

Caracterización bacteriológica de pacientes con Tuberculosis pulmonar de la región centro norte de Villa Clara, 2007-2021

Kenia Rodríguez Villavicencio¹

Sandra López Berrio²

Yeleny Cruz Valle³

1 Hospital Mártires del 9 abril/Laboratorio de Microbiología, Sagua la Grande, Cuba, keniarodriguez@infomed.sld.cu

2 Hospital Mártires del 9 abril/Laboratorio de Microbiología, Sagua la Grande, Cuba, sandrabac@infomed.sld.cu

3 Hospital Mártires del 9 abril/Laboratorio de Microbiología, Sagua la Grande, Cuba, yelenycruz@infomed.sld.cu

Resumen: Introducción: aunque a partir de 1993-1994 la Tuberculosis clínicamente diagnosticada y confirmada se incluye en la notificación de declaración obligatoria en el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis en Cuba, el método bacteriológico continúa siendo el más importante en el diagnóstico de los casos de Tuberculosis. **Objetivos:** caracterizar bacteriológicamente los pacientes con Tuberculosis pulmonar de la región centro norte de Villa Clara desde 2007 hasta 2021. **Método:** se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo. El universo constituido por todas las muestras clínicas útiles para el diagnóstico de Tuberculosis pulmonar recibidas en el Laboratorio de Micro-biología del hospital Mártires del 9 de abril, la muestra quedó conformada por todos los casos positivos bacteriológicamente de Tuberculosis pulmonar en esa región y tiempo. Se revisaron los registros estadísticos y tarjetas de Enfermedad de Declaración Obligatoria archivados en el propio laboratorio y sectoriales de Salud Pública respectivamente, y se definieron variables cuantitativas, determinándose la distribución porcentual. **Resultados:** en el 2012 se notificó el mayor número de casos con Tuberculosis pulmonar por el método bacteriológico. Predominó la muestra esputo (94,2%). La presencia de bacilos ácido alcohol resistentes en la baciloscopia se registró en el 59,6% de los casos, en su mayoría con codificaciones altas (80,6%), mientras el tiempo de crecimiento de Mycobacterium tuberculosis fue entre 21 y 28 días para el 28,9% de los casos, y el diagnostico se realizó en el área de salud en el 59,6%. **Conclusiones:** el estudio de casos se manifestó con características bacteriológicas similares a otras regiones del país.

Palabras clave: Tuberculosis pulmonar, método bacteriológico, baciloscopia, codificación, lugar de diagnostico

Abstract: Introduction: although from 1993-1994 clinically diagnosed and confirmed Tuberculosis is included in the notification of mandatory declaration in the National Tuberculosis Control Program in Cuba, the bacteriological method continues to be the most important. Important in the diagnosis of tuberculosis cases. **Objectives:** to bacteriologically characterize patients with pulmonary tuberculosis in the north central region of Villa Clara from 2007 to 2021. **Method:** a descriptive, retrospective study was carried out. The universe constituted by all the clinical samples useful for the diagnosis of pulmonary tuberculosis received in the Microbiology Laboratory of the hospital "Mártires del 9 de abril", the sample was made up of all the bacteriologically positive cases of pulmonary tuberculosis in that region and time. Statistical records and Compulsory Declaration Disease cards filed in the laboratory itself and Public Health sector records, respectively, were re-viewed, and quantitative variables were defined, determining the percentage distribution. **Results:** in 2012, the largest number of cases with pulmonary tuberculosis was reported by the bacteriological method. The sputum sample predominated (94.2%). The presence of acid-alcohol resistant bacilli in the smear was recorded in 59.6% of the cases, mostly

with high codes (80.6%), while the growth time of *Mycobacterium tuberculosis* was between 21 and 28 hours. days for 28.9% of the cases, and the diagnosis was made in the health area in 59.6%. **Conclusions:** the case study showed bacteriological characteristics similar to other regions of the country.

Keywords: Pulmonary tuberculosis, bacteriological method, smear microscopy, coding, place of diagnosis.

I. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa de evolución crónica, causada por el *Mycobacterium tuberculosis*, y fue una de las epidemias señaladas para ponerles fin, tanto en los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM), por alcanzar en el año 2015, como en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) 2030. (1) Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la región de América Latina y el Caribe presenta serios problemas para enfrentar la TB debido a que, por una parte, ha habido un relajamiento en los programas de control, así como por el hecho de que la enfermedad ha progresado a formas más agresivas como la TB multifármacoresistente o multidrogoresistente (TB-MFR/TB-MDR) y la TB extremadamente resistente (TB-XDR), además del aumento de la comorbilidad entre TB y Diabetes Mellitus (DM), y de la coinfección TB y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). (2)

La OMS estima que, en el año 2020, 9,9 millones de personas enfermaron de TB, con un total de 1,5 millones de personas fallecidas por esta causa (entre ellas 214000 personas con VIH). En todo el mundo, la TB es la decimotercera causa de muerte y la enfermedad infecciosa más mortífera por detrás de la COVID-19 (por encima del VIH/SIDA). Aunque a nivel mundial, la incidencia de la TB está disminuyendo en aproximadamente el 2% anual, y se espera que el ritmo de reducción sea de 10 % en el 2025. (3,4)

En las Américas en 2020 se estimaron 291000 casos de TB y las muertes fueron 27000, de las cuales 29% (7900) correspondieron a la coinfección por TB/VIH. Esta región fue la primera en el mundo en cumplir con los objetivos de Desarrollo del Milenio para el año 2015 relacionado con la detención o disminución en un 50% de la mortalidad y la prevalencia de la Tuberculosis, en comparación con 1990. Cuba, dentro de los países de baja incidencia de Tuberculosis al presentar una tasa inferior a 10 por 100 mil habitantes, trabaja por lograr el cumplimiento de los objetivos de la estrategia “Fin de la Tuberculosis” de la OMS, así como eliminar esta enfermedad como problema de salud. Para ello cuenta con el Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis (PNPC-TB) iniciado en 1962 (5), lo que le ha permitido al país ubicarse entre los primeros de la región de las Américas, manteniendo una tendencia descendente asociada a las estrategias de tratamiento ambulatorio estrictamente supervisado (TES/DOT), desde 1971, y de tratamiento acortado estrictamente supervisado (TAES/DOTS), desde 1982 hasta el presente. (2)

El diagnóstico de laboratorio constituye un importante componente dentro de la estrategia “Fin de la Tuberculosis”. La mayoría de los casos de TB pulmonar (TBp) en el mundo se diagnostican a través del método bacteriológico (baciloscopia y/o cultivo), (3, 6, 7, 8, 9) por lo que resulta indispensable el examen bacteriológico para el diagnóstico de la mayor parte de los casos nuevos, el control de los resultados del tratamiento, así como determinar la farmacoresistencia.

Este trabajo se propone a partir de los resultados de trabajo de un Laboratorio regional de Microbiología, caracterizar bacteriológicamente los pacientes con Tuberculosis pulmonar de la región centro norte de Villa Clara desde 2007 hasta 2021.

II. MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo. El universo estuvo constituido por las muestras clínicas (esputo y contenido gástrico) procedentes de pacientes sintomáticos respiratorios de más de 14 días

(SR+14) que nos permitió hacer el diagnóstico bacteriológico de una tuberculosis pulmonar, llegadas al Laboratorio de Microbiología del hospital clínico quirúrgico “Mártires del 9 de abril” de la ciudad de Sagua la Grande desde el 1 de enero de 2007 hasta el 31 de diciembre de 2021. Mientras la muestra estuvo constituida por todos los casos de Tuberculosis pulmonar diagnosticados por este método en el mismo periodo de tiempo, devenidos del trabajo del Laboratorio de Microbiología del propio hospital. Se excluyeron los casos que resultaron positivos de Tuberculosis pulmonar procedentes del extranjero y de otros municipios fuera de la región de estudio en este tiempo.

