

870127

21
2ef

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



"INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN LA JURISDICCION
SANITARIA No. III COMPOSTELA, NAYARIT"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

BERTHA MARIA PIMIENTA MARQUEZ

ASESOR: Q.F.B. MA. DEL SOCORRO PULIDO GARCIA
GUADALAJARA, JAL., 1989

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

CAPITULO I	INTRODUCCION	1
CAPITULO II	GENERALIDADES: Morfología Tinción Fisiología Composición química Estructura antigénica Patogenicidad Virulencia Clasificación del género <u>Lycobacterium</u>	3
CAPITULO III	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA: Antecedentes	11
CAPITULO IV	OBJETIVO	15
CAPITULO V	MATERIAL Y METODOS: Diagrama de flujo Recolección de muestras Examen microscópico Cultivo	16
CAPITULO VI	RESULTADOS	31
CAPITULO VII	DISCUSIONES Y CONCLUSIONES	40
CAPITULO VIII	BIBLIOGRAFIA	42

CAPITULO I

INTRODUCCION:

La tuberculosis es una de las enfermedades infectocontagiosas más antiguas que amenaza la vida del hombre y animales.

Constituye un importante problema de Salud Pública en el mundo, especialmente en los países subdesarrollados; debido al bajo nivel de vida, ya que esta enfermedad se ve favorecida por condiciones socioeconómicas bajas.

La tuberculosis patológicamente se caracteriza por la formación de nódulos conocidos como tubérculos; el grado de la lesión varía de acuerdo al tejido atacado, número y virulencia de los microorganismos, a la resistencia y estado de sensibilidad del hospedador.

Comunmente la lesión se localiza en los pulmones; pero otros órganos, sistemas y tejidos suelen ser afectados.

Es de gran importancia clínica el conocimiento de la prevalencia del género Mycobacterium para un mejor estudio de la epidemiología de la tuberculosis. El género Mycobacterium incluye varias especies, algunas son patógenas para el hombre o para animales, otras son patógenas oportunistas y varias son esencialmente saprofitas.

Las micobacterias son bacterias no móviles, no esporuladas, aerobias estrictas, con índices de crecimiento relativamente lentos y una morfología de bacilo delgado que algunas veces incluye ramificaciones y formas filamentosas largas.

El alto contenido de lípidos y carencia en su pared celular les da las características de ACIDORESISTENCIA, HIDROFORICIDAD e INDICES LENTOS DE CRECIMIENTO.

No pueden ser clasificadas según la tinción de Gram, ya que una vez teñidas con los colorantes básicos no pueden ser decoloradas con el alcohol.

Entre las formas patógenas se conocen mejor las que producen tuberculosis en el hombre, son responsables dos especies muy semejantes:

Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis var. hominis, el bacilo de la tuberculosis humana) y Mycobacterium bovis (M. tuberculosis var. bovis, el bacilo de la tuberculosis bovina).

Otras diversas especies de micobacterias son agentes causales de un padecimiento del hombre semejante a la tuberculosis, pero como difieren de los bacilos clásicos de la tuberculosis, se consideran como micobacterias "atípicas" o "anónimas".

Aunque ésta terminología no es adecuada desde el punto de vista taxonómico, generalmente se acepta como una nomenclatura conveniente.

Runyon ha dividido las micobacterias atípicas en cuatro grupos, basándose en gran parte en la producción de pigmento y en el índice de desarrollo.

CAPITULO II

GENERALIDADES:

1) **Morfología.**- Los bacilos de la tuberculosis son bastones delgados, algunas veces ligeramente curvos, de 0.2 a 0.6 μ m. de diámetro y de 1 a 4 μ m. de largo. Se presentan aislados, pero a veces se observan en grupos pequeños, en ocasiones como masas compactas donde no pueden distinguirse los bacilos individuales.

Los bacilos de la variedad humana tienden a ser algo más largos y delgados que los de tipo bovino, pero la morfología de ambos es variable y ese carácter no sirve para diferenciarlos.

En los tejidos suele conservarse la forma bacilar; en cultivos algunas veces se observan formas filamentosas más largas.

Las micobacterias no son móviles ni formadoras de esporas. Es notable la estructura granulosa de las células individuales. A menudo se observan vacuolas en abundancia; incluso pueden dar a las células teñidas el aspecto de una cadena de cocos.

