

ARTICULO ORIGINAL

Vigilancia de la farmacorresistencia de la tuberculosis en Paraguay durante los años 2007-2008**Surveillance of tuberculosis pharmaco-resistance in Paraguay during 2007 and 2008****Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis y Programa Nacional de Control de Tuberculosis****RESUMEN**

Este estudio tuvo como objetivo conocer a nivel nacional la resistencia y multirresistencia a drogas antibacilares de primera línea en pacientes con tuberculosis pulmonar con baciloscopia positiva durante los años 2007 y 2008. La muestra incluyó casos de 16 regiones sanitarias de las 18 con que cuenta el Paraguay. La resistencia a los medicamentos de primera línea (isoniacida, rifampicina, estreptomycin y etambutol) se evaluó usando el método de las proporciones en 319 aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* de pacientes nuevos o nunca tratados, 48 aislamientos de pacientes antes tratados y 23 aislamientos (de *M. tuberculosis*) de pacientes que presentaron baciloscopia positiva durante el esquema de tratamiento a drogas antibacilares de primera línea. Los niveles de resistencia a una o más de estas drogas fueron de 6,9%, 22,9% y 17,4% respectivamente en cada uno de los grupos y los de multirresistencia (MR) 0,3% (nuevos), 14,7% (retratados) y 8,7% (control de tratamientos con baciloscopia positiva). La MR en el total de casos recién diagnosticado fue de 2,2%. Se evidenció estabilidad con respecto a estudios nacionales anteriores (2002-2003). Los pacientes con baciloscopia positiva al finalizar el segundo mes de tratamiento fueron investigados por primera vez en el país y, entre ellos, se registró 8,7% casos con tuberculosis multirresistente (TB-MR). No se encontró ningún caso con tuberculosis extremadamente resistente. Se concluye que, además de estudiar periódicamente muestras de casos nuevos, sería conveniente poner bajo vigilancia permanente la resistencia de todos los casos con historia de tratamiento previo y con baciloscopia positiva al segundo mes de tratamiento para precisar la magnitud del problema y focalizar su monitoreo.

Palabras clave: tuberculosis, Paraguay, resistencia, multirresistencia.

ABSTRACT

This study aimed to determine the resistance and multi-resistance to first-line antibacillary drugs in patients with smear-positive pulmonary tuberculosis during 2007 and 2008 at national level. The sample included cases from 16 of the 18 health regions of Paraguay. Resistance to first-line drugs (isoniazid, rifampicin, streptomycin and ethambutol) was assessed using the proportion method on 319 isolates of *Mycobacterium tuberculosis* of new or never-treated patients, 48 isolates from patients previously treated and 23 isolates (*M. tuberculosis*) from patients who had positive smear during the treatment regimen with first-line anti-bacillary drugs. The levels of resistance to one or more of these drugs were 6.9%, 22.9% and 17.4% respectively in each group and those of multi-resistance (MR) 0.3% (new), 14.7% (pictured) and 8.7% (control treatment with positive smear). The MR in the total newly diagnosed cases was 2.2%. Stability was evident with respect to previous national surveys (2002-2003). Patients with positive bacilloscopy at the end of the second month of treatment were investigated for the first time in the country and there was a 8.7% of cases with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) among them. We found no case with extremely resistant tuberculosis (XDR-TB). We conclude that, in

***Autores correspondientes:** Dra. Jiménez N, Godoy M., Cuevas O., Zelicheff Z., Bergen D. Laboratorio Central de Salud Pública. E-mail: tuberculosispy@hotmail.com. Fecha de Recepción: febrero de 2011, Fecha de aceptación: marzo de 2011.

addition to study samples cases of periodically, it, would be useful to put under constant surveillance all resistant cases with a history of prior treatment and smear-positive at the second month of treatment to ascertain the magnitude of the problem and focus its monitoring.

Keywords: tuberculosis, Paraguay, resistance, multidrug-resistance.

INTRODUCCIÓN

Según datos de la Organización Mundial de la Salud, una tercera parte de la población mundial presenta infección tuberculosa latente. Se estima que para el 2020 alrededor de 1.000 millones de personas podrían contraer la infección, 200 millones desarrollar la enfermedad y unos 35 millones morir a causa de la tuberculosis (TB). En 2005 contrajeron la enfermedad 8,8 millones de personas, y 1,6 millones fallecieron. Las defunciones representan en los países en desarrollo el 25% del total de muertes evitables en adultos. Noventa y cinco por ciento de los casos de tuberculosis y 98% de las defunciones causadas por esta enfermedad, se registran en estos países (1).

