

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.**

**CENTRIFUGACIÓN Y APLICACIÓN DE HIPOCLORITO DE
SODIO EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR.**

Estudio transversal realizado en 72 pacientes adultos ingresados en el Hospital Nacional "San Vicente" con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar, durante los meses de Junio y Julio del año 2,003.

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva
de la Facultad de Ciencias Médicas
de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

POR

CRISTIAN ALEXANDER VASQUEZ POLANCO

En el acto de su investidura de:

MEDICO Y CIRUJANO

Guatemala, Septiembre 2,003.

INDICE

	No. Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. DEFINICIÓN Y ANÁLISIS DEL PROBLEMA	3
III. JUSTIFICACIÓN	5
IV. OBJETIVOS	6
V. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	
A. DATOS EPIDEMIOLOGICOS	7
B. AGENTE CAUSAL	8
C. TRANSMISIÓN	9
D. PATOGENIA E INMUNIDAD	10
E. CUADRO CLÍNICO	11
F. DIAGNOSTICO	12
a) Técnicas de Imagen	
b) Técnicas Radiométricas	13
c) Técnicas Químicas	
d) Técnicas Inmunológicas	14
e) Técnicas de Amplificación de Ácido Nucleico	
f) Técnicas Bacteriológicas	15
g) Tinción de Ziehl Neelsen	16
G. ACTUALIDAD DEL DIAGNOSTICO EN PAÍSES ENDÉMICOS	19
H. CONCENTRACIÓN Y APLICACIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO AL ESPUTO	20
I. TRATAMIENTO	21
J. PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD	23
VI. HIPÓTESIS	24
VII. MATERIAL Y MÉTODOS	25

VIII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	32
IX. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	38
X. CONCLUSIONES	46
XI. RECOMENDACIONES	47
XII. RESUMEN	48
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	49
XIV. ANEXOS	55

I. INTRODUCCION

El diagnóstico actual de la tuberculosis se basa esencialmente en las mismas técnicas bacteriológicas que enunció Robert Koch hace más de 100 años. Desde ese entonces la evaluación de una muestra teñida de esputo ha sido la herramienta esencial y algunas veces la única disponible para el diagnóstico de tuberculosis en los países endémicos.

El hallazgo de bacilos ácido alcohol resistentes en extensiones teñidas y examinadas al microscopio es la primera evidencia de la presencia de micobacterias en una muestra clínica. Es el procedimiento más fácil y rápido que se puede efectuar y aporta al médico una orientación preliminar al diagnóstico.

En un programa de control de la tuberculosis, el examen directo de esputo ocupa un lugar destacado, como la técnica de elección en la investigación rutinaria del sintomático respiratorio que consulta a los servicios de salud, población en la cual se encuentra la gran mayoría de los casos bacilíferos, quienes constituyen la fuente de infección por excelencia de la enfermedad tuberculosa. Sin embargo el examen directo de esputo posee muy baja sensibilidad detectando pocos casos positivos.

Existe una gran necesidad de mejorar los métodos para el diagnóstico de tuberculosis, con técnicas que sean apropiadas para los programas de control de los países en desarrollo. Con el objeto de mejorar la sensibilidad de la técnica de Ziehl Neelsen, se han efectuado varios esfuerzos, utilizando centrifugación previo a realizar la tinción y dejando sedimentar la muestra durante 24 horas para luego aplicarle hipoclorito de sodio (cloro de casa) los resultados han sido variables, observándose en algunos estudios un gran aumento de la sensibilidad y en otros un escaso aumento (10,20,21,39,49).

En el presente estudio se realizó una comparación entre el examen directo de esputo y la aplicación de cloro de casa más centrifugación al esputo previo a la realización de la tinción. Para esto se utilizó los esputos provenientes de 72 pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar ingresados en el Hospital “San Vicente” durante los meses de Junio y Julio del año 2,003.

Con la utilización de centrifugación más cloro de casa, se obtuvo un aumento de la sensibilidad del 20 %, aumentando además el número de bacilos detectados en cada muestra, concluyendo que la técnica en estudio aumenta de forma significativa la proporción de casos positivos de tuberculosis pulmonar. Se recomienda la utilización de este método como un medio para aumentar la cantidad de casos positivos detectados, mejorando así el control de esta enfermedad.

II. DEFINICIÓN Y ANÁLISIS DEL PROBLEMA

La mayoría de las bacterias se agrupan en dos grandes grupos según la tinción de Gram, sin embargo algunas bacterias de los grupos Micobacterias y Actinomicetos no se pueden clasificar por aquella tinción (14). Robert Koch descubrió una técnica de tinción capaz de permitirnos visualizar al M. tuberculosis, la cual se denominó ácido-alcohol resistente (15,26). Dicha técnica se continua utilizando desde hace más de 100 años.

Tradicionalmente, el diagnóstico de Tuberculosis se realiza sobre la base de los hallazgos físicos y los resultados radiológicos, se confirma por tinciones de esputo o de tejido que demuestren la presencia del bacilo tuberculoso. Dichos métodos son el estándar de oro en el diagnóstico.

A pesar de que en los países desarrollados existe un gran avance en el diagnóstico, utilizando pruebas de DNA, prueba de reacción en cadena de la polimerasa, pruebas de inmunidad celular y medios líquidos para el cultivo, actualmente ninguno de estos métodos demuestra ser el ideal, ni responde a las necesidades diagnósticas actuales. Las pruebas que ofrecen una mayor sensibilidad conllevan una gran complejidad técnica y un excesivo costo. Algunas de las pruebas más simples y baratas, funcionan pobremente en pacientes con HIV uno de los grupos para los cuales es urgente mejorar las herramientas diagnósticas (6,7,8).

Por otra parte, en los países en desarrollo el diagnóstico de las tuberculosis se limita al cultivo y a la observación microscópica de muestras de esputo a través de la tinción de Ziehl Neelsen. Las ventajas de la microscopía son bien conocidas, entre ellas se encuentra su bajo costo y su alta especificidad (100%), dicha prueba detecta a la mayoría de pacientes con un alto grado de infectividad. Sin embargo, la baja sensibilidad (54%) que ofrece la tinción de Ziehl Neelsen limita seriamente su aplicación y su impacto en los programas de control de la tuberculosis.

La carencia de sensibilidad de la microscopía provoca deficiencia en la detección de casos, ya que actualmente solo 20% de los 8 millones de casos que se esperan anualmente son identificados con microscopía del esputo (41,52,58,72,75).

Dada la importancia de la microscopía debido a su amplio uso principalmente en países en vías de desarrollo, se han hecho varios esfuerzos con la finalidad de mejorar la sensibilidad de dicha prueba. En 1995 Gebre et al., en un estudio realizado en Etiopía demuestra que la aplicación de hipoclorito de sodio y concentración con centrifugación de la muestra previo a realizar la tinción, aumentaba la sensibilidad desde un 56% hasta un 100% **(21)**. Por su parte Miorner et al., en 1996 cuestiona la validez de dicho estudio, refiriendo que en el mismo se utilizó agua del grifo, y tubos de ensayo usados. Miorner omitió el uso de centrifugadoras ya que opinó que era un recurso demasiado costoso para los países en vías de desarrollo, en su lugar utilizó sedimentación (dejar reposar la muestra), demostrando un aumento de la sensibilidad de tan solo 1.1% **(64)**.

A estos estudios le siguieron los de Wilkinson et al., **(68)**, Perera et al., **(49)** y Bruchfeld et al., **(10)**, en los cuales se utiliza únicamente centrifugación, dichos estudios se realizaron en países desarrollados utilizando micobacterias cultivadas en laboratorio, debido a la carencia de pacientes, mostrando un incremento en la sensibilidad del 10 al 15%.

Ninguno de los estudios que se realizó muestra un aumento de la sensibilidad tan importante como el de Gebre et al.

En Guatemala la lucha contra la tuberculosis se realiza de una forma pasiva, esto es, buscando posibles enfermos dentro de los consultantes a las diferentes instituciones de salud del estado. Actualmente la Comisión Nacional de Tuberculosis, considera que no es rentable mantener una actividad constante de búsqueda activa de pacientes, pues esto distrae los recursos de los servicios y la ganancia neta de enfermos encontrados, pocas veces justifica el esfuerzo. Sin embargo solo el 16% de las personas mayores de 10 años consultan a los centros del estado, dicho porcentaje puede aumentar a medida que se mejore el presupuesto destinado a salud, lo que mejorara la atención y calidad de los servicios de salud **(31)**.

Dado el porcentaje de consultantes tan bajo, se hace necesario colaborar en la mejora de nuestros medios diagnósticos. El presente estudio utilizó la Centrifugación y la aplicación de Hipoclorito de sodio al esputo, como un medio para aumentar la sensibilidad de la técnica de Ziehl Neelsen, mejorando así el control de la tuberculosis en nuestro país.

III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente *M. tuberculosis* es responsable de más morbilidad en humanos, que ningún otro trastorno bacteriano. La Tuberculosis es responsable además de cerca de 3 millones de muertes cada año, a causa de retrasos en el tratamiento, o a una terapéutica inapropiada o no disponible; de hecho la Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que 26% de las muertes que pueden prevenirse en los países en desarrollo son causadas por la Tuberculosis (8,72).

La OMS calculó en 1990 que 33% de la población mundial, es decir 1,700 millones de personas, sufría infección latente con *M. tuberculosis*. De este grupo surgen de 8 a 10 millones de casos nuevos cada año. Se estima además que entre el año 2000 y 2020, cerca de un billón de personas serán primó infectadas, 200 millones de personas estarán enfermas y 35 millones morirán debido a la tuberculosis.

Debido al crecimiento y seriedad de esta enfermedad en 1993 la Organización Mundial de la Salud decidió declarar a esta enfermedad una emergencia mundial (6,9,15,38,71,72).

En Guatemala en el año 2001 se reportaron 1192 casos de tuberculosis y 189 defunciones por dicha enfermedad.

Debido a los datos anteriores, durante el último decenio se ha tomado conciencia que para lograr la erradicación de la tuberculosis, es más importante mejorar nuestros métodos diagnósticos, que intentar seguir perfeccionando el conocimiento de la enfermedad (6,7,8).

Por más de un siglo, el análisis microscópico de una muestra de esputo, ha sido la más importante, y algunas veces la única herramienta disponible en los Centros de Salud de los países endémicos para el diagnóstico de la tuberculosis (72). Aunque la microscopía hecha directamente del esputo posee una baja sensibilidad, es la base para el diagnóstico en los países en desarrollo, es por esto que existe una urgente necesidad de mejorar dicho método (72,73,74). En este trabajo se utilizó la centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio al esputo, previo a la realización de la tinción de Ziehl Neelsen con el objetivo de aumentar la sensibilidad de dicha prueba.

IV. OBJETIVOS

1. Determinar si la concentración con centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio al esputo realmente mejora el diagnóstico de Tuberculosis pulmonar.
2. Comparar el resultado de ambas pruebas, evaluando sensibilidad, especificidad, valores predictivos y cantidad de casos positivos (Método tradicional Vs. Método hipoclorito de sodio más concentración del esputo).

V. REVISION BIBLIOGRAFICA

TUBERCULOSIS PULMONAR

DEFINICIÓN:

La tuberculosis es una infección producida por *Mycobacterium tuberculosis*. Se caracteriza por un periodo de latencia prolongado entre la infección inicial y las manifestaciones clínicas en la que predomina la neumopatía y una respuesta granulomatosa con inflamación y lesión de los tejidos (8,29,38).

EPIDEMIOLOGIA:

Mycobacterium tuberculosis (*M. tuberculosis*) fue la causa de la “Plaga Blanca” del siglo 17 y 18 en Europa. Durante este periodo cerca del 100% de la población europea fue infectada con *M. tuberculosis*, causando un 25% de las muertes en adultos (15,26).

Hoy en día, *M. tuberculosis* es responsable de más morbilidad en humanos, que ningún otro trastorno bacteriano. La Tuberculosis es responsable además de cerca de 3 millones de muertes cada año, a causa de retrasos en el tratamiento, o una terapéutica inapropiada o no disponible; de hecho, la OMS calcula que 26% de las muertes que pueden prevenirse en los países en desarrollo son causadas por la Tuberculosis (8,72).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calculó en 1990 que 33% de la población mundial, es decir, 1,700 millones de personas, sufría infección latente con *M. tuberculosis*. De este grupo surgen de 8 a 10 millones de casos activos nuevos cada año, y la mayoría padece variedades transmisibles de neumopatía. Esta estimado que entre el año 2000 y 2020, cerca de un billón de personas serán primó infectadas, 200 millones de personas estarán enfermas y 35 millones morirán debido a la Tuberculosis.