Las muestras clínicas se enviaron desde las áreas de salud de los municipios Cifuentes, Sagua la Grande, Quemado de Güines y Corralillo y del propio hospital, recibándose el primer esputo cuando se trató de pacientes del área de salud y todos los procedentes (esputos y/o contenido gástrico) de pacientes ingresados o vistos en consulta intrahospitalaria del hospital antes mencionado.

El examen bacteriológico de las muestras consistió en dos procedimientos: examen directo o baciloscopia y cultivo.

Se analizaron las siguientes variables:

- Examen directo o baciloscopia, cultivo y número de casos de tuberculosis pulmonar por años de estudio

- Tipo de muestra recibida para el diagnóstico: esputo o contenido gástrico

- Resultado bacteriológico según la positividad obtenida en la baciloscopia: BAAR + (positiva), o BAAR – (negativa)

- Codificación obtenida al examen directo y cultivo agrupada en: baja (codificaciones entre 1 y 5), mediana (entre 6 y 7), o alta (entre 8 y 9).

- Tiempo de crecimiento de la colonia de *Mycobacterium tuberculosis*: agrupado entre 21 y 28, 29 y 35, 36 y 42, 43 y 49, 50 y 56 días, y sin crecimiento bacteriano.

- Lugar de diagnóstico: área de salud u hospital (teniendo en cuenta la procedencia de la primera muestra clínica del paciente llegada al laboratorio).

La fuente para esta investigación fueron los registros estadísticos del propio laboratorio y las tarjetas de Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO) que constan en los departamentos de estadísticas de los sectoriales municipales en cuestión y provincial de Salud Pública de Villa Clara.

Se resumieron los datos en tablas con valores absolutos y porcentuales.

III. RESULTADOS

A. Resultados

En el periodo analizado, la mayor positividad en la baciloscopia correspondió al 2016, con 15,8% del total, mientras para el cultivo fue el año 2017, con 20,3% de todos los positivos. El mayor número de casos positivos fue 8 (15,4%) notificados en el año 2012. No hubo casos nuevos de TBp diagnosticados por el método bacteriológico en el 2018.

Tabla 1. Baciloscopia, cultivo y número de casos de Tuberculosis pulmonar diagnosticados por el método bacteriológico notificados por año de estudio. Hospital Mártires del 9 de abril, Sagua la Grande. 2007-2021

Año	Baciloscopia	Posi- tivas	%	Cultivos	Positivos	%	Casos de TBp	%
2007	2012	10	9,9	1846	3	1,6	1	1,9
2008	1627	3	3	1728	12	6,4	1	1,9
2009	1599	5	5	1637	10	5,3	1	1,9
2010	2272	5	5	2080	6	3,2	3	5,8
2011	2361	7	6,9	2256	9	4,8	6	11,5
2012	2655	8	7,9	2468	18	9,7	8	15,4
2013	2522	6	5,9	2639	12	6,4	3	5,8
2014	3417	4	3,9	2720	6	3,2	2	3,8
2015	3528	13	12,9	3652	25	13,4	5	9,6
2016	2891	16	15,8	2319	19	10,2	5	9,6
2017	3905	15	14,9	3648	38	20,3	7	13,5
2018	4673	0	0	4201	8	4,3	0	0
2019	4638	0	0	4271	8	4,3	3	5,8
2020	2803	3	3	3047	10	5,3	4	7,7
2021	1557	6	5,9	1927	3	1,6	3	5,8
Total	42460	101	100	40439	187	100	52	100

Fuente: Registros estadísticos y Tarjetas EDO de los casos de TBp objetos de estudio.

Como es de esperar, la mayoría de los casos de TBp de nuestro estudio fueron diagnosticados por esputo (94,2%).

El 59,6% de la serie de casos estudiados al examen directo o baciloscopia de la muestra clínica útil para el diagnóstico resultó positivo en la observación microscópica de Bacilos Acido Alcohol Resistente (BAAR), con una codificación alta en la mayoría de los casos (80,6%). No se diagnosticaron codificaciones bajas.

Las cepas de *M. tuberculosis* demoraron entre 3 y 4 semanas en crecer en el 28,9% de los casos, mientras en dos de ellos no hubo crecimiento bacteriano, lo que se debió probablemente a un error técnico en la confección del medio de cultivo por la presencia excesiva del bioindicador Verde malaquita que inhibió el crecimiento bacteriano en estos casos según el análisis de la situación que realizó el laboratorio.