2) **Tinción.**- Las micobacterias no pueden clasificarse como organismos gram positivos o gram negativos. Una vez que se han teñido con colorantes básicos no se pueden decolorar con alcohol ni por soluciones diluidas de ácidos minerales; por ésta razón se llaman "ácido-resistentes". La acidoresistencia depende de la integridad de la estructura celular. Se emplean técnicas de tinción como Vinvaun y Ziehl-Neelsen para la identificación de las bacterias ácido-resistentes; que las tinte con carbolfucsina, se decoloran con alcohol ácido y toman tinción de fondo con un colorante de contraste; el azul de metileno usado con mayor frecuencia; otros prefieren

colorantes como el ácido nítrico y el nardo Bismarck.

3) Fisiología.-

Características de crecimiento: Los micobacterias son aerobios estrictos y derivan su energía de la oxidación de compuestos sencillos de carbono. El aumento de la tensión de CO₂ estimula el crecimiento; desarrollan de mejor en una atmósfera de 3 a 11% de CO₂. Sus actividades bioquímicas no son muy características; su velocidad de crecimiento es mucho más lenta que la mayoría de las bacterias.

Los bacilos de la tuberculosis se desarrollan mejor a 37°C y no lo hacen en absoluto por debajo de 30°C o por encima de 40°C. La proliferación es relativamente lenta, y se requieren generalmente de 4 a 6 semanas para lograr un desarrollo abundante; pueden aparecer colonias diminutas en ocho a diez días. Las formas sarcófitas crecen más rápidamente, se desarrollan bien a 22°C, producen más pigmento y son menos ácidos-resistentes que las formas patógenas.

Para aislarlos por primera vez se necesitan medios enriquecidos que por lo general contienen huevo, glicerol y algunas ocasiones colorantes para inhibir el desarrollo de contaminantes. Los medios que suelen usarse son las modificaciones de Jensen al medio de Löwenstein, que contiene huevo, harina de patata y verde de malvaite.

Reacción a los agentes físicos y químicos: Los micobacterias son bastante resistentes a la desecación, a desinfectantes químicos y otras factores ambientales perjudiciales; muy probablemente como consecuencia de los lípidos que contiene.

Los ácidos y los álcalis permiten la supervivencia de cierta proporción de los bacilos tuberculosos al ser exuertos a éstos;

se utilizan para la concentración de productos patológicos y para la eliminación de los organismos contaminantes.

El fenol penetra en el bacilo lentamente, y una solución al 5% necesita 24 hrs. para matar los bacilos del esputo. La acción de otros desinfectantes es muy similar en lentitud. Los hipocloritos y ciertos detergentes sintéticos casi no tienen efecto sobre estas bacterias.

Diversas sustancias de diferente clase son bacteriostáticas para el bacilo de la tuberculosis incluyendo a la estreptomizina, el ácido α -amino salicílico (PAS), los sulfones tiosemicarbazonas y ciertos derivados de la pirimidina como la isonicidina.

Los bacilos de la tuberculosis pueden seguir viviendo semanas o meses en esputos líquidos; en esputo seco conservado en lugar frío y oscuro hasta seis u ocho meses. Un esputo completamente seco, de forma que las partículas son capaces de flotar como polvo en el aire, pueden ser infecciosos entre ocho y diez días. En el esputo seco pueden seguir viviendo a temperaturas de 100°C por una hora, pero mueren en la forma usual con el calor húmedo.

4) Composición Química.- Las micobacterias son de particular interés debido a su alto contenido lipídico que puede constituir hasta un 40% del peso seco de la célula. Muchos de los lípidos están relacionados con la estructura de la pared celular y son responsables en parte, de algunas características celulares, como la acidorresistencia, hidrofobicidad e índices lentos de desarrollo.

Las proteínas celulares constituyen otra clase principal de componentes, incluyendo la tuberculina.

Los polisacáridos, además de los que se encuentran en los glucolípidos se ven en cantidades relativamente pequeñas.

Los glucolípidos son de naturaleza variable e incluyen el fac-

tor de crecimiento en cordón que contiene el ácido micólico (6- α -dimicótil- α -D-trehalosa) y sulfolípidos, cetilglucosos y varios micósidos de naturaleza compleja relacionados.

5) Estructura antigénica.- Con la importancia creciente de las micobacterias atípicas causantes de padecimientos humanos, la diferenciación inmunológica con el bacilo de la tuberculosis ha alcanzado un significado mayor. Es bien conocido que las reacciones inmunológicas cruzadas son comunes entre las micobacterias como se ha demostrado por medio de la hipersensibilidad a la tuberculina.