Las regiones del mundo donde predomina la infección y la enfermedad son las naciones de la costa del Pacífico (excluyendo a Japón), el sureste de Asia, África Subsahariana y Latinoamérica.

Entre los factores que aceleran el crecimiento de dicha epidemia global se puede mencionar: A) La infección por VIH y el SIDA contribuye a aumentar la tasa de tuberculosis por tres vías: 1) las personas con tuberculosis latentes que adquieren VIH tienen un

riesgo mucho mayor de sufrir una reactivación conforme descende su capacidad inmunitaria; **2)** los individuos con infección por VIH o SIDA tienen mayor riesgo de adquirir otras infecciones, como la tuberculosis, quizá por factores biológicos (son más propensos a infectarse por sus defensas reducidas) y factores circunstanciales (tienden a pasar más tiempo en ambientes de congregación) y **3)** los adultos jóvenes con VIH y tuberculosis activa, la transmiten a las personas con quienes viven. B) El deficiente manejo de los programas antituberculosis: Lo cual ha ocasionado el apareamiento de cepas resistentes a múltiples drogas, lo que prolonga la duración del tratamiento y lo hace más costoso, y c) La migración de las personas: En los países desarrollados, no menos de la mitad de los casos se encuentran entre las personas provenientes de países en vías de desarrollo. Debido al crecimiento y seriedad de esta enfermedad en 1993 la Organización Mundial de la Salud decidió declarar a esta enfermedad una emergencia mundial (**6,8,9,15,38,71,72**).

En Guatemala la lucha contra la tuberculosis se realiza de una forma pasiva, esto es, buscando posibles enfermos dentro de los consultantes a las diferentes instituciones de salud del estado. Actualmente la Comisión Nacional de Tuberculosis, considera que no es rentable mantener una actividad constante de búsqueda activa de pacientes, pues esto distrae los recursos de los servicios y la ganancia neta de enfermos encontrados, pocas veces justifica el esfuerzo. Sin embargo solo el 16% de las personas mayores de 10 años consultan a los centros del estado, dicho porcentaje puede aumentar a medida que se mejore el presupuesto destinado a salud, lo que mejorara la atención y calidad de los servicios de salud (**31**).

AGENTE CAUSAL:

M. tuberculosis es un bacilo pequeño con forma de bastón, no móvil, aerobio obligado y no esporulado. Los bastones miden de 2 a 4 µm de longitud y 0.2-0.5 µm de ancho. Es un parásito intracelular facultativo, usualmente de macrófagos, multiplicándose aproximadamente cada 16 a 20 horas, una característica fisiológica que puede contribuir a su virulencia.

Dentro del género *Mycobacterium* existe un grupo de microorganismos tan parecidos que se les denomina “complejo de

tuberculosis” e incluye a *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*. La pared celular de la micobacteria contiene abundantes lípidos o ceras, lo que le confiere resistencia a las técnicas tradicionales de tinción. Se le puede inducir para que absorba algún colorante como la fucsina carbólica, a través de alcalinidad o calor y una vez que se tiñe es resistente al potente decolorante ácido alcohol; de ahí el adjetivo de “bacilo acidorresistente” (9,17,29,30,38,60).

TRANSMISIÓN:

La tuberculosis es una enfermedad contagiosa, dicha infección se transmite casi exclusivamente a través de las secreciones respiratorias contaminadas, en estado de aerosol. Cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o escupe, ella disemina el bacilo hacia el aire, necesitando la persona expuesta inhalar unos pocos bacilos para estar infectada. Cada persona con tuberculosis activa, puede infectar un promedio de 10 a 15 personas cada año. Los pacientes con cavitaciones pulmonares son aún más infecciosos, puesto que su esputo contiene entre uno y diez millones de bacilos por mililitro y tosen a menudo. Si bien el paciente con tuberculosis cavitaria expectora cantidades masivas de bacilos, la probabilidad de generar partículas infecciosas es muy baja. Los contactos familiares de los enfermos con neumopatía extensa y tos productiva durante varias semanas o meses antes del diagnóstico tienen, en promedio, menos de 50% de posibilidades de infectarse (8,9).

Sin embargo, la piel y las mucosas respiratorias integras de las personas sanas son resistentes a la invasión. Para que haya infección, es necesario transportar bacilos hasta los espacios aéreos distales del pulmón, los alvéolos, donde no están supeditados a la purificación mucociliar bronquial. Una vez depositados en los alvéolos, los bacilos están adaptados para penetrar en los macrófagos alveolares que, dependiendo tanto de sus propiedades genéticas como de su experiencia inmunitaria son relativamente tolerantes a la proliferación bacilar (30,38,45,50).

PATOGENIA:

En el 98% de los casos el pulmón es la puerta de entrada. El bacilo tuberculoso se multiplica inicialmente en los alvéolos y conductos alveolares. La mayor parte de bacilos son destruidos, pero algunos sobreviven en el interior de los macrófagos inactivados, que los transportan a través de los conductos linfáticos hasta los ganglios regionales. La reacción del parenquima pulmonar y los ganglios linfáticos se intensifica durante las 2 a 12 semanas siguientes, a medida que se desarrolla una hipersensibilidad tisular. La parte parenquimatosa del complejo primario suele curar por completo mediante fibrosis o calcificación, después de sufrir licuefacción y se vacía en el bronquio asociado, lo cual deja una cavidad residual, *M. tuberculosis* puede persistir en estado viable durante decenios, dentro de estos focos.

Durante el desarrollo del complejo primario los bacilos tuberculosos son transportados hasta la mayor parte de los tejidos corporales a través de la circulación linfática y sanguínea. La tuberculosis diseminada tiene lugar si el número de bacilos circulantes es elevado y la reacción del huésped es insuficiente, solo el 5 a 10% de los adultos inmunocompetentes infectados por *M. tuberculosis* presentan en algún momento una forma clínica de la enfermedad.

El tiempo transcurrido entre la infección inicial y la enfermedad clínicamente manifiesta es bastante variable. La tuberculosis diseminada y la meníngea representan síntomas precoces, que suelen aparecer a los 2 a 6 meses de la infección. La tuberculosis clínicamente significativa en los ganglios linfáticos o la tuberculosis endobronquial suelen aparecer a los 3 a 9 meses (1,6,8,29,30,38,50).

INMUNIDAD FRENTE A *M. tuberculosis*:

La tuberculosis es un ejemplo de infección con una bacteria intracelular en la que coexisten la inmunidad protectora y la hipersensibilidad patológica, y las lesiones están causadas principalmente por la respuesta del huésped, *M. tuberculosis* no produce ninguna endotoxina ni exotoxina conocidas.

En la infección primaria los bacilos se multiplican lentamente en los pulmones y producen únicamente una leve inflamación.

Después de 6 a 8 semanas de la infección, se afectan los ganglios linfáticos regionales y se activan las células T CD4+. Estas células T producen Interferón Gamma que activa a los macrófagos y aumenta su capacidad para matar a las bacterias fagocitadas. El FNT (Factor de Necrosis Tumoral) producido por las células T participa en la inflamación local y en la activación de los macrófagos. Sin embargo, *M. tuberculosis* es capaz de sobrevivir dentro de los macrófagos, porque componentes de su pared celular inhiben la fusión de los lisosomas con las vacuolas fagocíticas. La continua activación de las células T conduce a la formación de granulomas, con necrosis central denominada necrosis caseosa, producida por los productos de los macrófagos (enzimas lisosómicas y derivados reactivos del oxígeno), esta es una forma de hipersensibilidad retardada (HR) al bacilo. Los granulomas caseificantes y la fibrosis (cicatrización) que acompañan a la inflamación granulomatosa son las causas principales de patología tisular y enfermedad clínica en la tuberculosis.

Los bacilos pueden sobrevivir durante muchos años incluso sin manifestaciones clínicas evidentes, y pueden reactivarse en cualquier momento. Las personas previamente infectadas muestran reacciones cutáneas de HR a la administración cutánea de una preparación de antígeno bacteriano (PPD o tuberculina).

La susceptibilidad o resistencia a *M. tuberculosis* se sitúa en un solo gen, llamado gen *bcg* o *lsh*, que se expresa en los macrófagos. Sin embargo todavía no se ha definido ni el producto proteico del gen *bcg/lsh*, ni su función (1,3,22,50,60).

CUADRO CLINICO:

Los síntomas más comunes son: tos seca persistente, pérdida de peso, sudores nocturnos y fiebre. La TB pulmonar en su inicio no suele causar síntomas y su descubrimiento puede deberse al azar en un examen radiológico rutinario. Cuando la población bacilar aumenta, empiezan a aparecer síntomas constitucionales inespecíficos como pérdida de apetito (anorexia), fatiga, debilidad, malestar general, ligera pérdida de peso, sensación de escalofríos, fiebre remitente por la tarde que al descender produce sudoración. Estos síntomas se toleran bien e incluso pueden pasar desapercibidos. También puede existir tos de larga duración, más o menos intensa y expectoración, ésta suele ser muco-purulenta y

cuando contiene sangre (hemoptisis) suele indicar una enfermedad avanzada.

Al realizar el examen físico se pueden evidenciar signos como: presencia de fiebre, caquexia, hipoxia, taquicardia, linfadenopatía y sonidos anormales durante la auscultación pulmonar. La ausencia de hallazgos físicos significativos, no excluye el diagnóstico, en el paciente de alto riesgo el aislamiento del agente etiológico a través del esputo resulta esencial (8,9,12,30,38).

DIAGNÓSTICO:

El diagnóstico actual de la tuberculosis se basa esencialmente en las mismas técnicas enunciadas por Robert Koch hace más de 100 años (17). La examinación del esputo con la finalidad de encontrar bacilos ácido-alcohol resistentes es de suprema importancia por su especificidad y también porque evidencia la principal forma de transmisión de esta enfermedad (15).

Tradicionalmente, el diagnóstico de Tuberculosis se ha realizado sobre la base de los hallazgos físicos y a los resultados radiológicos, confirmándose por tinciones de esputo o de tejido que demuestren la presencia del bacilo tuberculoso. Estos métodos siguen siendo el estándar de oro en el diagnóstico, pero el desarrollo de pruebas con DNA, reacción en cadena de la polimerasa y el surgimiento de los medios líquidos para el cultivo, ahora permiten mayor sensibilidad y un diagnóstico más rápido. Desgraciadamente el incremento en la sensibilidad de las técnicas más rápidas no siempre se ha visto asociado con un incremento en la especificidad.

Durante el último decenio se ha tomado conciencia que para lograr la erradicación de la tuberculosis, es más importante mejorar nuestros métodos diagnósticos que intentar seguir perfeccionando el conocimiento de la enfermedad (6,7,8).

a) Técnicas de Imagen:

1) Hallazgos radiográficos:

En tuberculosis primaria, característicamente se puede observar en la radiografía de tórax un infiltrado lobar o segmentario con adenopatía hiliar ipsilateral, la cual puede desplazar los grandes vasos y la tráquea. La resolución de la tuberculosis primaria puede

estar asociada con el desarrollo de un nódulo parenquimatoso o foco de Ghon. Cuando un foco de Ghon esta asociado con nódulos linfáticos hiliares calcificados se le denomina complejo de Ramke. Algunos estudios han indicado que la tuberculosis primaria no es reconocida inicialmente a través de una radiografía, en más de la mitad de los casos.

En tuberculosis secundaria puede mostrar cambios fibronodulares, más a menudo en los lóbulos superiores. También puede encontrarse formación de cavidades y pérdida del volumen pulmonar.

2) Tomografía Axial:

Es más sensitiva que la radiografía de tórax para la detección de cavidades, linfadenopatía, tuberculosis miliar, bronquiectasias, estenosis bronquial, fístulas broncopleurales y derrame pleural. El incremento de la sensibilidad de la tomografía es muy valioso cuando no existen hallazgos en la radiografía y para guiar procedimientos diagnósticos tales como broncoscopia.