El 59,6 % de casos fue diagnosticado en el área de salud.

Tabla 2 Casos de Tuberculosis pulmonar diagnosticados por el método bacteriológico según variables de estudio.

Variables	Casos de TBp (n=52)	%
Tipo de muestra		
-Espuito	49	94,2
-Contenido gástrico	3	5,8
Resultado Bacteriológico		
-BAAR +	31	59,6
-BAAR –	21	40,4
Codificación de la Baciloscopia (n=31)		
-Mediana	6	19,4
-Alta	25	80,6
Tiempo de crecimiento de <i>M. tuberculosis</i>		
-21-28	15	28,9
-29-35	11	21,2
-36-42	10	19,2
-43-49	5	9,6
-50-56	9	17,3
-sin crecimiento bacteriano	2	3,8
Lugar de diagnóstico		
-área de salud	31	59,6
-hospital	21	40,4

Fuente: Registros estadísticos y Tarjetas EDO de los casos de TBp objetos de estudio.

B. Discusión

Según registros estadísticos demográficos actualizados, (10) el número de población de la región centro norte de Villa Clara objeto del estudio (municipios: Corralillo, Quemado de Güines, Sagua la Grande y Cifuentes) asciende a 124 275 habitantes, siendo importante señalar que en todos los años del estudio el número de casos de TBp no rebasó la cifra de 10, que resultó en tasas de incidencia similares al comportamiento provincial y nacional. (3,5) La Organización Panamericana de la salud (OPS) considera que los países con tasa menor de 25 por 100 000 habitantes tienen una situación favorable. Cuba trabaja para disminuir la tasa por debajo de 5 por 100000 habitantes, así la TB dejaría de ser un problema de salud pública y cuando logre reducir hasta 1 por 100 000, el territorio en cuestión estaría libre. (5)

El esputo es la muestra considerada más útil, frecuente, y de elección en la búsqueda de estos casos. Su mayor productividad y fácil obtención aventajan al contenido gástrico y la broncoscopia respectivamente, las cuales solo se indican en aquellos casos ingresados en que no es posible recoger la expectoración. (11)

La TBp BAAR + es la forma más común de TB hallada en Cuba y en el mundo (3,8,12,13,14,15) y es el resultado más notorio dentro del examen o método bacteriológico, dado que permite identificar los pacientes eliminadores de bacilos en su expectoración, los cuales constituyen la fuente más importante y habitual de contagio, de ahí la importancia en el manejo óptimo de los casos con TB que se basa en la detección y diagnóstico temprano de los enfermos y tratamiento correcto, evitando la transmisión de la enfermedad. (11)

Mientras, el crecimiento lento de este microorganismo no hace posible la observación de colonias en los medios de cultivos hasta pasadas varias semanas, lo que demora el diagnóstico en los casos con baciloscopia negativa y cultivo positivo, retrasando el inicio del tratamiento y propiciando la transmisión de la enfermedad. (15)

La OMS/OPS recomienda el uso de pruebas rápidas de diagnóstico molecular como prueba diagnóstica inicial en todas las personas con signos y síntomas de TB, ya que tienen una alta precisión diagnóstica y conducirán a mejoras importantes en la detección precoz de la TB y la TB farmacoresistencia. Las publicaciones de manuales, guías y materiales de capacitación recomiendan la implementación de estos métodos en las redes nacionales de laboratorio. (4)

La demora en el diagnóstico e imposición de la quimioterapia antituberculosa influyen en la magnitud y alcance de la transmisión de *M. tuberculosis* y en el pronóstico de la salud individual del paciente. La detección rápida de TB y TB-multidrogoresistente a través de los equipos xpert facilita un comienzo inmediato de un régimen de tratamiento más efectivo, que a su vez mejora las tasas de curación y disminuye la posibilidad de transmisión de TB resistente. (15)

En nuestro país, según autores, (15) mientras no dispongamos de una cobertura útil de las técnicas más efectivas para el diagnóstico más oportuno de la TB, deberíamos continuar aplicando las alternativas que se brindan por las comisiones de diagnóstico y de buenos algoritmos clínicos.