Se ha sugerido una estructura antigénica, basada en reacciones con gel de precipitina; además del antígeno común hay antígenos específicos de serotipo; los serotipos también pueden diferenciarse por medio de aglutinación.

El uso de técnicas más complicadas, que incluyen a la inmunoelectroforesis bidimensional, han revelado un gran número de componentes antigénicas de los cuales cuando menos uno es antígeno micobacteriano común. Aunque estos últimos métodos todavía no son adecuados para uso común, la determinación de un marcado antígeno detallado de las micobacterias patógenas deberá ayudar a aclarar la posición taxonómica de las especies individuales.

6) Patogenia.- El bacilo tuberculoso no produce toxinas. La enfermedad es producida por el establecimiento y la proliferación de organismos virulentos y las interacciones con el huésped.

La virulencia puede correlacionarse con las características coloniales (formación de cordones). Los bacilos avirulentos no sobreviven mucho tiempo en el huésped normal.

La resistencia y la hipersensibilidad del huésped influyen grandemente en el curso de la enfermedad. La patogenicidad del bacilo tuberculoso para el cobayo y la producción de estereos son -

paralelas a menudo.

7) *Variación.*— Existe variación por lo que respecta a la morfología de las colonias, a la virulencia y a las características celulares del bacilo tuberculoso.

Los organismos *Disgénicos* dan desarrollos abundantes en nucleos a base de huevo y forman colonias rugosas con bordes irregulares; su crecimiento es estimulado por el glicerol. Esta es la experiencia común de las ceras del humano durante el primocultivo.

Los cultivos *Disgénicos* crecen más lentamente formando colonias planas con bordes enteros; son inhibidos por la presencia de glicerol.

Algunos pensaron que la variación de las colonias que se ha observado era análoga a la variación S y R de otras bacterias; varios investigadores han sostenido que el tipo S es más virulento y otros piensan que la morfología de las colonias y la virulencia son independientes. Esta morfología colonial de los bacilos de la tuberculosis, es en gran parte una adaptación pasajera a las condiciones ambientales y se altera pronto al transferirlas a un medio diferente.

La variabilidad de los bacilos de la tuberculosis se ha estudiado ampliamente pero sin resultados concluyentes. La tenacidad plasmática de los bacilos junto con la aparición de células que no son acidorresistentes en cultivos recientes y granulos de Luch en el hueso, se han considerado indicadores de una sucesión cíclica de tipo morfológico o de ciclo vital.

Bacilo Crémette-Guerin (CGG) .-

Crémette obtuvo una cepa de un bacilo de la tuberculosis bovina completamente avirulento, cultivándola durante mucho tiempo (230 pasajes durante 13 años) en un medio de bilis, glicerol y patata. Esta cepa se designa CGG (17).

cilo Calmette Guérin) y ha sido de especial interés para la inmunización activa contra la tuberculosis, puesto que produce inmunidad en el huésped humano ó animal sin originar una enfermedad clínicamente aparente. Aunque la BCG, es avirulenta en huéspedes normales, puede producir enfermedad en los que sean inmunodeficientes.

Resistencia a los medicamentos.-

Como otras bacterias, los bacilos de la tuberculosis pueden hacerse resistentes *in vitro* e *in vivo* a los quimioteráuticos. La última es más común con estas bacterias que con otras por la naturaleza de la enfermedad y la necesidad de tratamiento prolongado por lo que hay oportunidad de que ocurra resistencia a algunos de los medicamentos eficaces, en particular estreptomycina e isoniacida. Sobre última se ha reportado de pérdida de la actividad de catalasa del bacilo de la tuberculosis, pero persiste un poco de ella en micobacterias purificadas resistentes. Hay pruebas de que éstas contienen los sistemas de defensa, uno de los cuales no es sensible a la isoniacida.

La determinación de la sensibilidad a los medicamentos se complica por el lento desarrollo de los bacilos.

La aparición de resistencia al medicamento *in vivo* se inhibe notablemente de hecho usando dos componentes en combinación, por lo común estreptomycina y PAS, e isoniacida y PAS, etc.

Clasificación del género Mycobacterium.-

El reconocimiento de otras micobacterias diferentes al bacilo típico de la tuberculosis causantes de enfermedades en humanos y animales ha sido reportado en los últimos años. A pesar de las numerosas investigaciones competentes en esta área, aún no hay una clasificación universal de éstos microorganismos en especies distintivas.