3) Resonancia Magnética:

Se prefiere su uso para el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar, tal como tuberculosis esquelética e intracraneal (6,8,).

b) Técnicas Radiométricas:

Dichas técnicas emplean medio de cultivo de Middlebrook enriquecido, rico en ácido palmítico y otros ácidos grasos marcados con carbono 14 (C14). El C14 es un isótopo radioactivo que emite radiaciones beta cuando existen micobacterias vivas, al metabolizar estas los ácidos grasos con C14, liberan el isótopo en forma de CO₂ al medio ambiente desde donde es aspirado y llevado a la cámara de ionización, donde produce una corriente eléctrica proporcional a la cantidad de bacilos en crecimiento. Constituye un método de alta sensibilidad y especificidad, totalmente automatizado, que permite hacer el diagnóstico de tuberculosis en menos de una semana en el 95% de los casos. Este mismo estudio sirve para conocer en pocos días la sensibilidad de las cepas en estudio.

Es indudable que estos nuevos métodos de cultivo han significado un avance en el diagnóstico. Sin embargo, requieren de una inversión inicial que pocos centros pueden hacer (6,8,17,59).

c) Técnicas Químicas:

Dentro de ellas se encuentra la determinación de la actividad de la adenosindeaminidasa (ADA) una enzima linfocítica, la cual ha sido la más ampliamente aceptada (15). Dicha enzima se deriva del metabolismo de las purinas, y se encuentra elevada en los exudados provenientes de pleuresías, peritonitis y meningitis tuberculosas e incluso en el suero de pacientes con tuberculosis activa.

Similarmente la relación bromo radioactivo en suero ha demostrado una sensibilidad de 86%-94% y una especificidad de 88% y 96% en meningitis tuberculosa.

La estimación del ácido tubérculo-esteárico es utilizada algunas veces para el diagnóstico de tuberculosis meníngea (6).

d) Técnicas Inmunológicas:

Durante varias décadas se ha intentado el desarrollo de una técnica inmunológica con alta sensibilidad y especificidad sin embargo aun no se ha tenido éxito. La prueba inmunológica mejor conocida, la de mayor uso y que representa el estándar de las pruebas realizadas en piel para el diagnóstico de tuberculosis es la prueba de Mantoux (3). Entre otros procedimientos que han tenido éxito, pero que su realización es mas difícil y costosa, se encuentra el ensayo inmuno-absorbente ligado a enzimas (ELISA), la prueba de anticuerpos fluorescentes contra antígenos solubles (SAFA) o la prueba de competición de anticuerpos en suero (SACT) (22,31,33,48).

Prueba Cutánea de la Tuberculina (PPD):

Dicha prueba consiste en la inyección intradérmica de 5 TU de derivado proteínico purificado (PPD). El resultado es evaluado 48 a 72 horas después. La prueba es positiva cuando se forma una induración en la piel, cuyo diámetro es de 10 milímetros o más (15,30). Aproximadamente el 20% de los pacientes con tuberculosis activa pueden tener un resultado negativo, los resultados falsos negativos son frecuentes en pacientes con HIV y en aquellos que tienen deteriorada la respuesta inmunológica celular por alguna otra enfermedad. Por otro lado, pueden existir resultados falsos positivos los cuales se expresan con una induración menor, lo que puede indicar una exposición previa al patógeno, una infección por micobacterias no tuberculosas o una

vacunación previa con BCG. Por lo tanto un resultado negativo o positivo como único dato, no establece el diagnóstico (3,17,30,38,60).

e) Técnicas de Amplificación del Ácido Nucleico:

Las pruebas que involucran la amplificación del ácido nucleico son rápidas, ampliamente disponibles y pueden ser realizadas en un solo día. Las siguientes dos pruebas son las únicas que se encuentran aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso clínico:

- 1) **Prueba directa del *Mycobacterium Tuberculosis* amplificado (Gen-Probe):** Implica la recombinación de ácidos nucleicos y utiliza como objetivo el ARN ribosomal de la micobacteria. Dicha prueba utiliza ADN que es altamente específico para las especies de *M. tuberculosis*. Su especificidad es menor del 100% por lo que solamente fue aprobado para utilizarlo en pacientes que cuentan con tinción para bacilos ácido alcohol resistente positiva y cuyo resultado de cultivo se encuentra en proceso (6).
- 2) **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR):** Esta técnica realiza una amplificación de ciertas regiones previamente determinadas del ADN del complejo *M. tuberculosis*. Esta prueba se utiliza en sistemas automáticos extremadamente sensibles que pueden detectar en cuestión de unas pocas horas de 1 a 10 bacilos presentes en el esputo, sangre, lavado broncoalveolar, líquido cefalorraquídeo, fluido pleural y en muestras de tejidos. La PCR ha demostrado una sensibilidad del 96% y una especificidad del 97% (6, 8,15,36,51,70,77).

f) Técnicas Bacteriológicas:

Las técnicas bacteriológicas se pueden clasificar en :

1. Técnicas diagnósticas propiamente dichas tales como:
 - a) Examen directo o baciloscopía;
 - b) Cultivo;
 - c) Inoculación en el animal de experimentación.
2. Técnicas complementarias de diagnóstico:
 - a) Pruebas de sensibilidad del *M. tuberculosis* a drogas antituberculosas;

b) Pruebas de identificación de micobacterias (17).

Tinción de Ziehl Neelsen:

La mayoría de las eubacterias se encuentran agrupadas en dos grandes grupos según la tinción de Gram, sin embargo algunas bacterias de los grupos Micobacterias y Actinomicetos no pueden ser clasificadas por aquella tinción (14). En 1882, Robert Koch descubrió una técnica de tinción capaz de permitirnos visualizar al *M. tuberculosis*, la cual fue denominada como ácido-alcohol resistente (15,26). En la actualidad la técnica más utilizada es una modificación de la original, que recibió el nombre de sus autores: tinción de Ziehl-Neelsen (**VER ANEXO 1**).

Fundamento de la prueba:

La tinción de Ziehl-Neelsen demuestra la capacidad que tienen algunas bacterias teñidas de resistir a la decoloración por ácidos y alcoholes. Esta propiedad de algunas micobacterias y actinomicetos se correlaciona con el alto contenido en lípidos de su envoltura celular, que confiere un ambiente muy hidrófobo.

La tinción de Ziehl-Neelsen requiere el uso de tres colorantes:

- a) Mezcla de fucsina-fenol: capaz de teñir las células al ser sometidas al calor. El fenol facilita la penetración de la fucsina en la envoltura celular.
- b) Decolorante orgánico: mezcla de ácido y alcohol.
- c) Colorante de contraste: azul de metileno.

Las bacterias ácido-alcohol resistentes, tras la unión de la fucsina, resisten al tratamiento orgánico y se verán teñidas de rosa. El resto de las bacterias se decolorarán y se contrastarán con el azul de metileno (14).

Objetivo de la prueba:

Estudiar la morfología y la capacidad tintorial de las bacterias ácido-alcohol resistentes.

Requerimientos para poder realizar un examen bacteriológico adecuado:

El resultado del examen bacteriológico depende en proporción importante de la calidad y condición de la muestra en la cual se ejecuta, en consecuencia, es conveniente hacer algunas consideraciones sobre las características de la muestra destinada a

la investigación de tuberculosis.

Muestra de expectoración natural o espontánea:

Se considera una muestra adecuada aquella que proviene del árbol bronquial y es recogida después de un esfuerzo de tos. Es recomendable su recolección en un envase adecuado: de boca ancha, cierre hermético, capacidad de 30 a 50 ml, de material transparente que permita apreciar la calidad de la muestra, y desechable.

- Cantidad de muestra: 3 a 5 expectoraciones (3 a 5 ml).
- Momento de recolección: De preferencia matinal, las primeras expectoraciones al despertar.
- Conservación: Pueden conservarse hasta por 7 días, protegidas de la luz y del calor, de preferencia en refrigeración.

Indicaciones de la Técnica de Ziehl Neelsen:

El examen directo o baciloscopía está indicado en toda investigación diagnóstica de tuberculosis; como la sensibilidad de la técnica guarda íntima relación con la cuantía de la eliminación bacilar en la muestra a investigar (5000 a 10000 bacilos por ml) su rendimiento será diferente según la localización de la enfermedad. Sin embargo la baciloscopía no debe omitirse en ninguna circunstancia, considerando la sencillez del método, su bajo costo y la rapidez con la que permite realizar el diagnóstico.

Los resultados obtenidos a través del examen microscópico son informados de acuerdo al método semi-cuantitativo de cruces aplicando cualquiera de las escalas presentadas a continuación (66):

Tabla 1 Escalas de Cuantificación

Resultado	Interpretación según escala ATS	Interpretación según escala OMS	Interpretación según escala UICTEP
No se encuentran BAAR	Negativo	Negativo	Negativo
1--3 BAAR por 100 campos	Positivo 1+	Negativo dudoso	Dudoso
4--9 BAAR por 100 campos	Positivo 1+	Positivo dudoso	Dudoso
1--9 BAAR por 10 campos	Positivo 2+	Positivo 1+	Positivo 1+
1--9 BAAR por campo	Positivo 3+	Positivo 2+	Positivo 2+
10 o más BAAR por campo	Positivo 4+	Positivo 3+	Positivo 3+

ATS = Sociedad Torácica Americana; OMS = Organización Mundial de la Salud; UICTEP = Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedad Pulmonar.

Como prevenir resultados falsos positivos:

- Utilice portaobjetos nuevos.
- Siempre utilice carbo fucsina filtrada.
- No permitir que la carbo fucsina se seque o hierva durante la tinción.
- Evitar partículas de comida en la muestra de esputo.
- Nunca permita que el lente de inmersión toque el portaobjetos.
- Etiquete frascos para esputo y portaobjetos.

Como prevenir resultados falsos negativos:

- Los frascos para recolección deberán contener esputo y no solamente saliva.
- Asegúrese que la muestra sea suficiente (no menos de 2 mililitros).
- Seleccione las porciones espesas y purulentas para hacer el frote.
- Utilice la cantidad exacta de tiempo.

- No decolore muy intensamente con ácido sulfúrico.
Capítulo V Revisión Bibliográfica
-

- Examine cada muestra en un periodo no menor de 5 minutos, evaluando como mínimo 100 campos (2,14,18,24,28,38,40,43,44,55,64,76).

Microscopia con Fluorescencia:

La microscopia con fluorescencia utiliza iluminación de una lámpara de cuarzo halógeno. La ventaja de la microscopia con fluorescencia es que utiliza un objetivo con una baja magnificación, lo que permite visualizar una mayor área al momento de examinar la muestra, lo que acorta el tiempo del examen. Sin embargo el uso de una menor magnificación puede permitir que artefactos sean confundidos con bacilos, por esto se recomienda que los resultados positivos de tinción con fluorocromo sean confirmados con la tinción de Ziehl Neelsen. Otra desventaja de esta tinción es su alto costo, por lo que no ha podido ser utilizada en muchos países en vías de desarrollo (6,69).

Cultivo de esputo:

Los cultivos son el estándar de oro en el diagnóstico de tuberculosis, siendo mucho más sensibles que las baciloscopias, pudiendo detectar una cantidad tan pequeña como 10 bacilos por mililitro, sin embargo son menos sensibles que la amplificación del ácido nucleico. El medio de cultivo sólido Lowenstein-Jensen, es el más comúnmente usado con una sensibilidad del 88%, sin embargo el crecimiento de *M. tuberculosis* puede tardar hasta 6 semanas. Debido a esta razón varios laboratorios han optado por utilizar medios de cultivo con sistema el radiométrico (BACTEC MGIT960 y el BACTEC 12B), cuyo tiempo de crecimiento es de 2 a 3 semanas (6,8,11,30,38,59).

ACTUALIDAD DEL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS EN PAISES ENDÉMICOS:

Por más de un siglo, la observación microscópica de una muestra de esputo teñida, ha sido la más importante, y algunas veces la única herramienta disponible en los Centros de Salud de los países endémicos para el diagnóstico de la Tuberculosis (72).

