

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK)

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO-MOLECULAR DE UN BROTE DE TUBERCULOSIS EN EL HOSPITAL PSIQUIÁTRICO DE LA HABANA

Ramón I. Gómez Delgado,¹ Raúl Díaz Rodríguez,² Nelaine García Acosta³ y José A. Valdivia Álvarez⁴

RESUMEN

El incremento de la tuberculosis en Cuba en los últimos años ha estado parcialmente relacionado con la ocurrencia de brotes institucionales, confirmado por el análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción. En este trabajo se estudió, por métodos epidemiológicos convencionales y moleculares, el aumento de casos de tuberculosis diagnosticados en 1995-1998 entre los pacientes en el Hospital Psiquiátrico de La Habana para conocer su posible carácter epidémico. Se observó que la mayoría de los pacientes pertenecían a salas localizadas en un área bien definida de la institución. Tenían un patrón de restricción idéntico II de las 14 cepas analizadas. Los hallazgos moleculares y convencionales permitieron confirmar el carácter de brote y definir el caso índice y la posible vía de transmisión. Se reafirmó el valor de las técnicas moleculares como instrumento valioso en la epidemiología de la tuberculosis y su contribución al control epidemiológico local de esta enfermedad.

Descriptor DeCS: TUBERCULOSIS/ epidemiología; TUBERCULOSIS/diagnóstico

A partir de la década de los 80 se han incrementado notablemente las tasas de incidencia de tuberculosis, tanto en los países en desarrollo como en los países industrializados.¹ Se plantea que diversos factores han influido en este aumento, entre los cuales se mencionan: las crisis económicas, pérdida de prioridad de los programas de control, aparición de cepas resistentes a múltiples drogas y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.²

En Cuba a partir de la década del 70 las tasas de incidencia decrecieron de 30,5 / 100 000 habitantes a 4,9 en 1991, llegando en ese año a alcanzar su valor histórico más bajo. Esta tendencia varió a partir de 1992 llegando hasta 14,8 en 1994. Este incremento, probablemente haya sido causado por los problemas económicos que atraviesa el país y por el deterioro que sufrió el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis durante esos años. La

¹ Máster en Bacteriología-Micología. Especialista de I Grado en Microbiología. Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Mycobacteria (LNRITM), Instituto de medicina tropical "Pedro Kourí" (IPK).

² Licenciado en Bioquímica. Investigador agregado. LNRITM. IPK.

³ Licenciada en Microbiología. Centro para el control estatal de los medicamentos (CECMED).

⁴ Doctor en Ciencias. Investigador Titular. LNRITM. IPK.

coinfección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la aparición de cepas resistentes a múltiples drogas no han constituido factores determinantes en el incremento de la incidencia de esta enfermedad. Este resurgir motivó algunos cambios en el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis mostrándose en 1995 y 1996 los primeros resultados con la disminución de las tasas a 14,1 / 100 000 y 13,6 / 100 000, respectivamente.³ Sin embargo, la detección de brotes en instituciones cerradas, continúa siendo un serio problema en el control eventual de la tuberculosis a escala nacional.

El descubrimiento de secuencias de ácido desoxirribonucleico (ADN) repetitivas en el cromosoma de *Mycobacterium tuberculosis*, como la IS6110, han permitido desarrollar técnicas moleculares confiables en la caracterización de cepas de esta especie. Un ejemplo de estas es el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, siglas en inglés) la cual es considerada actualmente como la técnica de referencia en estudios de epidemiología molecular.

Con el RFLP-IS6110 se han detectado y estudiado varios brotes de tuberculosis en instituciones cerradas y en la comunidad.