Cuando se detectan pronto y reciben un tratamiento completo, los pacientes dejan rápidamente de ser contagiosos y acaban curándose. Los principales problemas que complican el control son: la tuberculosis multirresistente (TB-MDR) y extremadamente resistente, la TB asociada a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la debilidad de los sistemas de salud (2).

La OMS ha estimado que existen en el mundo 50 millones de personas infectadas por bacilos de la TB-MDR. Esta situación, de consecuencias impredecibles, puede ser en el futuro una epidemia de tuberculosis potencialmente incurable en la mayoría de los países del mundo, por lo que se ha declarado un estado de emergencia global que debe tenerse en cuenta para abordar medidas urgentes en los diferentes aspectos de la lucha antituberculosa que enfrenta cada país (3,4).

Existe un considerable sub-registro de la tuberculosis en Paraguay, la OMS estima que la incidencia real en el país como 50-99 casos por 100 000 (5), hasta el 2010 se tiene notificado un total de 2.313 personas afectadas por el bacilo de Koch, encargado de desarrollar la tuberculosis; de esta cifra, 203 (10%) de los casos fueron dados en el grupo etario infantil, 107 enfermos por este mal se detectaron en personas privadas de libertad, 119 los afectados por co-infección y 393 los cuadros observados en poblaciones indígenas, grupo que mantiene una alta incidencia en lo que respecta a esta patología. Se presume que existe un importante número de casos que no fueron detectados aún, aproximadamente unos 700 infectados (6).

El Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PNCT) dependiente del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, cuenta con un Plan Estratégico Nacional 2007 – 2015, cuyo objetivo general es "Disminuir el riesgo de infección, la incidencia, prevalencia y la mortalidad por TB aplicando la Estrategia Alto a la Tuberculosis" y entre los objetivos específicos, el objetivo 3: "Prevenir y controlar la TB-MDR en el marco de la estrategia DOTS/TAES" (7,8)

En nuestro país el tratamiento programático de la TB-MDR se inició en Setiembre de 2007 y en el 2009 los 19 casos notificados al PNCT recibieron este tratamiento. Paraguay se encuentra entre los 45 países que han obtenido medicamentos para tratar a pacientes con TB-MR, así como el apoyo técnico para utilizarlos correctamente, a través del Comité Luz Verde con la ayuda de la OMS y del Servicio Farmacéutico Mundial de la Alianza Alto a la Tuberculosis (8,9).

Existen normas vigentes en el país (6) para la realización de estudios de pruebas de sensibilidad, debe efectuarse en:

- a) Casos de antecedentes de uno o más tratamientos: fracasos, recaídas y abandonos recuperados.
- b) Casos de TB asociada a VIH (+)/SIDA.

- c) Contactos de pacientes con MDR demostrada.
- d) Casos con baciloscopia positiva al final del segundo mes de tratamiento.

La OPS/OMS recomienda la realización periódica de estudios nacionales de TB-MDR, para monitorear la circulación de cepas resistentes de tuberculosis en los países.

Teniendo en cuenta que los últimos datos disponibles son de los años 2002–2003, se organizó este estudio nacional que tuvo como objetivos:

- a) Determinar la prevalencia y tendencia de la resistencia a drogas antituberculosas entre pacientes con tuberculosis pulmonar bacilífera, por medio de indicadores comparables a los de otros países.
- b) Evaluar la efectividad en la administración de tratamientos del Programa Nacional de Tuberculosis durante los últimos cinco años.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se incluyeron 409 casos pulmonares a diagnosticar por baciloscopia, en las 18 regiones sanitarias del país en el periodo Enero-Marzo de 2007. Además de todos los retratamientos y casos bajo quimioterapia que permanecieran con baciloscopia positiva al finalizar el segundo mes de tratamiento que se detectaran durante ese periodo. El número de casos nuevos fue estimado en base a los casos registrados por el PNCT en 2006. La baciloscopia de las muestras de esputo fue realizada en los laboratorios integrantes de la Red de TB por el método de Ziehl-Neelsen. Las muestras fueron derivadas a los laboratorios integrantes de la Red de Cultivos, para su procesamiento mediante la técnica de Petroff modificada e inoculación, en medio Lowenstein-Jensen. La identificación de los aislamientos como *M. tuberculosis* fue realizada a través de la prueba de niacina en todos los aislamientos. En aquellos casos en los que esta prueba resultó negativa se completó la identificación realizando pruebas de velocidad y temperatura de crecimiento, fotocromogenicidad, reducción de nitrato y ensayo de termoestabilidad de la catalasa.