Ha pesar de que en los países en desarrollo existe avance en el diagnóstico, teniendo acceso a métodos tales como: pruebas serológicas mejoradas, nuevas pruebas en piel, nuevos medios

Capítulo V Revisión Bibliográfica

para cultivo, sistemas de amplificación del ADN y pruebas de detección de antígenos, ninguno ha logrado ser el ideal, ni ha respondido a las necesidades diagnósticas actuales. Las pruebas que han ofrecido una gran sensibilidad conllevan una gran complejidad técnica y un excesivo costo. Algunas de las pruebas más simples y baratas, tal como las pruebas serológicas, funcionan pobremente en pacientes HIV uno de los grupos para los cuales es urgente mejorar las herramientas diagnósticas.

Actualmente, para la mayoría de pacientes con tuberculosis, existe una simple respuesta a la pregunta “¿Qué es lo nuevo en el diagnóstico de la tuberculosis?” No mucho. A pesar de que en los países industrializados en la última década ha existido un avance en los servicios de micobacteriología, las herramientas en los países en desarrollo se han limitado al cultivo y a la examinación microscópica de muestras teñidas del esputo. Las ventajas de la microscopia son bien conocidas: es de bajo costo, es muy específica (100%), y detecta la mayoría de pacientes con un alto grado de infectividad. Por estas razones la microscopia sigue desempeñando un rol importante en la detección de casos.

Sin embargo, los defectos de la microscopia limitan seriamente su aplicación, y últimamente, su impacto en los programas de control de la tuberculosis. Primero, requiere equipo que es difícil mantener en perfectas condiciones, requiere de técnicos preparados y motivados, y posee una baja sensibilidad (54 a 57%). La carencia de sensibilidad ha provocado deficiencia en la detección de casos, siendo así que actualmente solo 20% de los 8 millones de casos esperados anualmente son identificados con microscopia del esputo (**13,19,35,41,52,58,72,75**).

CONCENTRACIÓN Y APLICACIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO AL ESPUTO:

1. DEFINICIÓN:

Consiste en aplicar hipoclorito de sodio (cloro de casa) en cantidades controladas al esputo, dejándolo reposar durante 15 minutos, procediendo luego a centrifugar el esputo durante 15 minutos a 4,000 revoluciones por minuto, posterior a

ambos procedimientos se realiza la tinción de Ziehl Neelsen utilizando la técnica clásica.

DESARROLLO DE DICHA TÉCNICA:

La concentración del esputo previo a la realización de cultivo u observación por microscopia fue utilizada durante la primera mitad del siglo veinte. El método Clorox como se le definió a la aplicación de cloro al esputo, fue clasificado en aquella época como el mejor, a pesar de su utilidad fue pronto olvidado, debido a un mayor interés en la microscopia por fluorescencia y el cultivo.

Dada la necesidad de utilizar métodos de bajo costo, mejorar la sensibilidad, y dada la importancia que tiene la microscopia en el diagnostico especialmente en los países en desarrollo, Gebre et al., demostró en 1995 que el agregar Hipoclorito de Sodio (Cloro de casa) a la muestra y centrifugarla, previo a la realización de la tinción, lograba aumentar la sensibilidad a 114%, todo esto logrado por la digestión y floculación de sustancias del moco y por una real concentración de los bacilos a través de la precipitación creada por la centrifugación.

Por su parte Miorner et al. Revivió el interés por la sedimentación (dejar reposar la muestra), queriendo reemplazar a la centrifugación debido a la ausencia de centrifugadoras en algunos centros, especialmente en países en desarrollo. Van Den, et al se vio interesado por este método, demostrando un aumento de la sensibilidad de tan solo 1.1%. (64)

Sin embargo el beneficio de la centrifugación seria demostrado en los estudios realizados por Wilkinson, et al., (68), Perera, J et al., (49), Bruchfeld J et al., (10), Garay JE (20), demostrando aumentos en la sensibilidad del 12%, 29%, 9% y del 23% respectivamente.

TRATAMIENTO:

Involucra el uso de múltiples drogas, debido a que *M. tuberculosis* desarrolla rápidamente resistencia con el uso de un solo fármaco.

Fármacos que se utilizan en el tratamiento de la tuberculosis: De primera linea:

- Isoniacida (INH), Rifampicina (RFM), Pirazinamida (PZA), Etambutol (EMB), Estreptomina (S).

De segunda línea:

- Kanamicina, Capreomicina y Amikacina, Ácido P aminosalícilico (PAS), Etionamida, Cicloserina, Quinolonas.

La terapia se mantendrá a lo largo de 6 meses, utilizando en los dos primeros meses Isoniacida, Rifampicina y Pirazinamida, en los cuatro meses siguientes Isoniacida y Rifampicina. Se aconseja que en las personas con VIH, la asociación de Isoniacida y Rifampicina se prolongue hasta cumplir los 9 meses de tratamiento.

Cuando no se pueda emplear Isoniacida y Rifampicina, la asociación que se elija debe mantenerse por 18 a 24 meses. Si no es posible usar Pirazinamida, puede utilizarse Etambutol.

Resistencias:

Las principales causas que ocasionan resistencia son:

- Falta de cumplimiento del tratamiento;
- Quimioprofilaxis con Isoniacida sin descartar antes una tuberculosis activa;
- Utilización de esquemas de tratamiento incorrectos.

Resistencia Primaria: Se presenta en el *M. tuberculosis* en una persona que nunca antes había recibido tratamiento.

Resistencia Secundaria: Es debida a un tratamiento incorrecto y que a su vez ocasiona resistencias primarias cuando se infectan nuevos individuos por estas cepas.

Evolución del tratamiento:

Una vez iniciado el tratamiento este puede evolucionar hacia la curación o hacia el fallo del tratamiento.

El fallo del tratamiento da lugar a las siguientes categorías:

Abandono:

El tratamiento se ha suspendido por más de un mes.

- a) Si la baciloscopía o cultivo son positivos se debe reiniciar el tratamiento.
- b) Si la baciloscopía o cultivo son negativos se puede completar el tratamiento por el tiempo que falta.

Recidiva:

El tratamiento se ha cumplido correctamente y se ha considerado a la persona curada pero aparecen al menos dos cultivos positivos.

Capítulo V Revisión Bibliográfica

- a) Se puede repetir el tratamiento que se uso inicialmente.
- b) Se debería comprobar la sensibilidad para valorar un cambio de tratamiento.

Fracaso:

La persona ha cumplido el tratamiento pero los cultivos se mantienen positivos o se vuelven a positivizar tras algunos cultivos negativos.

- a) Se acompaña de resistencia bacteriana por lo que no añadirán nuevos fármacos.
- b) Se debe de retirar toda la medicación anti tuberculosis y remitir a la persona a un centro especializado(7,8,9,13,38,41).

PREVENCION:**Quimioprofilaxis con Isoniacida:**

Primaria: Es la administración de Isoniacida a una persona para prevenir una infección por tuberculosis cuando esta no esta infectada. Esta indicada en menores de 15 años que conviven con un enfermo con tuberculosis activa bacilífera y cuya prueba de PPD sea negativa. Se mantiene por 2 meses, se vuelve a repetir el PPD y si este es negativo se suspende.

Secundaria: Evitar que se desarrolle la enfermedad cuando la persona esta infectada. Esta indicada en el resto de la población, la prevención con INH en personas con tuberculosis latente, reduce la incidencia de la enfermedad entre un 50-80% dicha Quimioprofilaxis deberá mantenerse por seis meses (3,8,9,15,38,52,58,71).

VI. HIPOTESIS

A. Hipótesis Nula (H_0):

“La proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba con Centrifugación y aplicación de Hipoclorito de sodio es igual que la proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba tradicional”.

B. Hipótesis Alterna (H_a):

“La proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba con Centrifugación y aplicación de Hipoclorito de sodio es diferente que la proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba tradicional”.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

A. METODOLOGIA

1. TIPO DE ESTUDIO

- a) De acuerdo a la profundidad: Observacional, analítico.
- b) De acuerdo al diseño de la investigación: No experimental.
- c) De acuerdo a la forma como se recolectará la información: transversal.

2. OBJETO DE ESTUDIO

Muestras de esputo de pacientes con tuberculosis pulmonar, divididas en dos partes alícuotas, la primera parte tratada con el método tradicional de Ziehl Neelsen, mientras que la segunda parte tratada con centrifugación e hipoclorito de sodio (cloro de casa) previo a la realización de la tinción de Ziehl Neelsen.

3. POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Total de pacientes que se encuentran internados en el Hospital Nacional “San Vicente” (97 pacientes), con diagnóstico de Tuberculosis confirmado por cultivo sólido de esputo.

4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

4.1 Criterio de inclusión:

Todo paciente internado en el Hospital “San Vicente” con diagnóstico de tuberculosis pulmonar, capaz de expectorar 3 a 5 ml de esputo.

4.2 Criterio de exclusión:

- a) Pacientes que no acepten participar en este estudio.

Capítulo VII Material y Métodos

- b) Pacientes sin cultivo o con cultivo contaminado de esputo.

5. VARIABLES A ESTUDIAR:

5.1 Variable independiente: Técnicas utilizadas para realizar la tinción de Ziehl Neelsen: Método tradicional (Grupo Control) vs. Método con concentración y aplicación de hipoclorito de sodio (Grupo Experimental).

5.2 Variable dependiente: Mejoría en el diagnóstico (Resultado de la baciloscopía).

5.3 Otras variables: Mes de tratamiento, edad, sexo, cultivo de esputo.

VARIABLES

Nombre de la Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala de Medición y unidad de variable.
Método Tradicional De Ziehl Neelsen (*)	Técnica de Tinción que permite visualizar bacilos ácido-alcohol resistentes.	Determinar la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes a través de la realización de un muestreo directo del esputo sobre un portaobjetos, procediendo a colorear el mismo con tinción de Ziehl Neelsen.	Razones y Proporciones * Positivo * Negativo
Método de Ziehl Neelsen con Centrifugación y aplicación de Hipoclorito de sodio.	Técnica de tinción que permite visualizar bacilos ácido-alcohol resistentes.	Aplicación de hipoclorito de sodio al esputo en cantidades controladas, dejándolo reposar por 15 minutos, posterior a esto se procede a centrifugar la muestra por 15 min. Realizando por último la tinción de Ziehl Neelsen.	Razones y Proporciones * Positivo * Negativo
Resultado de la Baciloscopia.	Los resultados obtenidos a través del análisis microscópico se informaran de acuerdo al método semicuantitativo de cruces.	Se evaluarán las muestras utilizando los métodos planteados por la ATS, OMS y la UICTEP(**).	Intervalo * Escalas de Cuantificación ATS, OMS Y UICTEP.
Mes de tratamiento	Mes en el que se encuentre el paciente del total de meses fijados para su terapia.	Mes en el que el paciente refiera estar.	Ordinal * 1 a 9 meses.
Sexo	Diferencia física y orgánica del hombre y la mujer.	Sexo que el paciente refiera.	Nominal * Masculino y Femenino.
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento.	Edad que paciente refiera tener.	Razones y Proporciones
Positividad o Negatividad para el VIH	Determinar la presencia o ausencia de la infección por VIH, a través de la utilización de distintos métodos.	Dato proporcionado por el historial clínico del paciente.	Nominal. * Positivo * Negativo.

Cultivo de esputo para M. tuberculosis	Determinación del crecimiento de M. Tuberculosis a través de la observación microscópica de las colonias características del bacilo.	Determinación del índice de crecimiento de las muestras de esputo a la Cuarta semana.	Razones y Proporciones * Positivo * Negativo * Contaminado.

* Véase técnica para realizar la tinción de Ziehl Neelsen (Anexo 1).

** ATS: Sociedad Torácica Americana; OMS: Organización Mundial de la Salud; UICTEP: Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedad Pulmonar.

6. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN Y MEDICIÓN DE LAS VARIABLES.

Recolección de datos: Se procedió a solicitar una muestra de esputo a la totalidad de pacientes que se encontraban hospitalizados en los cuatro servicios de medicina de hombres y mujeres, obteniéndose un total de 97 muestras, de las cuales fueron excluidas 25, iniciando el estudio con 72 muestras, las cuales fueron divididas en partes alícuotas, dichas muestras fueron trasladadas al laboratorio clínico del hospital para ser procesadas de acuerdo a los dos métodos planteados. A continuación las muestras fueron analizadas microscópicamente por dos técnicos que sirvieron de observadores, quienes desconocían acerca del procedimiento especial brindado a una de las muestras.

