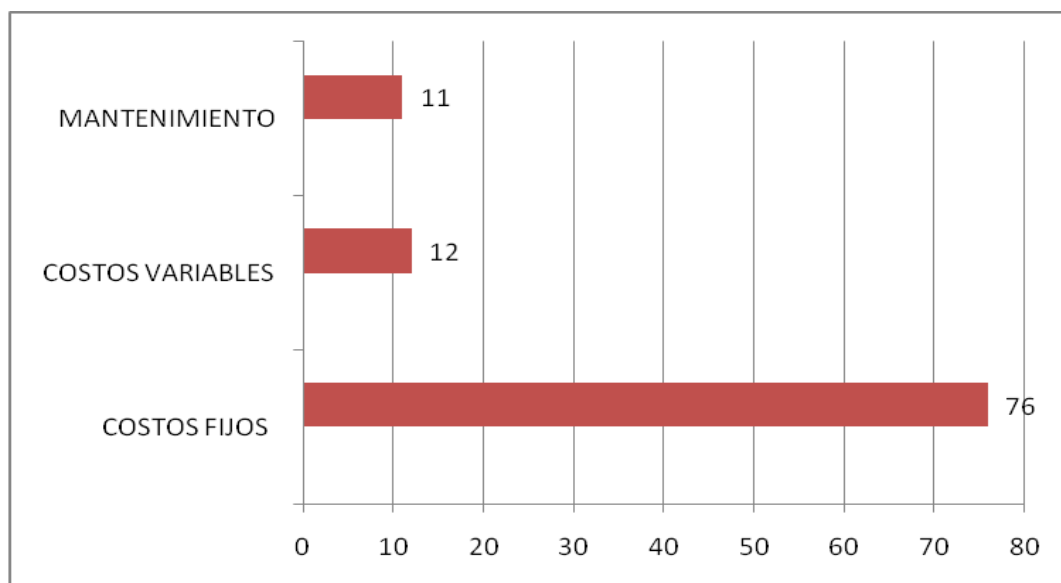


Grafico 3 Porcentaje de costos fijos y variables de la Tecnica Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR HIBRIDACION

- Los costos fijos de la Prueba de sensibilidad y resistencia por el método de proporciones ascienden a un total de 67 Bs. lo que equivale al 45% e incluye costos de infraestructura y equipos. En cambio los costos variables de esta técnica ascienden a un costo de 64.09 Bs. lo que representa el 43% del costo total por prueba, e incluye costos de insumos, salarios y servicios básicos.

Grafica 4.

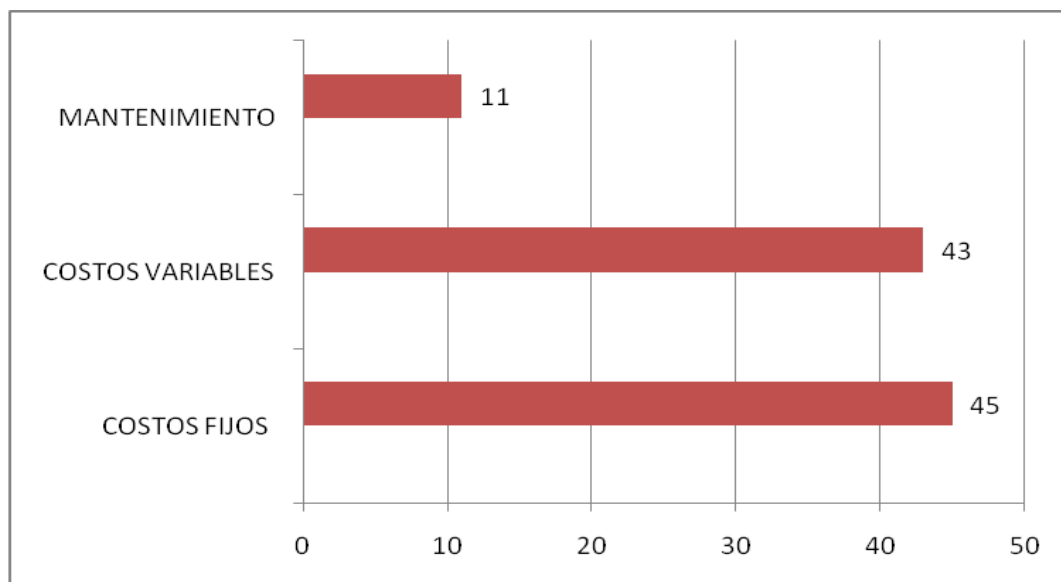


Grafico 4 Porcentaje de costos fijos y variables de la Prueba de sensibilidad y resistencia por el método de proporciones

4. De la comparación entre ambos sistemas de costos resulta que los costos fijos de la Técnica genotípica Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR HIBRIDACION son mayores en relación a la Prueba fenotípica de Sensibilidad y Resistencia, siendo los costos variables de esta última mayores en relación a la primera.