Sobre la base de producción de pigmento, velocidad de crecimiento

to y temperaturas requeridas, Runyon propuso (en 1959) la subdivisión de éstas micobacterias "atípicas" en cuatro grupos principales; el esquema de clasificación de Runyon es el más empleado a pesar de ser inadecuado sirve para el propósito de dar a los clínicos y bacteriólogos un terreno común de entendimiento al discutir características clínicas y biológicas de estos microorganismos.

GRUPO I : FOTOCROMOGENAS.- Colonias no pigmentadas en la oscuridad, pero producen un pigmento amarillillo limón cuando se exponen a la luz. Crecen a 25°C. Colonias rugosas.

GRUPO II : ESCOTOCROMOGENAS.- Colonias amarillas o amaranjadas cuando crecen en la luz o en la oscuridad. Crecen después de 7 días de incubación a 37°C. Crecen más lentamente a 25°C.

GRUPO III: NO FOTOCROMOGENAS.- Generalmente no pigmentadas, ocasionalmente presentan colores pastel pero estos no son afectados por la luz. La temperatura y la velocidad de crecimiento son similares a los dos primeros grupos.

GRUPO IV : DE CRECIMIENTO RAPIDO.- Las colonias maduras se producen tanto a 25°C como a 37°C, en menos de 7 días.

Una serie de criterios han sido recomendados para ayudar en la identificación de especies y la distinción de organismos saprófitos. Estos criterios son basados en la similitud de su metabolismo; determinado por pruebas bioquímicas cualitativas y cuantitativas.

Se ha hecho énfasis en el criterio metabólico, más que en el origen de aislamiento, reacciones serológicas o patogenicidad animal.

CAPITULO III

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

ANTECEDENTES.-

Hace más de un siglo (1882), Roberto Koch descubrió el agente etiológico de la tuberculosis en el hombre. Lo cultivó fuera de los tejidos vivos; e inició así brillantemente la bacteriología de la tuberculosis. El mismo dijo: "En el futuro no habrá dificultad para decidir lo que es la tuberculosis y lo que no lo es, la demostración del bacilo aclarará la cuestión". Desde entonces los aportes del laboratorio bacteriológico a la lucha contra la tuberculosis han sido múltiples: la vacuna BCG, el PPD, el estudio de drogas antituberculosas y de la resistencia bacilar, el conocimiento de otras micobacterias, etc.

La OMS dice: "Un caso de tuberculosis es un paciente que padecer la enfermedad confirmada bacteriológicamente".

La tuberculosis constituye un importante problema de salud pública en el mundo, principalmente en los países subdesarrollados. Es más frecuente en los estratos de nivel de vida bajos; las formas de tuberculosis pulmonar tipo adulto ocurren en personas previamente infectadas de cualquier estrato social y favorecidas por circunstancias que disminuyen la resistencia individual, tales como la edad avanzada, la desnutrición, la presencia de diabetes y de alcoholismo y las situaciones de stress en otras.

La tuberculosis especialmente en su forma pulmonar continúa siendo problema de Salud en México. Miles de personas enferman cada año y contribuyen a propagar la enfermedad; representa el 20% de las muertes por éste padecimiento y le sigue en importancia la localización meníngea y del SNC.

En México; Nayarit constituye una de las entidades con mayores casos.

**CASOS DE TUBERCULOSIS EN TODAS SUS FORMAS
DIAGNOSTICADOS POR LA SECRETARIA DE SALUD
EN EL ESTADO DE NAYARIT
1981 - 1987**

AÑOS	CASOS
1981	156
1982	152
1983	171
1984	207
1985	226
1986	180
1987	240
TOTAL	1,362

- Fuente: Departamento de Medicina Preventiva de los Servs. Coords. de Salud Pública en el Estado de Nayarit.

**CASOS DE TUBERCULOSIS PULMONAR POR GRUPO ETARIO E INSTITUCIONES DE SALUD
DIAGNOSTICADOS EN EL ESTADO DE MAYAIT DURANTE 1986.**

GRUPO ETARIO	S.S.A.	I.M.S.S.	I.S.S.S.I.E.	TOTAL
- 1	-	3	-	3
1- 4	1	2	6	9
5-14	2	15	5	22
15-44	96	61	10	167
45-64	41	34	8	83
65 y más	32	20	6	58
Se ignora	-	-	-	-
TOTAL	172	135	35	342

*Fuente: Departamento de Medicina Preventiva de los Servs. Coordn. de Salud Pública en el Estado de Mayait.