6.1 Método tradicional de Ziehl Neelsen (Muestra Z): Durante este método no se le efectuó ningún procedimiento especial al esputo. De la mitad del volumen de esputo proporcionado por el paciente, se tomó una pequeña porción con la ayuda de un hisopo, realizando con esta muestra un frote sobre un portaobjetos, procediendo a realizar la tinción de Ziehl Neelsen.

6.2 Método de Ziehl Neelsen con centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio (cloro de casa)(Muestra X): A la mitad del esputo proporcionado por el paciente, se le aplicó una gota de cloro por cada mililitro

de esputo (66) posterior a esto se dejó reposar la muestra por 15 minutos, luego se tomó la muestra y se depositó en

Capítulo VII Material y Métodos

un tubo de ensayo estéril, procediendo a centrifugar la misma durante 15 min. a una velocidad de 4000 revoluciones por minuto, terminados estos dos procedimientos, se tomó una pequeña porción de la muestra con un hisopo, se realizó un frote sobre un portaobjetos y posterior a esto la tinción de Ziehl Neelsen.

6.3 Resultado de la baciloscopia: Las muestras fueron analizadas microscópicamente por dos técnicos del laboratorio del Hospital San Vicente, quienes no tenían conocimiento sobre el procedimiento especial brindado a las muestras. Los resultados fueron informados reportando el número de bacilos observados por campo, visualizando un total de 100 campos. La interpretación se realizó de acuerdo al método semicuantitativo de cruces con las escalas proporcionadas por la OMS, la ATS y la UICTEP.

6.4 Mes de tratamiento, sexo, edad y serología para VIH: Dichos datos se obtuvieron de la papeleta del paciente, procediendo a anotarlos en la boleta de recolección de datos (Véase anexo No. 2).

6.5 Cultivo de esputo: De la porción utilizada para realizar la técnica tradicional fue centrifugada, para luego proceder a efectuar los cultivos en medio sólido, los cuales fueron evaluados cuatro semanas después.

7. EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN:

Etapas del proceso de investigación:

7.1. 1ra. Etapa: Selección de tema, delimitación del problema, evaluación de viabilidad y factibilidad y recopilación de bibliografía a cargo de estudiante investigador;

7.2. 2da. Etapa: Aprobación del tema. A cargo del docente de la Unidad de tesis de la Facultad de Ciencias Medicas;

Capitulo VII Material y Métodos

7.3. 3ra. Etapa: Elaboración, revisión y aprobación del protocolo: A cargo de los docentes de la Unidad de tesis, medico asesor, docente revisor y estudiante investigador;

7.4. 4ta. Etapa: Trabajo de campo: El cual se realizara en el hospital para pacientes con tuberculosis “San Vicente”. Dicho trabajo se realizara con muestras de esputo de pacientes internados, las cuales serán teñidas con tinción de Ziehl Neelsen y analizadas microscópicamente en el laboratorio clínico de dicho hospital;

7.5. 5ta. Etapa: Tabulación de resultados, análisis de resultados, redacción y aprobación del informe final. A cargo del docente asesor, docente revisor, docentes de la Unidad de tesis y estudiante investigador.

7.6. 6ta. Etapa: Publicación y Presentación del informe final: A cargo de estudiante investigador y personas asistentes a la presentación.

8. RECURSOS:

8.1 Humanos:

- Población incluida en el estudio;
- Técnicos del laboratorio clínico;
- Estudiante investigador;
- Médico Asesor.

8.2 Físicos:

- Hospital Nacional “San Vicente de Paúl”;
- Laboratorio Clínico Hospital “San Vicente”;

8.3 Materiales:

- Recipientes para recolección de muestra de esputo;
- Portaobjetos;
- Hisopos;
- Reactivos para realizar tinción de Ziehl Neelsen;
- Mechero;
- Medios de cultivo sólido Lowenstein-Jensen.
- Microscopio de luz;
- Centrifugadoras;
- Tubos de ensayo estériles;
- Hipoclorito de sodio (cloro de casa);
- Recipiente para transportar muestras de esputo;
- Boletas de recolección de datos;
- Lapiceros;
- Computadora;
- Impresora.

VIII. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

CUADRO # 1

Resultados de cultivos de esputo y baciloscopias utilizando técnica tradicional y técnica en estudio* en pacientes con tuberculosis pulmonar en el primer mes de hospitalización (i).
Hospital “San Vicente”, Junio y Julio del 2,003.

Pcte. No.	Cultivo de esputo		Técnica Tradicional	Técnica en estudio
	Positivo	Negativo	Interpretación**	Interpretación**
1	X		Positivo ++	Positivo +++
2	X		Negativo	Negativo dudoso
3	X		Positivo +++	Positivo ++
4	X		Negativo	Positivo dudoso
5		X	Negativo	Negativo
6	X		Positivo ++	Positivo +++
7	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
8	X		Positivo +	Positivo dudoso
9	X		Positivo +++	Positivo +++
10	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
11	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
12	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
13	X		Positivo +	Positivo +
14	X		Negativo	Negativo dudoso
15	X		Negativo	Negativo dudoso
16	X		Positivo +	Negativo dudoso
17	X		Positivo +	Positivo ++

* Técnica realizada utilizando hipoclorito de sodio (cloro de casa) y concentración de la muestra con centrifugación.

** Interpretación de resultados según la escala planteada por la OMS. Véase anexo 2.

(i) En anexo No. 3 se presenta el listado completo de pacientes desde el primer al noveno mes de hospitalización.

FUENTE: Pacientes que se encontraban hospitalizados en el Hospital "San Vicente" con diagnóstico de tuberculosis pulmonar en los meses de junio y julio del 2,003.

Capítulo VIII Presentación de Resultados

CUADRO # 2

Resultados de cultivos de esputo y baciloscopias utilizando técnica tradicional y técnica en estudio* en pacientes con tuberculosis pulmonar en el segundo mes de hospitalización .
Hospital "San Vicente", Junio y Julio del 2,003.

Pcte. No.	Cultivo de esputo		Técnica Tradicional	Técnica en estudio
	Positivo	Negativo	Interpretación**	Interpretación**
18	X		Positivo ++	Positivo +++
19		X	Negativo dudoso	Positivo dudoso
20		X	Negativo dudoso	Positivo dudoso
21	X		Positivo +	Negativo dudoso
22	X		Negativo	Negativo dudoso
23		X	Negativo	Negativo
24		X	Negativo	Negativo
25	X		Negativo	Negativo dudoso
26	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
27		X	Negativo	Negativo
28	X		Negativo	Negativo
29	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
30	X		Negativo	Negativo dudoso
31		X	Negativo	Negativo
32		X	Negativo	Negativo
33		X	Positivo ++	Positivo ++
34		X	Negativo	Negativo
35	X		Positivo +++	Positivo +++
36	X		Negativo	Negativo dudoso
37		X	Negativo	Negativo
38		X	Negativo	Negativo dudoso
39	X		Negativo dudoso	Negativo
40		X	Negativo	Negativo

* Técnica realizada utilizando hipoclorito de sodio (cloro de casa) y concentración de la muestra con centrifugación.

** Interpretación de resultados según la escala planteada por la OMS. Véase anexo 2.

FUENTE: Pacientes que se encontraban hospitalizados en el Hospital "San Vicente" con diagnóstico de tuberculosis pulmonar en los meses de junio y julio del 2,003.

Capítulo VIII Presentación de Resultados

CUADRO # 3

Resultados de cultivos de esputo y baciloscopias utilizando técnica tradicional y técnica en estudio* en pacientes con tuberculosis pulmonar en el tercero y cuarto mes de hospitalización.
Hospital "San Vicente", Junio y Julio del 2,003.

Pcte No.	Cultivo de esputo		Técnica Tradicional	Técnica en estudio
	Positivo	Negativo	Interpretación**	Interpretación**
41	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
42	X		Positivo ++	Positivo +++
43	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
44	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
45		X	Negativo	Negativo
46		X	Negativo	Negativo
47		X	Positivo dudoso	Positivo +
48	X		Negativo	Negativo
49	X		Negativo	Negativo dudoso
50	X		Negativo	Negativo
51		X	Negativo dudoso	Positivo dudoso
52		X	Negativo	Negativo
53		X	Negativo	Negativo
54		X	Negativo	Negativo
55		X	Positivo +	Positivo ++
56		X	Negativo dudoso	Negativo dudoso
57		X	Negativo	Negativo
58		X	Negativo	Negativo
59		X	Negativo	Negativo
60		X	Negativo	Negativo
61		X	Negativo	Negativo
62		X	Negativo	Negativo dudoso

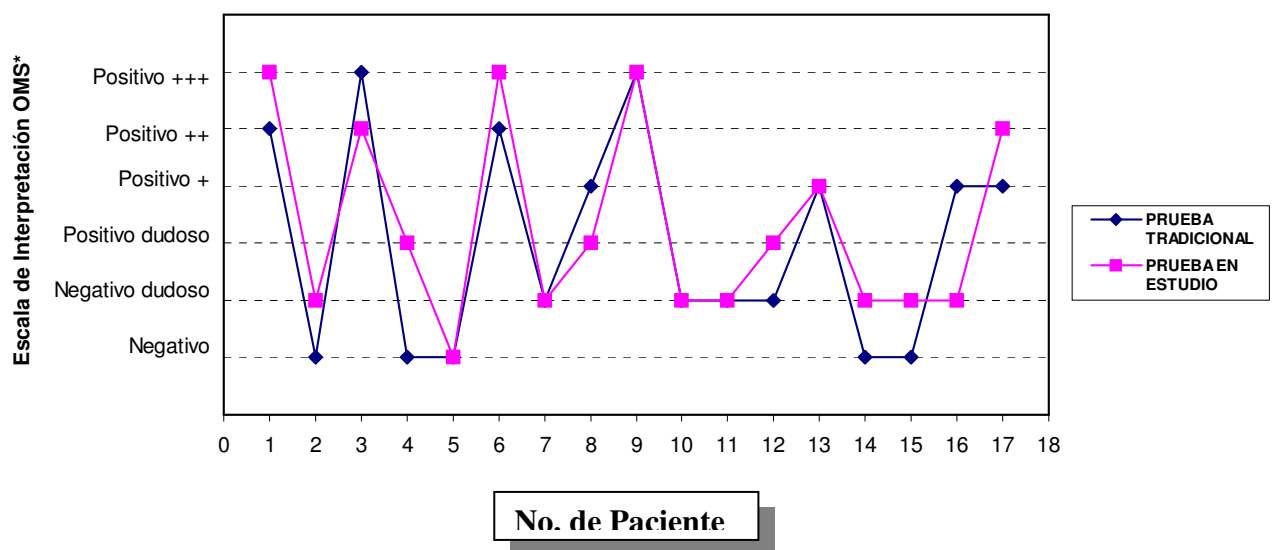
* Técnica realizada utilizando hipoclorito de sodio (cloro de casa) y concentración de la muestra con centrifugación.

** Interpretación de resultados según la escala planteada por la OMS. Véase anexo 2.

FUENTE: Pacientes que se encontraban hospitalizados en el Hospital "San Vicente" con diagnóstico de tuberculosis pulmonar en los meses de junio y julio del 2,003.