Las pruebas de sensibilidad a drogas: isoniazida (H), rifampicina (R), estreptomycin (S) y etambutol (E) fue realizada en el Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP) por el método de las proporciones de Canetti, Rist y Grosset, en medio Lowenstein-Jensen.

La competencia del Departamento de Tuberculosis del LCSP fue evaluada anualmente por la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) Dr. Carlos G. Malbrán con un panel de cepas cuyos resultados fueron validados por la Red Supranacional de OMS. Además, el Laboratorio Supranacional validó los resultados de las pruebas de sensibilidad mediante el control de 30 aislamientos incluidos en el estudio que presentaron resistencia a alguna de las cuatro drogas de primera línea, entre los cuales 10 fueron multirresistentes, y 23 sensibles seleccionados al azar (13,6% de los aislamientos incluidos). Los resultados discordantes fueron corregidos según los resultados del Laboratorio Supranacional.

Gestión y análisis de datos: se empleó un formulario estándar del PNCT conteniendo información sobre datos de los casos. La información fue completada por el encargado de programa Regional o local. Los datos fueron ingresados en una planilla de Microsoft Excel.

Para explorar la representatividad de la muestra investigada en el estudio, se comparó su composición según género, edad e historia de tratamiento previo con la del conjunto de los casos notificados al PNCT durante el periodo en evaluación.

RESULTADOS

Casos incluidos y representatividad de la muestra

En la tabla 1 se presentan los casos incluidos en relación con los que debían ser incluidos según el protocolo del estudio. Se estudiaron 319 aislamientos de igual número de pacientes nuevos, 48 de pacientes antes tratados y 23 de pacientes con baciloscopia positiva durante el esquema de tratamiento, procedentes de 16 regiones sanitarias. Se

destaca que la de Presidente Hayes está particularmente subrepresentada entre las que concentran mayor número de casos. Las regiones sanitarias ingresaron los casos en un período que se extendió entre los 5 y 20 meses durante 2007 y 2008. Las que concentran mayor número de casos fueron las que más demoraron.

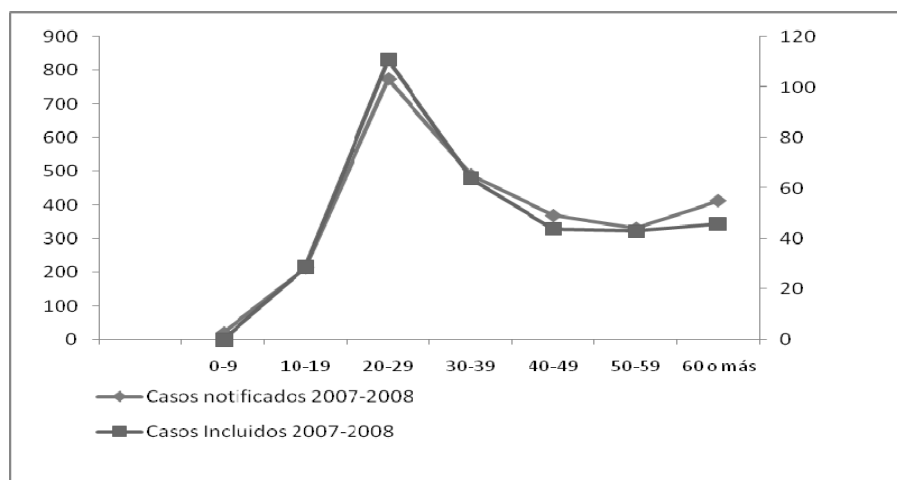
Tabla 1. Composición de la muestra de pacientes incluidos en el estudio de farmacodependencia de la TB según procedencia geográfica. Paraguay 2007-2008