En Cuba la aplicación de estas modernas tecnologías en la tipificación genética de micobacterias se inició en 1994 en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Mycobacteria del Instituto Pedro Kourí (LNRITM-IPK). Desde entonces el RFLP-IS6110 ha sido empleado en el estudio de brotes de tuberculosis en instituciones cerradas o en la comunidad.⁴⁻⁶

A partir de 1995 en el LNRITM-IPK se han ido recibiendo cepas de *M. tuberculosis* aisladas en el laboratorio de mi-

crobiología del Hospital Psiquiátrico de La Habana (HPH), en donde se ha incrementado el número de casos de tuberculosis en los últimos años. Por esta razón nos trazamos el objetivo de caracterizar genéticamente dichas cepas para junto al estudio epidemiológico convencional determinar si este aumento se debía a la existencia de un brote institucional y tratar de definir así el posible patrón de transmisión.

MÉTODOS

HOSPITAL PSIQUIÁTRICO DE LA HABANA (HPH)

Esta institución constituye una comunidad "cerrada" que abarca una extensión de 0,5 km² en ella conviven alrededor de 5 600 personas entre pacientes y personal hospitalario (médico, paramédico y de servicios); con una proporción aproximada de 1:1. La población de enfermos en el período analizado fue de 2 914, 1 627 del sexo masculino y 1 287 del femenino. El HPH está constituido por 41 salas donde llevan tratamiento pacientes con diferentes grados de alteraciones psíquicas, la gran mayoría con estadías de muchos años. Existen también áreas comunes como: comedores, áreas deportivas, de terapia ocupacional y otros servicios. Se debe destacar que algunos pacientes, en dependencia de su estado clínico y tratamiento de rehabilitación tienen un régimen nosocomial semicerrado que les permite mantener contactos extra hospitalarios.

RECOLECCIÓN DE DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

Se revisaron las encuestas epidemiológicas que se enviaron para la vigilancia de la resistencia a drogas, las historias clí-

nicas de los pacientes en posteriores visitas al HPH y además se realizaron investigaciones de los contactos.

En resumen, los datos más relevantes estuvieron constituidos por: nombres y apellidos, edad, sexo, fecha de diagnóstico, codificación al examen directo del esputo, tratamiento antituberculoso anterior, resultados del examen radiológico, sala de ingreso o servicio de tratamiento y datos relacionados a los contactos intra y extra hospitalarios.

CEPAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Se estudiaron en total 14 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas entre marzo de 1995 y marzo de 1998 de pacientes con síntomas respiratorios, los cuales se encontraban bajo tratamiento psiquiátrico en el HPH. Los aislamientos se realizaron en el laboratorio de microbiología del propio HPH y fueron enviadas al LNRITM-IPK donde se confirmó la especie por pruebas bioquímicas⁷ y se determinó su susceptibilidad a drogas por el método proporcional de Canetti.⁸

ANÁLISIS POR RFLP-IS6110

El método empleado para la tipificación de las cepas se realizó siguiendo un protocolo de referencia internacional descrito por *Ván Embden* y cols.⁹ En resumen, este método consistió en purificar el ADN cromosómico de las cepas a estudiar partiendo de una asada de biomasa de un cultivo joven de *Mycobacterium tuberculosis*; el ADN purificado fue digerido por la enzima de restricción *PvuII*. Estos fragmentos de restricción fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 0,8 % y seguidamente se transfirieron a

una membrana *Hybond N+* (*Amersham*). La hibridación se realizó con la sonda IS6110, obtenida previamente por reacción en cadena de la polimerasa y marcada con el sistema quimioluminescente ECL[™] (*Amersham*). Los patrones de RFLP idénticos fueron agrupados en conglomerados o clusters. Los pacientes a los cuales se les aislaron cepas con estos patrones (iguales) se consideraron relacionados epidemiológicamente.

RESULTADOS

RESULTADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Se debe señalar que los pacientes bajo tratamiento en el HPH se encuentran segregados por sexo y por el estado de agudeza o cronicidad de su salud psíquica. De manera que el contacto entre pacientes de diferentes sexos y evolución crónica o aguda de su enfermedad mental fue muy escaso, casi nulo.

Al dividir en áreas al HPH, siguiendo como premisas el sexo, evolución crónica o aguda de los pacientes y grado de restricción, encontramos que existían cuatro áreas principales I, II, III y IV.