GRAFICA 1

Comparación de los resultados obtenidos con la prueba tradicional y la prueba en estudio de los pacientes que se encontraban en su primer mes de hospitalización.**



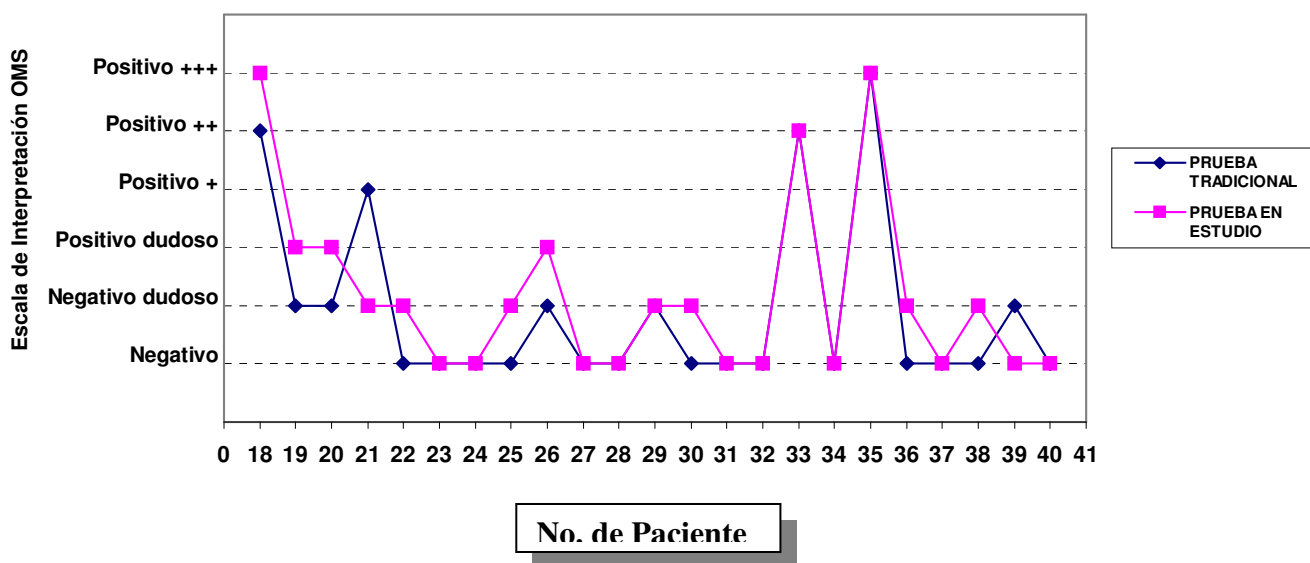
FUENTE: Pacientes que se encontraban internados en el Hospital "San Vicente" en los meses de Junio y Julio del 2,003.

* OMS: Organización Mundial de la Salud.

** Técnica realizada utilizando hipoclorito de sodio (cloro de casa) y concentración de la muestra con centrifugación.

GRAFICA 2

Comparación de los resultados obtenidos con la prueba tradicional y la prueba en estudio* de los pacientes que se encontraban en su segundo mes de hospitalización.

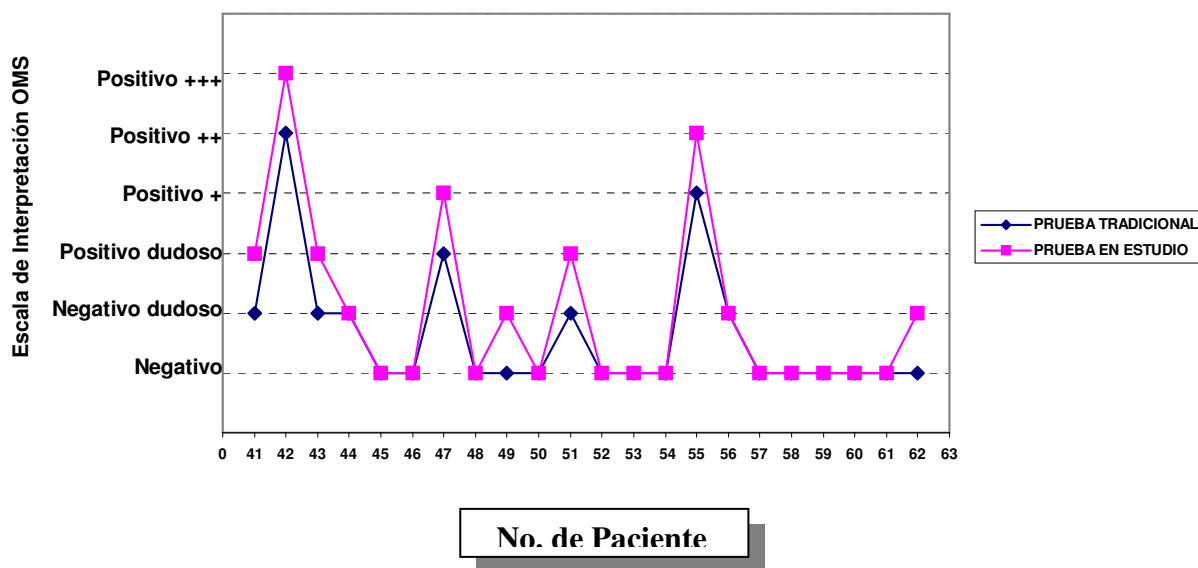


FUENTE: Pacientes que se encontraban internados en el Hospital “San Vicente” en los meses de Junio y Julio del 2,003.

* Técnica realizada utilizando hipoclorito de sodio (cloro de casa) y concentración de la muestra con centrifugación.

GRAFICA 3

Comparación de los resultados obtenidos con la prueba tradicional y la prueba en estudio* de los pacientes que se encontraban en el tercer y cuarto mes de hospitalización.



FUENTE: Pacientes que se encontraban internados en el Hospital “San Vicente” en los meses de Junio y Julio del 2,003.

* Técnica realizada utilizando hipoclorito de sodio (cloro de casa) y concentración de la muestra con centrifugación.

IX. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A. CALCULO DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:

Tabla No. 9-1

		TUBERCULOSIS PULMONAR (cultivo de esputo)		Total
		Positivo	Negativo	
P R U E B A E N E S T U D I O	Positivo	A 37	b 5	42
	Negativo	c 4	d 26	30
	Total	41	31	72

FUENTE: Pacientes que se encontraban hospitalizados en el hospital San Vicente durante los meses de Junio y Julio del 2,003.

1. Sensibilidad, Especificidad y valores predictivos:

Con los resultados presentados en la tabla de 2 x 2, se calculó el grado de sensibilidad, especificidad y valores predictivos negativo y positivo de la prueba en estudio utilizando las siguientes formula:

$$\text{Sensibilidad: } \frac{a}{a + c} \times 100$$

$$\text{Especificidad: } \frac{d}{b + d} \times 100$$

$$\text{Valor Predictivo Positivo: } \frac{a}{a + b} \times 100$$

Capítulo IX Análisis y Discusión de Resultados

$$\text{Valor Predictivo Negativo: } \frac{d}{c + d} \times 100$$

donde:

a = Total de resultados positivos verdaderos obtenidos con la prueba en estudio.

b = Total de resultados falsos positivos obtenidos con la prueba en estudio.

c = Total de resultados falsos negativos obtenidos con la prueba en estudio.

d = Total de resultados negativos verdaderos obtenidos con la prueba en estudio

tenemos que,

$$\text{Sensibilidad: } \frac{37}{37 + 4} \times 100$$

$$r = 90 \%$$

$$\text{Especificidad: } \frac{26}{5 + 26} \times 100$$

$$r = 83 \%$$

$$\text{Valor Predictivo Positivo: } \frac{37}{37 + 5} \times 100$$

$$r = 88 \%$$

$$\text{Valor Predictivo Negativo: } \frac{26}{4 + 26} \times 100$$

$$r = 87 \%$$

Estos resultados indican que la prueba posee una sensibilidad del 90% lo que significa que 9 de cada 10 personas con Tuberculosis pulmonar son detectadas. Debido a que es 83% específica, 83% de las 31 personas que no tienen el trastorno, o sea 26 personas, serán correctamente clasificadas, dejando 5 resultados falsos positivos.

El Valor Predictivo Positivo es de 88 %, lo que significa que existe un 88 % de seguridad que la persona que presente una prueba de esputo positiva, realmente tenga Tuberculosis pulmonar.

El Valor Predictivo Negativo es de 87 %, lo que significa que existe un 87% de seguridad que la persona con un resultado de esputo negativo, no presente Tuberculosis pulmonar.

2. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos para la Técnica Tradicional:

Tabla No. 9-2

		TUBERCULOSIS PULMONAR (cultivo de esputo)		Total
		Positivo	Negativo	
P R U E B A T R A D I C I O N A L	Positivo	a 29	b 4	33
	Negativo	c 12	d 27	39
	Total	41	31	72

FUENTE: Pacientes que se encontraban hospitalizados en el hospital San Vicente durante los meses de Junio y Julio del 2,003.

Capitulo IX Análisis y Discusión de Resultados

De conformidad con las formulas e interpretación de valores enunciados para la prueba en estudio,

tenemos que,

$$\text{Sensibilidad: } \frac{29}{29 + 12} \times 100$$

$$r = 70 \%$$

$$\text{Especificidad: } \frac{27}{4 + 27} \times 100$$

$$r = 87 \%$$

$$\text{Valor Predictivo Positivo: } \frac{29}{29 + 4} \times 100$$

$$r = 87 \%$$

$$\text{Valor Predictivo Negativo: } \frac{27}{12 + 27} \times 100$$

$$r = 69 \%$$

Los resultados de la prueba tradicional indican que la prueba posee una sensibilidad del 70% lo que significa que 7 de cada 10 personas con Tuberculosis pulmonar son detectadas. Debido a que es 87% especifica, 87% de las 31 personas que no tienen el trastorno, o sea 27 personas, serán correctamente clasificadas, dejando 5 resultados falsos positivos.

El Valor Predictivo Positivo es de 87 %, lo que significa que existe un 87 % de seguridad que la persona que presente una prueba de esputo positiva, realmente tenga Tuberculosis pulmonar.

El Valor Predictivo Negativo es de 69 %, lo que significa que existe un 69% de seguridad que la persona con un resultado de esputo negativo, no presente Tuberculosis pulmonar.

Capítulo IX Análisis y Discusión de Resultados

B. PRUEBA DE HIPÓTESIS:

Cuadro 9-1. **Diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar.**

PRUEBA EN ESTUDIO	PRUEBA TRADICIONAL	
	Positivo	Negativo
Positivo	(a) 31*	(b) 11**
Negativo	(c) 2	(d) 28

FUENTE: Pacientes que se encontraban hospitalizados en el hospital San Vicente durante los meses de Junio y Julio del 2,003.

* De los 33 pacientes reportados como positivos por la técnica tradicional, la técnica en estudio solo identifico a 31 pacientes.

** De los pacientes reportados negativos por la técnica tradicional, once fueron positivos según la técnica en estudio.

1. Planteamiento de las hipótesis:

Hipótesis Nula: $H_0: p_1 = p_2$ (**Las proporciones apareadas son iguales**).

“ La proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba en estudio es igual que la proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba tradicional”.

Hipótesis Alterna: $H_a: p_1 \neq p_2$ (**Las proporciones apareadas son desiguales**).

“ La proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba en estudio es diferente que la proporción de pacientes detectados como positivos por la prueba tradicional”.

Donde p1 y p2 representan las dos observaciones realizadas al esputo del paciente, utilizando la técnica tradicional y la técnica en estudio, se aplicara la prueba de McNemar para proporciones apareadas. Esta prueba sigue una distribución Chi cuadrada con un grado de libertad; su formula es:

$$\text{Prueba de McNemar: } \frac{(b - c)^2}{b + c}$$

donde:

χ^2
Prueba de McNemar = estadística de la prueba de hipótesis de McNemar que sigue una distribución Chi cuadrada con n – 1 grado de libertad.

b y c = Son las frecuencias en los casilleros de el cuadro 9-1 que corresponden al desacuerdo entre ambas pruebas.

Se utilizó $\alpha = 0.05$.

Valor critico que divide la distribución Chi cuadrada con 1 grado de libertad en 95% inferior y 5% superior es 3.841.

Tenemos que:

$$\begin{aligned}\text{Prueba de McNemar} &= \frac{(11 - 2)^2}{11 + 2} \\ &= \frac{8^2}{13} \\ &= 4.92\end{aligned}$$

El valor observado de Chi cuadrada, 4.92, es mayor que el valor crítico, 3.841. Por tanto, se rechaza la hipótesis nula de

proporciones iguales. Existe una diferencia significativa en la proporción de diagnósticos de tuberculosis pulmonar cuando se utiliza la prueba en estudio para hacer el diagnóstico.

Capítulo IX Análisis y Discusión de Resultados

C. OTRAS VARIABLES:

Del total de pacientes evaluados 47 pertenecían al sexo masculino y 25 al sexo femenino. La mayor parte de ellos (35%) estaban comprendidos entre los 30 y 40 años y un 60% se encontraba dentro de los dos primeros meses de hospitalización.

Se observó además que los diagnósticos más frecuentes asociados al de tuberculosis fueron: Desnutrición Proteico calórica, VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana) Positivo y Diabetes Mellitus tipo II.

D. CONCENTRACIÓN CON CENTRIFUGACIÓN Y APLICACIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO (CLORO DE CASA) AL ESPUTO PARA MEJORAR EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR:

Se demuestra a través de gráficos que la prueba en estudio aumenta de una forma considerable el número de bacilos detectados por campo, de acuerdo a las tres escalas de interpretación utilizadas (OMS, UICTEP, ATS).