Sin embargo, como en la mayoría de las enfermedades infectocontagiosas bacterianas, el cultivo es la prueba de oro para el diagnóstico definitivo de enfermedad de TB, es una técnica de mayor sensibilidad que la baciloscopia, al detectar un número reducido de bacilos en la muestra aumenta considerablemente la eficiencia tanto en el diagnóstico de casos nuevos como de los fracasos al finalizar el tratamiento, y amplía la confirmación del diagnóstico de la enfermedad aproximadamente 15-20% del total de casos y del 20-30% de los casos con TBp. (16)

El porcentaje del diagnóstico realizado en el área de salud, aunque mayor que la otra opción, no alcanza el indicador establecido (80%) en el Programa Nacional de Control de la TB en Cuba (11), lo cual puede deberse según autores a varios factores: mala calidad de los servicios médicos en la atención primaria que implica no hacer el diagnóstico correctamente, con la progresión de la enfermedad y el aumento del periodo de transmisibilidad que hace al paciente recurrir a la atención secundaria, deficiencias en el trabajo técnico de los laboratorios, demora de los resultados en la etapa de control de calidad externo del laboratorio, persistencia del desconocimiento e ignorancia sobre la importancia de un diagnóstico temprano y tratamiento oportuno, que hacen que la TB sea curable, lo cual trae aparejado muchas veces estigma y discriminación, así como el no reconocimiento de la TB como una enfermedad emergente por parte del personal imbricado en el proceso diagnóstico en la atención primaria de salud. (3, 8, 15)

Algunos autores alegan que la presencia de altas codificaciones en la baciloscopia de los pacientes se debe a la detección y diagnóstico tardío de la enfermedad en la mayoría de los casos en el nivel primario de salud, por lo que avanza la enfermedad, las lesiones pulmonares y aumenta la población bacilar, que los convierte de manera automática en un peligro para ellos mismos y sus convivientes: para ellos porque la alta carga bacilífera puede conducir a una baja adherencia al tratamiento con bajas tasas de curación, a la aparición y el aumento de la resistencia a las drogas antituberculosas, y hasta la muerte temprana inclusive, mientras para los demás implica mayor riesgo de contagio y aumenta la posibilidad de transmisión de TB resistente. (3,15)

IV. CONCLUSIONES

Se diagnosticó el mayor número de casos de TBp en 2012. La muestra más común para hacer el diagnóstico bacteriológico de TBp fue el esputo. Más de la mitad de los casos de TBp fue BAAR +, con codificación alta en su mayoría. Casi la tercera parte de los cultivos de *M. tuberculosis* crecieron entre 21 y 28 días. Poco más de la mitad de los casos de TBp fue diagnosticado en su área de salud.