Una representación gráfica se observa en la figura 1.

El área I está destinada a mujeres con evolución crónica, tiene un comedor propio y está constituida por 15 salas y otros servicios. En esta área se encuentra además una sala, destinada a finales de 1995, para el tratamiento y aislamiento de los casos de tuberculosis, la cual denominamos como sala L, esta se localiza en uno de los extremos de dicha área y junto al resto de las salas forman un conjunto bien delimitado dentro del HPH. En esta área no fue diagnosticado ningún caso durante este período.

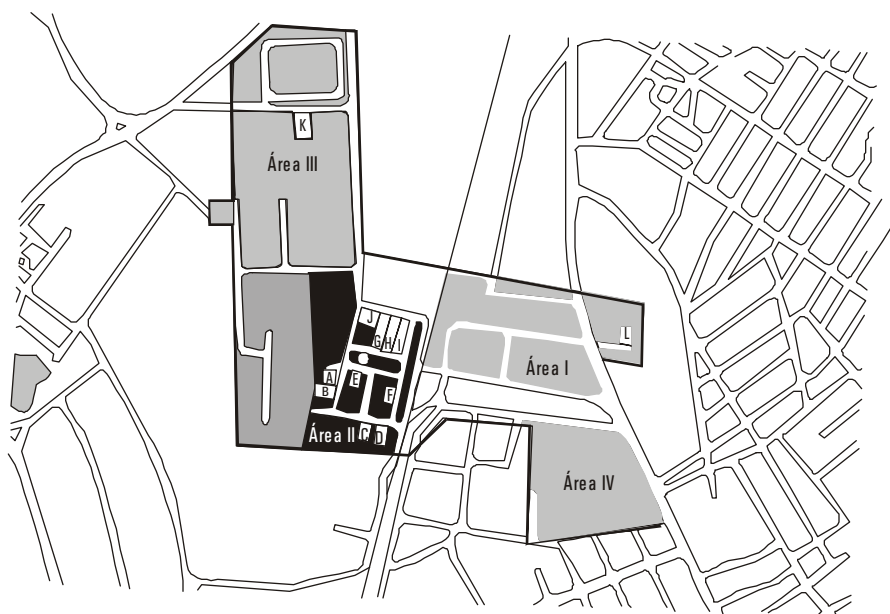


FIG.1 Plano del Hospital Psiquiátrico de La Habana.

La número II, es un área constituida por 14 salas destinadas a pacientes masculinos con evolución crónica. Tiene además otros servicios, un comedor central y múltiples áreas verdes, que sirven de esparcimiento a estos pacientes; en esta se localizaron 12 de los 14 casos de tuberculosis analizados en este estudio. Estos pertenecían a las salas A, B, C, D, E, F, G, H, I y J, 10 de las 14 salas con que cuenta esta área; de estas se destaca la G con 5 casos, en el resto se diagnosticó un caso por sala. De estos 12 pacientes, 11 fueron positivos al examen bacilosκόpico del esputo y tenían un rango de edad entre 28 y 78 años (tabla).

La tercera, área III, está destinada a casos agudos de ambos sexos, segregados también en salas diferentes. Esta área la constituyen 10 salas y un comedor, una de las salas, bastante alejada, está destinada a pacientes de evolución crónica que trabajan en una granja. En esta sala, denomina-

da para este estudio como sala K, fueron diagnosticados 2 casos de tuberculosis. También debemos señalar que estos pacientes reciben los servicios de alimentación en el comedor del área II.

Finalmente una cuarta área, la número IV, no está constituida por salas, en ella se encuentran una escuela, servicios de peluquería, dibujos y trabajos manuales solo para mujeres; un salón de música, barbería, terapia ocupacional y carpintería destinados para pacientes del sexo masculino.

Siendo de uso común las áreas deportivas solamente, pero de manera alternante entre pacientes de diferentes sexos. De manera que, también en esta área los contactos entre pacientes de diferentes sexos son casi nulos o no existen.