Se evidenció una marcada elevación de la sensibilidad (90%) con respecto a la técnica tradicional (70%) y a los valores de sensibilidad reportados por otras investigaciones (50 a 65%), lo que puede contribuir a un mejor control de la tuberculosis a través de una mayor detección de casos (2,10,20,21).

La técnica de Ziehl Neelsen realizada en condiciones óptimas posee una especificidad del 100%, sin embargo en este estudio se observa una caída en el grado de especificidad de dicha prueba, dato ya observado en otras investigaciones realizadas con anterioridad utilizando centrifugación, efecto posiblemente causado por la contaminación del agua utilizada para realizar las tinciones o

por contaminación cruzada al colocar los frotos positivos demasiado cerca de los negativos(10,20,39,49,64).

Capitulo IX Análisis y Discusión de Resultados

Existe un aumento significativo para el valor predictivo negativo de la prueba en estudio (87% contra un 69%), lo que aumenta la seguridad de que una persona con resultado de esputo negativo, verdaderamente no presente la enfermedad.

Se comprueba la hipótesis alterna de que la prueba en estudio aumenta el numero de casos positivos detectados.

X. CONCLUSIONES

- A. Existe un notable aumento en el número de bacilos detectados por campo, cuando se aplica el método con centrifugación e hipoclorito de sodio, de conformidad con las tres escalas de interpretación planteadas para el efecto, evidenciándose que la técnica en estudio sí mejora el diagnóstico de tuberculosis pulmonar.

- B. La aplicación de la prueba en estudio provoca un aumento en la sensibilidad del 20% y una ligera disminución en la especificidad del 4%, al ser comparada con la técnica tradicional, lo que permitirá una mayor detección de pacientes con Tuberculosis Pulmonar.

- C. El valor predictivo negativo aumento desde un 69% hasta un 87%, lo que permite afirmar con más seguridad que una persona con un resultado negativo, realmente sea negativa.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Se recomienda el uso de la concentración con centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio al esputo, como método para aumentar el número de casos detectados de Tuberculosis, en los laboratorios que cuenten con centrifugadora.
- B. Con la finalidad de mejorar la sensibilidad y especificidad de las pruebas realizadas por los laboratorios, se recomienda la capacitación constante del personal del laboratorio, así como también la revisión periódica de los microscopios y equipo utilizado para preparar las tinciones del esputo.
- C. En países desarrollados la Tuberculosis se ha visto asociada frecuentemente al Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), en el presente estudio la desnutrición proteico calórica fue el trastorno que se asoció con más frecuencia. Se recomienda se realice un estudio que evalúe cuales son los trastornos más frecuentemente asociados a Tuberculosis en nuestro país.

XII RESUMEN

VASQUEZ POLANCO, C.A. Concentración con centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio (cloro de casa) al esputo para mejorar el diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar.
Tesis (Médico y Cirujano).
Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Medicas. Guatemala, 2,003.

“Estudio analítico-transversal que compara el examen directo de esputo Vs. Centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio al esputo previo a la realización de la tinción de Ziehl Neelsen, estudio realizado en el Hospital Nacional “San Vicente”.

“Fueron evaluadas las muestras de esputo de 72 pacientes con diagnóstico de Tuberculosis Pulmonar, las cuales fueron divididas en partes alícuotas, una parte se utilizó para realizar el examen directo de esputo y cultivo sólido de Lowenstein Jensen y a la porción restante se le agregó hipoclorito de sodio (cloro de casa) en cantidades controladas durante 15 minutos, dejando sedimentar la muestra, procediendo a centrifugar la muestra a 4000 rpm durante 15 minutos. Se realizaron las tinciones de Ziehl Neelsen de ambas muestras, fueron evaluadas al microscopio por un técnico del Laboratorio quien desconocía del procedimiento especial brindado a una de las muestras.

Se informaron los resultados de acuerdo a la escala de interpretación brindada por la Organización Mundial de la Salud, procediendo luego a evaluar sensibilidad, especificidad y valores predictivos en ambas pruebas.

Se comparó además la proporción de resultados positivos brindada por cada grupo de muestras a través de la prueba de McNemar, la cual sigue una distribución Chi cuadrada ($\alpha = 0.05$).

Concluyendo que la prueba en estudio presenta un aumento significativo en la proporción de casos detectados y un aumento en la sensibilidad (20%).

Se recomienda la aplicación de la Centrifugación y aplicación de hipoclorito de sodio al esputo, como método para aumentar la detección de casos positivos de Tuberculosis.

Capítulo XIII Referencias Bibliográficas

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abul, KA. et al. Inmunología celular y molecular. 3ªed. Madrid: Mcgraw-Hill Interamericana 1999. (pp. 251-254).
2. Acid Fast staining
[www. Sahealthinfo.org/tb/microacid.staining.html](http://www.Sahealthinfo.org/tb/microacid.staining.html) 20 enero 2,003.
3. Adambekov, DA. et al. Tuberculin-provocation immunological tests in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Probl Tuberk 1996;(1):10-3.
4. Al-Moamary, MS. et al. The significance of the persistent presence of acid-fast bacilli in sputum smears in pulmonary tuberculosis. Chest 1999 Sep;116(3):726-31.
5. Banda, HT. et al. Viability of stored sputum specimens for smear microscopy and culture. Int J Tuberc Lung Dis 2000 Mar;4(3):272-4.
6. Bates, JH. et al. Diagnosis of tuberculosis.
<http://www.postgradmed.com/issues/2000/0800/martin.html>
7. Bendayan, D. et al. Latent tuberculosis infection: diagnosis and treatment. Harefuah 2002 Mar;141(3):233-6, 316.
8. Bennet, JC. et al. Tuberculosis. En su Tratado de medicina interna. 20 ed. México: Mcgraw-Hill Interamericana, 1997. tomo 2 (pp. 1941-1949).
9. Biblioteca microbiología tuberculosis.
<http://www.vihsida.cl/paginas/infecciones/015a2.html> 22 enero 2,003.
10. Bruchfeld, JA. et al. Sputum concentration improves diagnosis of tuberculosis in a setting with a high prevalence of HIV. Trans R Soc Trop Med Hyg 2000 Nov-Dec;94(6):677-80.
11. Casal, M. et al. Diagnóstico microbiológico de la las infecciones por micobacterias.
<http://www.seinc.org/protocolos/cap 9. html> 22 enero 2,003.
12. Catanzaro, A. et al. The role of clinical suspicion in evaluating a new diagnostic test for active tuberculosis: results of a multicenter prospective trial. JAMA 2000 Feb 2;283(5):639-45.
13. Chaisson, RE. New developments in the treatment of latent tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2000 Dec;4(12 Suppl 2):S176.
14. Cortez, JA. Tinción ácido alcohol resistente.
- <http://www.joseacortez.com/descarga/tincionaar.html> 25 enero 2,003.

15. Davies, PD. et al. Tuberculosis. The Global Epidemic.
www.jimaonline.org/JIMA_MARCH2K/page_115_02.html
16. Escobar, JI. et al. Positividad de las baciloscopias de esputo mantenidas a temperatura ambiente durante ocho días. Rev. Colomb. Neumol; 1(3):55-9, dic. 1990.
17. Farga, V. Otras técnicas diagnósticas. Universidad de Chile.
http://www.med.uchile.cl/otros/dra_ancic/capitulo25.html 22 enero 2,003.

Capitulo XIII Referencias Bibliográficas

18. Ferra, SC. et al. Comparación de cuatro métodos para aislamiento del Mycobacterium tuberculosis del esputo. Rev. Cuba. Med. Trop; 36(3):315-25. 1984
19. Foulds, J; O'Brien, R. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int J Tuberc Lung Dis 1998 Oct;2(10):778-83.
20. Garay, JE. Analysis of a simplified concentration sputum smear technique for pulmonary tuberculosis diagnosis in rural hospitals. Trop Doct 2000 Apr;30(2): 70-2.
21. Gebre, N. et al. Improved microscopical diagnosis of pulmonary tuberculosis in developing countries. Trans R Soc Trop Med Hyg 1995 Mar-Apr;89(2):191-3.
22. Gennaro, ML. Immunologic diagnosis of tuberculosis. Clin Infect Dis 2000 Jun;30 Suppl 3:S243-6.
23. Ginesu, F. et al. Microbiological diagnosis of tuberculosis: a comparison of old and new methods. J Chemother 1998 Aug;10(4):295-300.
24. Global Health.com. Ziehl Neelsen staining.
<http://www.globalpotd.com/index2.php.97635.html> 20 enero 2,003.
25. Golyshvskaya, VI. et al. Biological characteristics of M. tuberculosis and difficulties in microbiological diagnosis of tuberculosis. Probl Tuberc 1995;(2):30-2.
26. Harms, J. Department of Bacteriology. TB Wars.
- www.bact.wisc.edu/Bact330/lecturetb 26 de enero 2,003.
27. Heydenrych, AH. et al. Performance of a rapid phage-based test, FASTPlaqueTB, to diagnose pulmonary tuberculosis from sputum specimens in South Africa. Int J Tuberc Lung Dis 2002 Jun;6(6):529-37.
28. Hurtig, AK. et al. Sputum examination for acid-fast bacilli in private laboratories. Int J Tuberc Lung Dis 1999 Nov;3(11):1009-14.
29. Jawetz, E. et al. Micobacterias. Microbiología médica. 15 ed. México: Manuel Moderno, 1996. (pp. 323-324).
30. Kenneth, T. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
<http://www.textbookofbacteriology.set/tuberculosis.html> 22 de enero 2,003.
31. Kubin, M. et al. Serodiagnostic detection of IGA-specific antibodies in tuberculosis. Epidemiol Mikrobiol Imunol 1997 Sep;46(3):104-7.
32. Latini, OA. et al. Calidad de la baciloscopia de esputo en la red de laboratorios de la Argentina. Bol. Oficina Sanit. Panamá; 100(6):622-33, jun. 1986.

33. Lung, MD; Perkins, MD. New diagnostic tools for tuberculosis. International Journal of Tuberculosis and Disease 2000, 4(12): S182-188.
34. Maartens, G. Advances in adult pulmonary tuberculosis. Curr Opin Pulm Med 2002 May;8(3):173-7.
35. Marrero, A. et al. Towards elimination of tuberculosis in a low-income country: the experience of Cuba, 1962-97. Thorax 2000 Jan;55(1):39-45.

Capitulo XIII Referencias Bibliográficas

-
36. McGowan, JE. Metchock, B. Nolte, FS. Laboratory diagnosis of tuberculosis: past, present, and future. J Med Assoc Ga 1995 May;84(5):215-20.
 37. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Dirección General de Servicios de Salud. Memoria de labores, Guatemala: El Ministerio, 2001. 52p.
 38. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Sistema Integral de atención en Salud (SIAS). Tuberculosis. Manual de referencia para la aplicación de las Normas de Atención, Guatemala: El Ministerio, 1998. 32p.
 39. Miorner, H. et al. Improved sensitivity of direct microscopy for acid-fast bacilli: sedimentation as an alternative to centrifugation for concentration of tubercle bacilli. J Clin Microbiol 1996 Dec;34(12):3206-7.
 40. Nelson, SM; Deike, MA. Value of examining multiple sputum specimens in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol 1998 Feb;36(2):467-9.
 41. Netto, EM. et al. Progress in global tuberculosis control 1995-1996, with emphasis on 22 high-incidence countries. Global Monitoring and Surveillance Project. Int J Tuberc Lung Dis 1999 Apr;3(4):310-20.
 42. Nguyen, TN. et al. Quality control of smear microscopy for acid-fast bacilli: the case for blinded re-reading. Int J Tuberc Lung Dis 1999 Jan;3(1): 55-61.
 43. Nguyen, TN. et al. The importance of quality control of sputum smear microscopy: the effect of reading errors on treatment decisions and outcomes. Int J Tuberc Lung Dis 1999 Jun;3(6):483.
 44. Niero, RD. et al. Formulario de pedido de baciloscopia e informe del resultado para investigación del bacilo de la tuberculosis en el esputo: propuesta de un nuevo modelo. s.l. s.n. s.d. 12p. Presentado en: Congreso Panamericano de la Unión Latinoamericana de Sociedades de Tisiología y Enfermedades Respiratorias, Lima, 1993.
 45. Notebook.Health.net. Tuberculosis. <http://www.fpnotebook.com/lun63.html> 12 febrero 2,003.
 46. Nyirenda, TE. et al. Safety in laboratories carrying out sputum smear microscopy: a dilemma for resource-poor countries. Int J Tuberc Lung Dis 1998 Aug;2(8): 690-3.
 47. Paramasivan, CN. et al. Effect of storage of sputum specimens at room temperature on smear and culture results. Tubercle 1983 ;64(2):119.
 48. Pereira Arias-Bouda, LM. et al. Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples. J Clin Microbiol 2000 Jun;38(6):2278-83.