Región Sanitaria	Casos nuevos TBP BP a incluir	Casos nuevos TBP BP incluidos	% de casos incluidos	Re-Tratamientos incluidos	Control de Tto.
1. Concepción	14	14	100	0	1
2. San Pedro	22	13	59	2	2
3. Cordillera	20	20	100	6	0
4. Guairá	13	11	85	0	2
5. Caaguazú	24	16	67	4	1
6. Caazapá	11	3	27	0	0
7. Itapúa	27	21	78	0	0
8. Misiones	6	3	50	0	0
9. Paraguari	17	10	59	2	0
11. Alto Paraná	42	42	100	11	4
11 Central	83	83	100	6	6
12 Ñeembucú	3	0	0	0	0
13 Amambay	11	11	100	2	2
14 Canindeyú	16	10	63	0	0
15 Pdte. Hayes	31	4	13	3	1
16 Alto Paraguay	5	0	0	0	0
17 Boquerón	23	17	74	2	0
18 Capital	41	41	100	10	4
TOTAL	409	319		48	23

TBP BP: tuberculosis pulmonar con baciloscopia positiva.

Control de Tto: pacientes con baciloscopia positiva al finalizar el 2do mes de tratamiento

El total de casos recién diagnosticados ingresados representó el 12,4 % (367/2950) de los casos con TB-PBP notificados en 2007 y 2008. La muestra parece ser representativa de los casos notificados durante el período de inclusión. En efecto, al comparar los casos incluidos con los notificados en el período, se evidenció similar la distribución según edad (figura 1), idéntica la proporción de pacientes con género masculino y femenino (70% y 30%, respectivamente) y no se encontró diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de casos con historia de tratamiento previo (13,1% vs 11%; $p > 0,2$). No se obtuvieron datos referentes a la edad en el 9% (34/367) de los casos recién diagnosticados.



PNCT: Programa Nacional de Control de Tuberculosis 2008;
LCSP: Laboratorio Central de Salud Pública

Figura 1. Distribución de casos de tuberculosis baciloscopia positiva notificados vs incluidos en el estudio según grupo etareo. Paraguay, 2007-2008

Nivel de resistencia a las drogas

En la tabla 2 se presentan los resultados de resistencia a cada medicamento expresados en porcentaje, según el grupo de pacientes investigado.

Entre los 319 pacientes clasificados como casos nuevos; 297 (93,1%) resultaron sensibles a las cuatro drogas antibacilares de primera línea y 22 aislamientos (6,9%) presentaron algún tipo de resistencia. Cuando se analiza el comportamiento de las cepas resistentes frente a cada droga, se ve que 17 aislamientos (5,3 %) presentaron monoresistencia y, entre ellas, la mayor parte fue resistente a S (4,4 %), seguida de la H con 0,6 %; sólo 1 aislamiento (0,3 %) fue monoresistente a R. Con respecto a la multidrogorresistencia, se encontró un aislamiento (0,3%) resistente a H y R.

Con respecto a la resistencia en pacientes antes tratados, 37 de los 48 (77,1%) aislamientos estudiados fueron sensibles a las cuatro drogas antibacilares y 11 aislamientos (22,9%) resistentes. En este grupo la multiresistencia fue la combinación más frecuente que se presentó en 7 casos (14,7%), 3 de ellos presentaron resistencia a las 4 drogas de primera línea.

La multiresistencia global entre todos los casos recién diagnosticados fue 2,2% (8/367).

Fueron analizadas 23 muestras de pacientes que presentaron baciloscopia positiva durante el tratamiento, de las cuales 19 cepas (82,6%) presentaron sensibilidad total y 4 cepas (17,4%) presentaron alguna resistencia. Dos cepas (8,7%) resultaron resistentes a HR, 1 cepa (4,3%) resultó resistente a S y 1 cepa (4,3%) fue resistente a H.

Del total de 10 casos con TB MR ingresados en el estudio, se encontraron 2 casos en la región Central, Boquerón y en Capital y un caso cada una de las siguientes Regiones Sanitarias: Concepción, Paraguari, Amambay y Presidente Hayes. El laboratorio supranacional no detectó ningún caso con multiresistencia extendida entre estos 10 casos.