En el comienzo de esta década los casos de tuberculosis en el HPH eran muy esporádicos. El incremento del número de casos en los años 1995 y 1996 causó gran

TABLA. Datos epidemiológicos y microbiológicos de los 14 pacientes estudiados

Paciente	Edad	Fecha de diagnóstico	Baciloscopia	Sala	Patrón de RFLP (no. de copias de IS6110)
1	34	28/03/95	9	G	1(9)
2	28	08/09/95	6	C	2 (8)
3	65	22/09/95, 15/11/96*	7	K	1(9)
4	58	12/03/96	9	A	1(9)
5	78	02/04/96	6	G	1(9)
6	37	25/04/96	9	E	3(10)
7	50	07/05/96	9	G	1(9)
8	48	14/05/96	9	H	1(9)
9	40	27/12/96	6	G	4(10)
10	60	16/05/97	0	K	1(9)
11	30	10/06/97	8	G	1(9)
12	67	11/09/97	0	I	1(9)
13	53	28/11/97	9	B	1(9)
14	38	10/03/98	9	F	1(9)

* Recaída.

preocupación en la dirección epidemiológica y el personal médico del hospital, lo cual conllevó a la apertura de una sala (L), especializada para tratar y aislar a los pacientes tuberculosos. Además de la apertura de esta sala se realizó una investigación de los contactos con prueba de tuberculina, que incluyó tratamiento profiláctico con isoniazida.

Con los resultados de la investigación epidemiológica se pudieron determinar puntos de contacto entre 12 de los 14 pacientes con tuberculosis en el período analizado. Los otros 2 pacientes (números 2 y 14) estaban en salas de acceso limitado (C y F) y no tuvieron contactos conocidos con el resto, indicando que al parecer habían contraído la enfermedad por reactivación endógena o por una fuente desconocida. En los restantes 12 pacientes parecía evidente que formaban parte de una cadena de transmisión reciente, sobre todo los pacientes menores de 65 años. Debido a que la reactivación endógena es la causa más frecuente en individuos de más de 65 años, esta posibilidad no pudo descartarse en 3 de los casos.

ANÁLISIS POR RFLP-IS6110

El ADN extraído de cada una de las 14 cepas aisladas en este período fue analizado por RFLP-IS6110. Los resultados obtenidos en cada caso se pueden apreciar en la figura 2.

En total se obtuvieron 4 patrones de restricción diferentes. En todos los casos el número de copias de IS6110 fue mayor que 5, cantidad mínima aceptable para que la técnica sea considerada altamente discriminativa.^{10,11} Un patrón (con 9 copias de IS6110) se encontró en 11 de las 14 cepas, aisladas de los pacientes 1, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 13 y 14. Este patrón fue designado como patrón 1 (ver tabla y figura 2). El segundo patrón genético (patrón 2) poseían 10 copias de IS6110 y se observó solamente en el paciente 9. La cepa aislada del paciente 6 mostró un patrón de RFLP-IS6110 (patrón 3) con 10 bandas también, pero diferente del patrón 2. Por último, el cuarto patrón dactilar de ADN (con 8 copias del elemento IS), designado como patrón 4, se observó solamente en el aislamiento del paciente 2.