CAPITULO VI: RECOMENDACIONES.-

La implementación de laboratorios encargados de realizar la Prueba Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR HIBRIDACION en distintas regiones del país debe tener como objetivo realizar una vigilancia epidemiológica más eficiente de tuberculosis multidrogorresistente, que prevenga su extensión y ayude en su control durante el tratamiento y posteriormente, para lo cual es necesario formular políticas en salud incluidas dentro del actual modelo sanitario de atención primaria, comunitaria e intercultural que apoyen la vigilancia epidemiológica en tuberculosis a través de este tipo de métodos diagnósticos, previniendo la formación de pacientes multidrogorresistentes o con resistencia extendida y controlando su adecuado tratamiento, proporcionando de esta manera calidad de vida a estos pacientes y una recuperación rápida y efectiva, donde el paciente realice un tratamiento con calidad y control constante, previniendo reacciones adversas y mayor diseminación de esta enfermedad.

En nuestro medio es necesario que el Ministerio de Salud y Deportes acepte el apoyo de la Universidad Mayor de San Andrés en la realización de la Prueba Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR HIBRIDACION para el diagnóstico de tuberculosis multidrogorresistente, por el gran beneficio de esta técnica y por no contar actualmente con el apoyo económico del Programa de Tuberculosis ni del Ministerio de Salud para

su implementación, para lo cual se deben establecer políticas de ejecución de esta técnica.

BIBLIOGRAFIA.-

1. Sánchez, P. (2002, marzo 23).” En el país falta gente para luchar contra la tuberculosis”. La Prensa.
2. Calderón, R., et al. (2003). Detección rápida de resistencia a drogas mycobacterium tuberculosis mediante PCR-SSCP y PCR HETERODUPLEX. Revista peruana de medicina experimental y salud publica, 2(20), 65-71.
3. Masson. (1999). Medicina Interna (14a edición). España: Masson Editores.
4. Andino, F., et al. (2004). Diagnostico precoz de meningoencefalitis tuberculosa a través de la reacción en cadena de polimerasa. Revista colegio de médicos del Guayas. medicosecuador.com.
5. Organización Panamericana de la Salud. (1998). El control de la tuberculosis en las Américas. Boletín epidemiológico, 19 (2), 1-8.
6. Midori, M., et al. (2002). Eficacia e impacto de la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa en el diagnostico de tuberculosis extrapulmonar. Revista de investigación clínica, 54(6), 509-514.
7. Farreras, R. (2001). Medicina interna (14a edición). Madrid – España: Editorial Harcourt.
8. Zignol, M., et al. (2006). Global incidence of multidrug resistant tuberculosis, 194(3), 479 -485.
9. Somoskovi, A., et al. (2001). The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin and pyrazinamide in mycobacterium tuberculosis. Respir, 2, 164-168. <http://respiratory.research.com/content/2/3/184>.
10. Gillespie, R., et al. (2002). Evolution of drug resistance in mycobacterium tuberculosis. Clinical and molecular perspective. antimicrobial agents and chemotherapy, 5 (22), 267 – 274.

11. Moran, M., et al. (2000). Detección de mycobacterium tuberculosis mediante la reacción en cadena de la polimerasa en una población seleccionada del noroccidente de México. *Revista Panamericana de Salud Publica*, 7(6), 150-153.
12. Paz, O., et al., (2005). Cultivo y reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. *Revista Kasma*, 33 (2), 67-70.
13. Ministerio de Salud y Deportes. (2006). Curso repaso y actualización de tuberculosis indicador metas del milenio. La Paz – Bolivia.
14. Fernandez, P., et al., (2005). Tuberculosis causada por cepas de mycobacterium tuberculosis drogorresistentes, división de biología celular y molecular. Centro de investigación biomédica del noreste, 7(1), 13-19.
15. Prefectura del Departamento de La Paz. (2003). Servicio Departamental de Salud. Unidad de redes de servicio, Manual de servicio social de salud rural.
16. Acosta, J., (2006). Apuntes de contabilidad de costos.
17. Goodman & Gilman. (1998). Las bases farmacológicas de la terapéutica (Novena edición). México: Editorial Mc Graw Hill Interamericana.
18. Castellanos, P., et al. (2006). Costo beneficio de las investigaciones inmunológicas en el instituto superior de medicina militar, 34(3), 179 -183.
19. Moscoso, A. (2006, septiembre 7). “Tuberculosis en Bolivia”. El Diario: <http://www.eldiario.net/>
20. Del Rio, J., et al. (2002). Factores de riesgo para tuberculosis multidrogorresistente en la provincia de Ica. *Revista de la Sociedad Peruana de Neumología*, 49 (3), 68-72.
21. Comité Internacional de la Cruz Roja. (2008). Los esfuerzos internacionales de lucha contra la tuberculosis farmacorresistente deben incluir las cárceles, Ginebra.
22. Subgrupo de control de infecciones del grupo de trabajo mundial sobre tuberculosis y VIH en colaboración con el departamento de VIH/sida y el departamento alto a la tuberculosis de la OMS. (2008) Medidas esenciales para el control eficaz de la infección por tuberculosis.
23. Piñate, F. et al., (2007). Estado actual de la lucha antituberculosa en Venezuela. *Gaceta Medica de Caracas*, 115 (3), 45-56.
24. Boletín MDR-TB. (agosto, 2007). OPS/OMS.