Tabla 2. Resistencia a drogas antituberculosas. Paraguay, 2007-2008

	Casos Nuevos		Retratados		Control de tratamiento	
	N	%	N	%	N	%
Total analizados	319	100%	48	100	23	100
Sensibilidad total	297	93,1%	37	77,1	19	82,6
Cualquier tipo de Resistencia.	22	6,9%	11	22,9	4	17,4
Mono Resistencia						
H	2	0,6%	0	0,0%	1	4,3%
R	1	0,3%	0	0,0%	0	0,0%
E	0	0,0%	1	2,1%	0	0,0%
S	14	4,4%	2	4,2%	1	4,3%
Resistencia H + R						
HR	1	0,3%	3	6,3%	2	8,7%
HSR	0	0,0%	1	2,1%	0	0,0%
HSER	0	0,0%	3	6,3%	0	0,0%
Otras Resistencias a H						
HS	3	0,9%	1	2,1%	0	0,0%
Otras Resistencias a R						
RS	1	0,3%	0	0,0%	0	0,0%
Total Resistencia a H	6	1,9%	8	16,7%	3	13,0%
Total Resistencia a R	3	0,9%	7	14,6%	2	8,7%

Tendencia de la multirresistencia

En la tabla 3 se comparan los resultados de los dos últimos estudios nacionales. No se demostró diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de multirresistencia hallados entre pacientes vírgenes de tratamiento, retratados ni en el conjunto de casos en los dos estudios ($p > 0,1$ en todos los casos).

Tabla 3. Comparación del nivel de multirresistencia según los resultados de los dos últimos estudios nacionales. Paraguay 2003-2008

Estudio	Casos nuevos		Casos retratados		Total	
	Estudiados	MR	Estudiados	MR	Estudiados	MR
	n	%	n	%	n	%
2003-2004	235	2,1	51	4,0	286	2,4
2007-2008	319	0,3	48	14,7	367	2,2

DISCUSIÓN

Como antecedente de estudios de resistencia realizados en Paraguay, se cuenta con el trabajo realizado por los doctores Calderoli y Romero con una duración de 7 meses en los años 1996 y 1997 (10). En él se incluyó una muestra de 100 casos de TBP BP provenientes de 3 centros hospitalarios a los que acudían pacientes de todas las Regiones Sanitarias del país; (Hospital Prof. Dr.J. Max Boettner (n=60), Hospital de Clínicas-Cátedra de Neumología (n=25), Hospital Menonita Km 81(n=15). Entre 85 casos sin tratamiento previo la resistencia a cualquiera de las drogas de primera línea fue 15,3% y la multirresistencia 1,2 %. Entre 15 pacientes con antecedentes de tratamiento previo, la resistencia total fue del 40% y la multirresistencia del 6,7%. En el año 2003 se inició el primer estudio de resistencia a nivel nacional en el cual se analizaron 286 casos, 235 correspondieron a pacientes nuevos y 51 a pacientes antes tratados. Se observó multirresistencia primaria del 2,1 % y multirresistencia secundaria del 4 %. A partir del año 2005 se comienza a ofrecer la realización de pruebas de sensibilidad a todos los pacientes con riesgo de TB-MDR.

La principal limitación del presente estudio radica en la falta de cumplimiento del protocolo inicialmente diseñado. En efecto, no se incluyeron todos los casos bacilíferos detectados en un trimestre, o sea 25% de un año, sino el 12% de los detectados en un bienio, lo que muestra claramente que no se han ingresado consecutivamente todos los casos nuevos ni retratados detectados. Las principales causas que pudieron ser identificadas para este déficit fueron: a) el país debió concentrar esfuerzos para afrontar un brote de dengue que restó dedicación del personal de laboratorio al estudio; b) durante el periodo de vacaciones de personal no se mantuvo la inclusión de casos en varias localidades; c) no se aseguró la logística para el transporte de muestras desde centros alejados de los laboratorios que realizan cultivo; d) no fue buena la calidad de cultivo en algunos laboratorios y muchas muestras baciloscopia positiva resultaron con cultivo negativo; e) durante el periodo del estudio se trasladó el LCSP a un área de contención biológica, proceso durante el que se perdieron cerca de 40 aislamientos que debían ingresar al estudio. Ninguna de estas causas parece haber generado sesgo en la muestra de casos a juzgar por la similitud de sus características (género, edad y antecedentes de tratamiento) en relación con los casos notificados en el periodo.