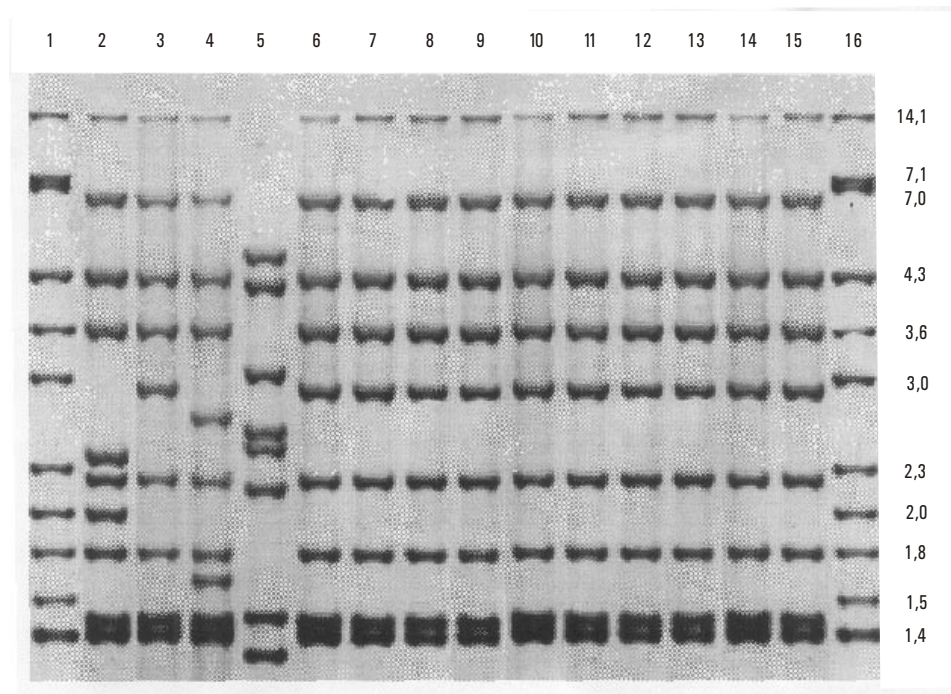


FIG.2 Análisis de los fragmentos de restricción-IS6110 de las 14 cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

El análisis de los resultados de la técnica de RFLP-IS6110 demostró que en realidad había 4 patrones genéticos bien definidos y que 11 casos del total compartían el patrón 1, confirmando así el carácter de brote nosocomial al aumento de casos de tuberculosis en esta institución.

Contrario a lo esperado, los pacientes 2, 6 y 9 ingresados en las salas C, E y G mostraron patrones de RFLP distintos, pudiéndose inferir que fueron infectados por diferentes fuentes y distintas a la que originó este brote. Lo curioso de estos casos radica en que los 3 pertenecían a salas localizadas en el área II donde se concentraron 9 de los 11 tuberculosos con aislamientos pertenecientes al patrón 1 de RFLP y por añadidura, 1 de ellos era de la sala G, la cual albergó a 5 casos también con el patrón 1 responsable de este brote; ade-

más todos ellos tenían entre 28 y 40 años, edades donde es menos frecuente la reactivación de lesiones antiguas que pudieran explicar su estado.

A estos hallazgos les encontramos sólo explicación parcial; la sala C es un servicio de máxima seguridad donde la movilidad de los casos está restringida de tal manera que el contacto entre pacientes de esta sala apenas existe y el contacto con los de otras salas es nulo, lo que descartaría la posibilidad de transmisión desde la cadena que forman los otros 11 casos con patrón 1.

Contrario a esto los 2 pacientes restantes con patrón 1 pertenecían a la sala K, también de acceso restringido y que está ubicada en el área III. La explicación a esto pudiera estar dada en que el comedor central del área II presta servicios de ali-

mentación a los pacientes de esta sala a pesar de pertenecer a un área distinta, favoreciendo posibles contactos con los pacientes del área II.

Finalmente, al último caso diagnosticado en este período (paciente 14) le fue aislada una cepa con el patrón de RFLP 1. Se debe señalar que este pertenecía a la sala F ubicada también en el área II y que tiene características de aislamiento parecidas a la sala C. Como no había evidencias iniciales de contactos con el resto de los pacientes, esto conllevó una investigación adicional donde hallamos una estadia de este paciente de alrededor de dos meses en la sala J especializada en medicina general. En este lugar concurrió con otros dos pacientes en los cuales se aislaron cepas con patrón 1, el número 10 durante más de un mes y el 13 antes de ser este diagnosticado con tuberculosis. Los pacientes 10 y 13 provenían de las salas K y B, respectivamente. Este contacto quizás pueda explicar en alguna medida el hallazgo no esperado según la investigación hecha por la epidemiología convencional y que con la aplicación de esta técnica se pudo determinar.