25. Centro de noticias OPS/OMS Bolivia. (2005, marzo 24).” Bolivia ocupa el segundo lugar en prevalencia de la tuberculosis TB, es una bomba de tiempo por subregistro y resistencia”. La Prensa.
26. Leo, E. et al., (2003). Determinación de la susceptibilidad de micobacterium tuberculosis a la pirazinamida mediante la prueba de la pirazinamidasa. Revista peruana de medicina experimental de salud pública, 20 (8), 33-39.
27. Monrroy P. (2009, junio 9). Cumbre de salud del pacífico destacará colaboraciones público-privadas: “Alianzas con EE.UU. son claves para luchar contra la tuberculosis resistente a fármacos”. El Diario.
28. Tho, T. et al., (2006). Comparison of mas PCR and genotype TB MDR assay for the detection of rifampicin resistant mycobacterium tuberculosis. Rev. International Journal Tuberculosis Lung Diseases, 12 (1), 1306-1312.
29. Mendoza, A. (2009). Peru ocupa primer lugar en TB MDR y TB XDR en todo el continente americano: “tuberculosis extremadamente resistente (TB-XDR), historia y situación actual” Centro Nacional de Salud Pública del Instituto Nacional de Salud - Universidad Peruana Cayetano Heredia, 14 (5), 78-90.
30. Ríos, H. (2009, marzo 24). “Los infectados en Yungas y Larecaja tropical esperan los medicamentos: La Paz se queda sin fármacos para tratar a los tuberculosos “. El Diario.
31. Medline plus. (2009, abril 16). Tuberculosis resistente crece en ex Estados Soviéticos y China.
32. López, N. (2008, marzo 24). “La tuberculosis amenaza al desarrollo humano y nacional. hoy se celebra día mundial contra la endemia.” El Diario.
33. Morales, R. (2009, marzo 25).” Bolivia es el tercer país con mas tuberculosis” .El Diario.
34. Ministerio de Salud y Deportes. (2008). Manual de Normas Técnicas en tuberculosis (2da edición). La Paz-Bolivia
35. Puerto, G. et al., (2007). Reacción en cadena de la polimerasa: una contribución para el diagnostico de la tuberculosis extrapulmonar y de las micobacterias. Subdirección de Investigación, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D. C., 11 (2), 87-94.

36. Concha, M. et al., (1999). Estudios de costo efectividad de intervenciones para los principales problemas de salud pública. Ministerio de Salud, Chile.
37. Gimeno, J. et al., (2006). Manuales de Dirección Médica y Gestión Clínica: Economía de la Salud: Instrumentos, Díaz de Santos.
38. Malagón, L. (2008). Administración Hospitalaria (3era edición). Colombia: Editorial Pamanericana,
39. Mendoza, P. (2002). Evaluación Económica en Salud. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina de San Fernando.
40. Calderón, R. et al., Validación del PCR-basado en generador universal de heteroduplex para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a rifampicina y multidrogoresistente. Centro Nacional de Salud Pública, Perú: Código del Proyecto: 2-01-05-03-024.
41. Claros, E. et al., (2009). Tuberculosis extremadamente drogorresistente una amenaza permanente. Revista Científica Ciencia Médica, 12 (1), 80-90.
42. Saavedra, G., (2009, abril 16),” 54 municipios con alta incidencia de tuberculosis: El Ministerio de Salud alerta sobre el alto riesgo de la enfermedad en 8 de los 9 departamentos” Bolivia Action Solidarity Network.