REFERENCIAS

- 1-Organización mundial de la salud (OMS); Organización Panamericana de la Salud (OPS). Plan Regional de Control de la Tuberculosis (2006-2015). Programas Nacionales de Control de la Tuberculosis. Washington DC: Ministerios de Salud Pública; 2006 (Citado 2022 ene 6) Disponible en: <https://www.paho.org/en/documents/regional-plan-tuberculosis-control-2006-2015-2006>
- 2- Muñoz del Carpio-Toia A, Sánchez H, Vergès de López C, Sotomayor MA, López Dávila L, Sorokin P. Tuberculosis en América Latina y el Caribe: reflexiones desde la bioética. pebi [Internet]. 8 de enero de 2019 [citado 5 de abril de 2022]; 22(2):331-57. Disponible en: <https://personaybioetica.unisabana.edu.co/index.php/personaybioetica/article/view/9086>
- 3-Martínez PJL, Rodríguez AC, Sarduy PMA. Tuberculosis pulmonar. Hospital Neumológico Docente Benéfico Jurídico. Años 2007 al 2009. Neumol Cir Torax. 2011; 70(3):157-164. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=31096>
- 4-OMS.Tuberculosis. Programa mundial contra la Tuberculosis. La estrategia “Fin a la Tuberculosis”. Ginebra: OMS; 2015 (Citado 2022 ene 6) Disponible en: <http://www.who.int/tb/strategy/end-tb/es/>
- 5-González Díaz A, Pérez Soler K, Sánchez Valdés L, Matthys F, González Ochoa E, Van der Stuyft P. Estratos de incidencia de Tuberculosis en los municipios de Cuba: 1999-2002 y 2003-2006. Rev Panam Salud Pública. 2010; 28 (4): 275-81. Disponible en: <https://www.scielo.org/article/rpsp/2010.v28n4/275-281/#ModalArticles>
- 6-Martínez Rodríguez A, González Díaz A, Armas L, Martínez Morales MA, González Ochoa E. Supervivencia de pacientes cubanos con Tuberculosis pulmonar (2009-2010). MEDICC Rev. 2016 Jan-Apr; 18 (1-2) (visitado 2022 ene 6) Disponible en: <http://www.medicc.org/mediccreview/index.php>
- 7-Marin Méndez, M, Rodríguez J, Arístides R y Minier Pouyou, L. Factores determinantes relacionados con la incidencia de la tuberculosis en un municipio de Santiago de Cuba. MEDISAN [online]. 2019, vol.23, n.5 [citado 2022-04-14], pp.847-859. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192019000500847&lng=es&nrm=iso>. Epub 07-Nov-2019. ISSN 1029-3019.
- 8-Leon Valdivies Y. Tuberculosis Pulmonar: estudio clínico-epidemiológico. Revista Cubana de Medicina General Integral [Internet]. 2017 [citado 6 enero 2022]; 33 (3) Disponible en: <http://www.revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/294>
- 9- Piquero Valera, María Eugenia et al. Comportamiento de la Tuberculosis Distrito de Salud 15D01 Ecuador durante el periodo 2005-2014. Rev Cubana Med Gen Integr [online]. 2016, vol.32, n.2 [citado 2022-04-5], pp.224-232. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252016000200009&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0864-2125.

10-Anuario estadístico nacional 2021. Indicadores demográficos por provincias y municipios 2020. (Citado 2022 abril 6). Disponible en: <http://www.onei.gob.cu/publicaciones-tipo/Anuario>

11-Marrero Figueroa A, Carreras Corzo L, Valdivia Álvarez JA, Montoro Cardoso E, González Ochoa E, Torres Peña R, et al. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de normas y procedimientos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1999. 107p.

12- Beldarraín-Chaple E, Morales-Hernández N. Comportamiento de la tuberculosis en la década de 1990 en Cuba. Revista Cubana de Salud Pública [Internet]. 2015 [citado 7 Abr 2022]; 41 (3) Disponible en: <http://www.revsaludpublica.sld.cu/index.php/spu/article/view/436>

13-Reyes Castillo AP, Blanco Zambrano GL, Alba Martínez D, Ramírez Reyes VM. Estudio descriptivo retrospectivo longitudinal sobre el comportamiento de factores clínico-epidemiológicos de pacientes con Tuberculosis en Manzanillo. E.F. deportes.com, Año 19 N. ° 198 Buenos Aires, Nov de 2014. [Citado 7 Abr 2022] Disponible en: <https://www.efdeportes.com/efd198/factores-clinico-epidemiologicos-con-tuberculosis.htm>

14- World Health Organization. (2012). Global tuberculosis report 2012. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/75938>

15-González Ochoa E, Díaz Rodríguez R, Suárez Álvarez L, et al. Eliminación de la Tuberculosis en Cuba: contribuciones recientes, resultados y desafíos. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2017; 69 (3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000300010

16- Martínez Romero, MR, Sardiña Aragón M, García G, Díaz Almaguer M, Montoro Cardoso E. Comportamiento de indicadores de calidad del cultivo en los laboratorios de diagnóstico de tuberculosis en la provincia de Las Tunas, Cuba. AVFT [Internet]. 2009 Jul [citado 2022 Abr 2] ; 28(2): 51-53. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642009000200003&lng=es.