49. Perera, J, Arachchi, DM. The optimum relative centrifugal force and centrifugation time for improved sensitivity of smear and culture for detection of Mycobacterium tuberculosis from sputum. Trans R Soc Trop Med Hyg 1999 Jul-Aug;93(4):405-9.
50. Pinto, MR. Inmunopatología de la tuberculosis. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. Curso de Microbiología. 1998. 5p.
51. Querol, JM. et al. The utility of polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Chest 1995 Jun;107(6):1631-5.

Capítulo XIII Referencias Bibliográficas

-
52. Reichman, LB. Tuberculosis elimination--what's to stop us? Int J Tuberc Lung Dis 1997 Feb;1(1):3-11.
 53. Rieder, HL. et al. Evaluation of a standardized recording tool for sputum smear microscopy for acid-fast bacilli under routine conditions in low-income countries. Int J Tuberc Lung Dis 1997 Aug;1(4):339-45.
 54. Sakhelashvili, MI. et al. Laboratory diagnostic methods in primary pulmonary tuberculosis in adults. Lik Sprava 1998 Jan-Feb;(1):95-9.
 55. Selvakumar, N. et al. Washing of new microscopic glass slides in dichromate solution does not influence sputum AFB smear results. Int J Tuberc Lung Dis 2002 Mar;6(3):270-2.
 56. Shi, H. et al. Evaluation of different methods of detection and diagnosis for infectious pulmonary tuberculosis. Zhonghua Zhi 1997 Oct;20(5): 301-4.
 57. Small, PM. More rigour needed in trials of new diagnostic agents for tuberculosis, The Lancet, Sept. 2000, 356. (9235): 1048-1049
 58. Small, PM. Tuberculosis in the 21st century: DOTS and SPOTS. Plenary lecture given at the 29th World Conference of the International Union Against. Int J Tuberc Lung Dis 1999 Nov;3(11):949-55.
 59. Somoskovi, A. et al. Comparison of recoveries of mycobacterium tuberculosis using the automated BACTEC MGIT 960 system, the BACTEC 460 TB system, and Lowenstein-Jensen medium. J Clin Microbiol 2000 Jun;38(6):2395-7.
 60. Stites, DP. et al. Inmunología básica y clínica. 8ed. México: Manual Moderno, 1996. (pp. 119-132).
 61. Szczuka, I. et al. Analysis of diagnostic errors and recommendations of diagnostic procedures in bacteriologically negative pulmonary tuberculosis. Pneumonol Alergol Pol 1998;66(1-2):17-23.
 62. Tomford, JW. Rice, TW. The diagnosis and medical management of pulmonary parenchymal mycobacterial diseases. Semin Thorac Cardiovasc Surg 1995 Apr;7(2):104-7.
 63. Tuberculosis and Lung Disease, Bangkok, Thailand, 23-26 November 1998. Directly observed therapy. Int J Tuberc Lung Dis 1999 Nov;3(11):949-55.
 64. Van, DA. et al. Bleach sedimentation method for increased sensitivity of sputum smear microscopy: does it work? Int J Tuberc Lung Dis 2000 Apr;4(4):371-6.

65. Van, DA. et al. Optimal tuberculosis case detection by direct sputum smear microscopy: how much better is more? Int J Tuberc Lung Dis 2002 Mar;6(3): 222-30.
66. Van, DA. Portaels, F. Limitations and requirements for quality control of sputum smear microscopy for acid-fast bacilli. Int J Tuberc Lung Dis 1998 Sep;2(9): 756-65.
67. Walker, D. et al. An incremental cost-effectiveness analysis of the first, second and third sputum examination in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2000 Mar;4(3):246-51.

Capítulo XIII Referencias Bibliográficas

68. Wilkinson, D. Sturm, AW. Diagnosing tuberculosis in a resource-poor setting: the value of sputum concentration. Trans R Soc Trop Med Hyg 1997 Jul-Aug;91(4):420-1.
69. Woods, GL. et al. Concentration of sputum by cyto centrifugation for preparation of smears for detection of acid-fast bacilli does not increase sensitivity of the fluorochrome stain. J Clin Microbiol 1995 Jul;33(7):1915-6.
70. Woods, GL. Molecular methods in the detection and identification of mycobacterial infections. Arch Pathol Lab Med 1999 Nov;123(11):1002-6.
71. World Health Organization (WHO). An expanded DOTS framework for effective tuberculosis control. <http://www.who.int/gtb/policyrd/DOTSpplus.html> 25 de enero 2,003.
72. World Health Organization (WHO). Annual report on global TB control. <http://www.who.int/gth/publications/globre02> 25 enero 2,003
73. World Health Organization (WHO), TDR consultation starts the count-down to new TB diagnostics. <http://www.who.int/tdr/index.html> 25 enero 2,003
74. World Health Organization (WHO), TDR Tuberculosis diagnostics. <http://www.who.int/tdr/publications/pdf/TBWorkshop1997.pdf>. 25 enero 2,003
75. World Health Organization (WHO), TDR Tuberculosis diagnostics initiative (TBDI). <http://www.who.int/tdr/diseases/tb/diagnostics.html> 25 enero 2,003
76. Wu ZL, Wang AQ. et al. Diagnostic yield of repeated smear microscopy examinations among patients suspected of pulmonary TB in Shandong province of China. Int J Tuberc Lung Dis 2000 Nov;4(11):1086-7.
77. Zvizdic S. et al. Modern methods in the diagnosis of tuberculosis: PCR--polymerase chain reaction. Med Arh 1999;53(1):13-7.

ANEXO #1:

Técnica de Ziehl Neelsen:

Materiales y reactivos:

- a) Carbo fucsina, fucsina básica o fucsina-fenol al 1%;
- b) Ácido clorhídrico (0.36N) en etanol;
- c) Ácido Sulfúrico al 25%;
- d) Azul de metileno al 0.1%;
- e) Pinzas de madera;
- f) Mechero Bunsen o de alcohol;
- g) Microscopio y aceite de inmersión.

Preparación:

- b) Seleccionar un portaobjetos nuevo y rotularlo con un número de serie;
- c) Hacer un frote de la porción amarilla purulenta del esputo utilizando un palillo de madera. Un buen frote es esparcido de una forma regular, debe de medir aprox. 2 cm x 3 cm y no debe ser muy grueso ni muy delgado;
- d) Dejar secar la muestra por 15 a 30 minutos;
- e) Fijar la muestra, pasando el portaobjetos sobre la flama 3 a 5 veces por 3-4 segundos cada vez;
- f) Cubrir completamente con carbo fucsina la preparación;
- g) Calentar la preparación cuidadosamente en un mechero Bunsen, sin que hierva la muestra durante 5 min. Nota: añadir más carbo fucsina conforme ésta se evapora; la preparación no debe quedar seca en ningún momento;
- h) Dejar el portaobjetos enfriar por 5 a 7 minutos;
- i) Lavar cuidadosamente con abundante agua el exceso de colorante;

- j) Decolorar el portaobjetos teñido agregando ácido sulfúrico al 25% y dejándolo actuar hasta que la muestra adopte un color rosa claro (unos 30 seg.);
- k) Lavar con agua para detener la decoloración;
- l) Teñir con azul de metileno durante un minuto.
- m) Lavar con agua el exceso de colorante;
- n) Secar la preparación;
- o) Examinar al microscopio.

ANEXOS

ANEXO 2:

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Médicas
Unidad de Tesis CICS.

Boleta No: ____

Fecha: _____

Nombre del paciente: _____

Edad: _____

Sexo: M _____

F _____

Mes de tratamiento: _____

Serología para el VIH: Positivo _____ Negativo _____

Se desconoce: _____

Resultado de la Baciloscopía:

A). Muestra Z:

Positiva: _____ Negativa: _____

Si fuese positiva:

No. De BAAR promedio por campo: _____

B). Muestra X:

Positiva: _____ Negativa: _____

Si fuese positiva:

No. De BAAR promedio por campo: _____

Escalas de Interpretación:

Resultado	Interpretación según escala ATS	Interpretación según escala OMS	Interpretación según escala UICTEP

No se encuentran BAAR	Negativo	Negativo	Negativo
1--3 BAAR por 100 campos	Positivo 1+	Negativo dudoso	Dudoso
4--9 BAAR por 100 campos	Positivo 1+	Positivo dudoso	Dudoso
1--9 BAAR por 10 campos	Positivo 2+	Positivo 1+	Positivo 1+
1--9 BAAR por campo	Positivo 3+	Positivo 2+	Positivo 2+
10 o más BAAR por campo	Positivo 4+	Positivo 3+	Positivo 3+

ATS = Sociedad Torácica Americana; OMS = Organización Mundial de la Salud; UICTEP =

Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedad Pulmonar.

BAAR: Bacilo Ácido Alcohol Resistente.

Resultado de cultivo: Positivo:_____ Negativo:_____

ANEXOS

ANEXO # 3:

Pcte. No.	Cultivo de esputo		Técnica Tradicional	Técnica en estudio
	Positivo	Negativo	Interpretación**	Interpretación**
1	X		Positivo ++	Positivo +++
2	X		Negativo	Negativo dudoso
3	X		Positivo +++	Positivo ++
4	X		Negativo	Positivo dudoso
5		X	Negativo	Negativo
6	X		Positivo ++	Positivo +++
7	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
8	X		Positivo +	Positivo dudoso
9	X		Positivo +++	Positivo +++
10	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
11	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
12	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
13	X		Positivo +	Positivo +
14	X		Negativo	Negativo dudoso
15	X		Negativo	Negativo dudoso
16	X		Positivo +	Negativo dudoso
17	X		Positivo +	Positivo ++
18	X		Positivo ++	Positivo +++
19	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
20		X	Negativo dudoso	Positivo dudoso
21	X		Positivo +	Negativo dudoso
22	X		Negativo	Negativo dudoso
23		X	Negativo	Negativo
24		X	Negativo	Negativo

25	X		Negativo	Negativo dudoso
26	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
27		X	Negativo	Negativo
28	X		Negativo	Negativo
29	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
30	X		Negativo	Negativo dudoso
31		X	Negativo	Negativo
32		X	Negativo	Negativo
33	X		Positivo ++	Positivo ++
34		X	Negativo	Negativo
35	X		Positivo +++	Positivo +++
36	X		Negativo	Negativo dudoso
37		X	Negativo	Negativo
38		X	Negativo	Negativo dudoso
39	X		Negativo dudoso	Negativo
40		X	Negativo	Negativo
41	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
42	X		Positivo ++	Positivo +++
43	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
44	X		Negativo dudoso	Negativo dudoso
45		X	Negativo	Negativo
46		X	Negativo	Negativo
47	X		Positivo dudoso	Positivo +
48	X		Negativo	Negativo
49	X		Negativo	Negativo dudoso
50	X		Negativo	Negativo
51		X	Negativo dudoso	Positivo dudoso
52		X	Negativo	Negativo
53		X	Negativo	Negativo
54		X	Negativo	Negativo
55	X		Positivo +	Positivo ++
56		X	Negativo dudoso	Negativo dudoso
57		X	Negativo	Negativo
58		X	Negativo	Negativo
59		X	Negativo	Negativo
60		X	Negativo	Negativo
61		X	Negativo	Negativo
62		X	Negativo	Negativo dudoso
63	X		Positivo ++	Positivo ++
64		X	Negativo dudoso	Negativo
65		X	Negativo	Negativo
66	X		Positivo ++	Positivo +++
67		X	Negativo	Negativo

68	X		Negativo dudoso	Positivo dudoso
69		X	Negativo	Negativo
70		X	Negativo	Negativo
71		X	Negativo	Negativo
72		X	Negativo	Negativo