Con todos estos resultados y con el propósito de esquematizar la posible cadena de transmisión de la tuberculosis durante este período en el HPH, se diseñó una posible vía de transmisión entre estos casos. Para ello, se tomó en cuenta la ubicación témporo-espacial de los pacientes involucrados y se asumió que el tiempo de incubación promedio en que una persona, seronegativa al VIH, desarrolla la enfermedad a partir de la exposición al agente puede ser de 6 a 12 meses, como plantean otros autores.^{12,13}

En el esquema propuesto (fig. 3) se ha definido inicialmente al paciente 1 como el caso índice del brote. Este pudo haber contagiado a los pacientes 3, 4, 5, 7 y 8

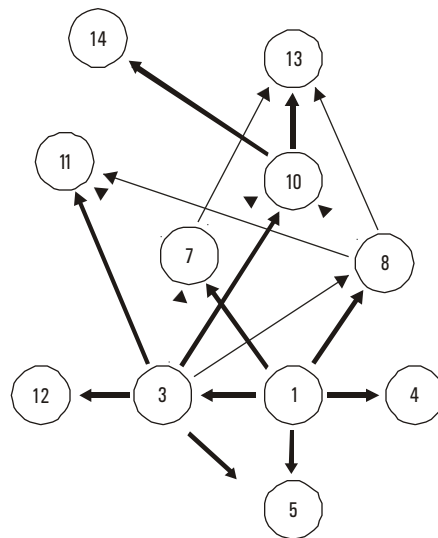


FIG. 3 Representación gráfica de posibles vías de transmisión del patrón de restricción 1.

en alguna de las áreas de acceso común mencionadas anteriormente. A su vez el paciente 3, de la sala K, durante el período de recaída (noviembre de 1996) parece haber transmitido la enfermedad a los pacientes 10 (sala K), 11 (sala G) y 12 (sala I). Aunque también pudo haber existido una conexión con los casos 5, 7 y 8; esto parece ser menos probable.

DISCUSIÓN

Por otra parte, los pacientes 7 y 8 pudieron haber infectado al 10 y quizás al paciente 11 y con menos probabilidad al caso 13. Por último, el paciente 10 a pesar de haber sido sólo identificado por cultivo (baciloscopia negativa), tuvo varios ingresos sucesivos en la sala J de medicina general. Estos ingresos fueron cercanos a la fecha de diagnóstico y posterior a ella y aunque le fue indicado tratamiento antituberculoso, este nunca se completó.

Este hecho pudo haberlo convertido en un transmisor de la enfermedad y contagiar a los pacientes 13 y 14 que concurrieron con él en la misma sala J por un tiempo aproximado de 2 meses. El paciente 14 estuvo aislado por años en la sala F y el único punto de contacto encontrado con el resto de los pacientes con idéntico patrón 1 de RFLP fue su estadía en la sala J de medicina.

Se puede concluir que existieron 3 factores que facilitaron la transmisión de la tuberculosis en el HPH. El primero fue la convivencia por largos períodos de los pacientes del área II en un espacio relativamente reducido y bien definido de la institución. El segundo factor que debe ser tomado en cuenta fue la demora, a nuestro juicio, en aplicar las medidas de aislamiento de los casos, lo cual comenzó a hacerse a finales de 1995 cuando al parecer la mayoría de ellos pudo haberse ya infectado. Otro

elemento a tomar en cuenta es la dificultad del personal médico para examinar, tomar las muestras para diagnóstico y tratar a estos pacientes con insuficiencia mental, severa en algunos casos, y que en gran medida afecta su cooperación para la realización de un diagnóstico y tratamiento oportunos.

Con este trabajo se demostró una vez más que la técnica de RFLP-IS6110 es una herramienta muy útil al servicio de la epidemiología, que puede simplificar considerablemente el diagnóstico de brotes, la elucidación de la cadena de transmisión y la confirmación del caso índice.