Comparando los resultados de los dos últimos estudios nacionales, se registró en nuestro país estabilidad de la multirresistencia global e inicial en niveles bajos. Se observó, en cambio, aumento de la multirresistencia entre casos retratados aunque este incremento no alcanzó a ser estadísticamente significativo por el bajo número de casos investigados en los dos estudios. Sería conveniente poner bajo vigilancia permanente a la resistencia entre el total de pacientes retratados en el país, para monitorear este parámetro y determinar con precisión si no se están generando casos de multirresistencia por mala administración de tratamientos en algunas áreas del país. De hecho en los años transcurridos entre ambos estudios, es posible que esto haya sucedido ya que, si bien la Estrategia DOTS/TAES fue implementada en el país en el año 2000, no fue sino hasta finales del año 2004, con el apoyo del Fondo Mundial, que se inició la rápida expansión a

todas las Regiones Sanitarias. Recién se alcanzó una cobertura del 94% de la población a finales del 2007, con la inclusión de 881/939 servicios de salud en la estrategia. Esta rápida expansión, contribuyó al aumento del número y porcentaje de los pacientes tratados bajo DOTS (de 29% en el 2003 a 84% a finales del 2007). Sin embargo se han identificado debilidades, que influyeron negativamente en el logro de las metas nacionales. Es así que en el año 2009, el PNCT planteó al Mecanismo de Coordinación País de Paraguay, presentar al Fondo Mundial, una propuesta de TB para implementar un DOTS/TAES con calidad (11). Esta propuesta fue aceptada y se iniciará en los primeros meses del año 2010 (12).

Paraguay es uno de los primeros países que en Latinoamérica analiza resultados de resistencia a drogas antituberculosas entre pacientes que permanecen con baciloscopia positiva al finalizar el segundo mes de tratamiento. No se pudo explorar si existió sesgo en la inclusión de estos casos dado que el PNCT no tiene registro de los mismos y por lo tanto no se pudieron comparar características de los casos incluidos y con las de los registrados a nivel nacional. Asumiendo que no existió sesgo, esta primera medición evidenciaría que estos pacientes tienen alto riesgo de estar afectados por cepas multirresistentes por lo que también convendría ponerlos bajo vigilancia permanente.

Tanto el retratamiento como la permanencia con baciloscopia positiva al segundo mes de quimioterapia son causas para que, según normas del PNCT, se realice prueba de sensibilidad a drogas antituberculosas. Considerando esto, la vigilancia permanente de la resistencia en ambos grupos de pacientes es factible de realizar simplemente cumpliendo las normas y organizando un sistema de registro adecuado de los resultados de las pruebas de sensibilidad en estos casos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Tuberculosis. Fact sheet n° 104; revised March 2007. Obtenido 05/04/07 en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>.
2. Iseman MD. Tuberculosis. En: Arend WP, Armitage JO, Clemmons DR, Drazen JM, Griggs RC, Larusso N, editores. Goldman-Ausiello: Cecil Medicine, 23ª edición. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p.2298-2307.
3. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Partes I y II. Washington (D.C): OPS/OMS 2.008.
4. Organization, W.H., The WHO/IUATLD Global Tuberculosis Control: Epidemiology, Strategy, Financing: WHO Report 2009. World Health Organization Document, 2009. WHO/HTM/TB/2009.411.
5. OMS control de la tuberculosis global: vigilancia, planificación y financiación. Informe de la OMS de 2005. WHO/HTM/TB/2005.349 Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2005.
6. Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Plan Estratégico de Tuberculosis 2007 – 2015. Asunción: Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social; 2006.
7. Organización Panamericana de la Salud. Perfil de los Sistemas de Salud Paraguay: Monitoreo y Análisis de los Procesos de Cambio y Reforma. 3ª Edición Washington (D.C): OPS 2.008.
8. Organización Panamericana de la Salud. Situación de Salud en las Américas. Indicadores Básicos 2009. Disponible en URL: http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&task=view&id=220&Itemid=317
9. Organization, W.H., TB Country Profile: Paraguay, Surveillance and epidemiology. World Health Organization Document, 2009. Accedido en URL: http://apps.who.int/globalatlas/predefinedReports/TB/PDF_Files/pry.pdf.
10. Carderoli Vargas F, Romero F. Encuesta Nacional sobre Resistencia a los Medicamentos Antituberculosos en Paraguay. Años 1996-97. *Medicus* 2000. 26(44):5-7.

11. Organization, W.H., The WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. WHO Report 2008. World Health Organization Document, 2008. WHO/HTM/TB/2008.394. Anti-Tuberculosis Drug Resistance in the World. Fourth Global Report. pp 141.
12. Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Manual de Normas Técnicas del Programa Nacional de Control de la Tuberculosis, 10^a edición. Asunción: Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social; 2009