También se demuestra que la aplicación adecuada y oportuna de las medidas de control de la tuberculosis en este tipo de instituciones es primordial y que si no se llevan a cabo pueden provocar un incremento considerable del número de casos de tuberculosis en un tiempo breve.

SUMMARY

The increase of tuberculosis in Cuba in the last years has been partially related to the occurrence of institutional outbreaks, confirmed by the analysis of the polymorphism of restriction fragments. In the present paper, the increase of tuberculosis cases diagnosed in the period 1995-1998 among the patients of the Psychiatric hospital of Havana city was studied in order to know their possible epidemic character. It was observed that most of the patients were from wards located in a well defined area of the institution. 11 of the 14 strains analyzed had an identical restriction pattern. The molecular and convencito findings allowed to confirm the nature of the outbreak and to define the index case as well as the possible way of transmission. It was reaffirmed the value of the molecular techniques as a valuable instrument in the epidemiology of tuberculosis and their contribution to the local epidemiological control of this disease.

Subject headings: TUBERCULOSIS/epidemiology; Tuberculosis/diagnosis

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cantwell MF, Snider DE, Cauthen GM, Onorato IM. Epidemiology of tuberculosis in the United States, 1985 through 1994;272(7):535-9.
2. Bolin CA, Whipples DL, Khanna KV, Risdane JM, Peterson PK, Matitor TW. Infection of swine with *Mycobacterium bovis* as a model of human tuberculosis. *J Infect Dis* 1997;176 (6):1559-65.
3. Marrero A, Carrera L. Tuberculosis in Cuba. *Tuber Lung Dis* 1996;77(2):46.
4. Díaz R, Montoro E, González R, Echemendía M, Valdivia JA. Analysis of *Mycobacterium*. Tuberculosis strains isolated during an outbreak of HIV-infected patients by DNA fingerprinting. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53(2):155-6.

5. Díaz R, Kremer K, Haas PRW de Gómez RI, Marrero A, Valdivia JA, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Cuba, outside of Havana, July 1994-June 1995; utility of Spoligotyping vs IS6110 restriction fragment length polymorphism. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2 (9):1-8.
6. Díaz R, Gómez RI, Montoro E, Cabanas M, Marrero A, Echemendia M et al. Contribución al control de la tuberculosis en Cuba. *Bol IPK* 1998;8(42):334-5.
7. Kent PT, Kubica GP. *Mycobacteriology: a guide for the level III laboratory*. Atlanta: Dept of Health and Human Services, Public Health Service, centers for Disease Control, 1985:
8. Canetti G, Froman S, Grosset J, Hauduroy P, Langerova M, Sula L, et al. *Mycobacteria: laboratory methods for testing drug sensitivity and resistance*. *Bull WHO* 1963;29:565-79.
9. Embden JDA van, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Giequel B et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993;31 (2):406-9.
10. Soolingen D van, de Haas PEW, Hermans PWM, Groens PMA, Embden JDA van. Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1993;31(8):1987-95.
11. Warren R, Richardson M, Sampson S, Hauman JH, Beyers N, Donal PR et al. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* with additional markers enhances accuracy in epidemiological studies. *J Clin Microbiol* 1996;34(9):2219-24.
12. Kamat SR, Dawson JJY, Devadatta S, Jackson DJ. A controlled study of the influence of segregation of one year attack rate of tuberculosis in a 5-year period include family contacts in South India. *Bull World Health Organ* 1966;34:517-32.
13. Valway SE, Richards SB, Kovacovich J, Greifinger RB, Crawford JT, Dooley SW. Outbreak of multidrug-resistant tuberculosis in a New York State prison, 1991. *Am J Epidemiol* 1994;140(2):113-22.

Recibido: 22 de julio de 1999. Aprobado: 30 de marzo del 2000.

Máster. *Ramón I. Gómez Delgado*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Apartado Postal 601, Marianao 1 300, Ciudad de La Habana, Cuba.