**CASOS DE TUBERCULOSIS PULMONAR POR GRUPO ETARIO E INSTITUCIONES DE SALUD
DIAGNOSTICADOS EN EL ESTADO DE MAYAIT DURANTE 1987.**

GRUPO ETARIO	S.S.A.	I.M.S.S.	I.S.S.S.I.E.	TOTAL
-1	-	1	-	1
1-4	1	6	-	7
5-14	6	18	2	26
15-44	110	85	11	206
45-64	57	34	8	99
65 y más	51	14	4	69
Se ignora	-	-	-	-
TOTAL	225	158	25	408

*Fuente: Departamento de Medicina Preventiva de los Servs. Coordn. de Salud Pública en el Estado de Mayait.

En la Jurisdicción Sanitaria No. III en el estado de Nayarit se observó un incremento de los casos de tuberculosis diagnosticados en los últimos dos años:

CASOS DE TUBERCULOSIS DIAGNOSTICADOS EN SINTOMATICOS RESPIRATORIOS ESTUDIADOS POR LA SECRETARIA DE SALUD EN LA JURISDICCION SANITARIA No. III EN COMPOSTEJA, NAYARIT. DURANTE EL PERIODO 1986 - 1987.

AÑO	SINTOMATICOS RESPIRATORIOS	CASOS	%
1986	1,166	44	3.77
1987	784	36	4.59

* Fuente: Departamento de Medicina Preventiva de los Servs. Coords. de Salud Pública en el Estado de Nayarit.

CAPITULO IV

OBJETIVO:

Conocer mediante el presente estudio los casos de tuberculosis en la Jurisdicción Sanitaria No. III en Compostela, Mayarit. Durante un periodo de seis meses; y determinar la **INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS.**

CAPITULO V

MATERIAL Y METODOS:

El estudio para la determinación de incidencia de tuberculosis en la Jurisdicción Sanitaria No. - III en Compostela, Nayarit; fué realizado en un período de seis meses, comprendidos de Julio-88 a Diciembre-88.

Este estudio se realizó en 100 pacientes. Su sintomatología y clínica hacen sospechar de tuberculosis en algunos de sus formas. Las muestras recibidas fueron tratadas previamente para la realización de su baciloscopia. Observándose posteriormente al microscopio y reportándose el hallazgo de BAAR.

Las muestras negativas a la baciloscopia fueron reportadas como tal.

A las muestras positivas se les practicó cultivo, empleándose el medio de Löwenstein-Jensen.

Incubación a 37°C.

Se revisaron a las 48 hrs, posteriormente a los 7, 15, 30, 60 y 90 días.

Cuando se presentó el desarrollo en alguno de los medios sembrados, se realizó frotis de las colonias. Tiñéndose con el método de Ziehl-Neelsen.

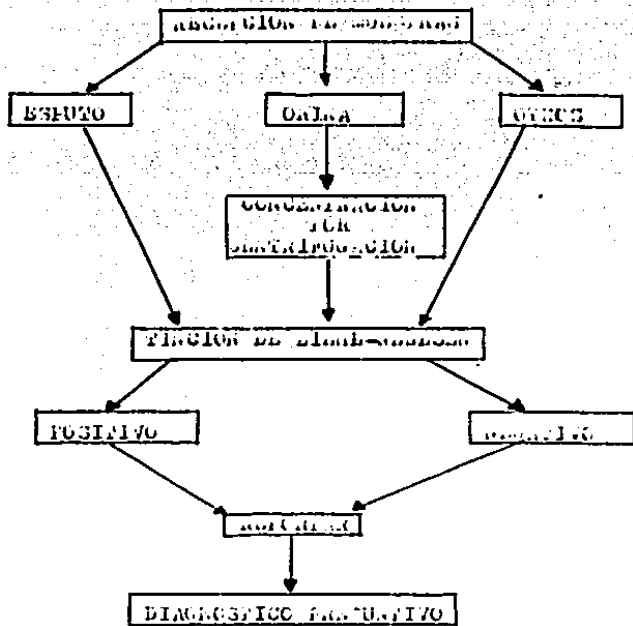
Observados al microscopio se determinó la presencia de BAAR, descartando así la presencia de contaminantes.

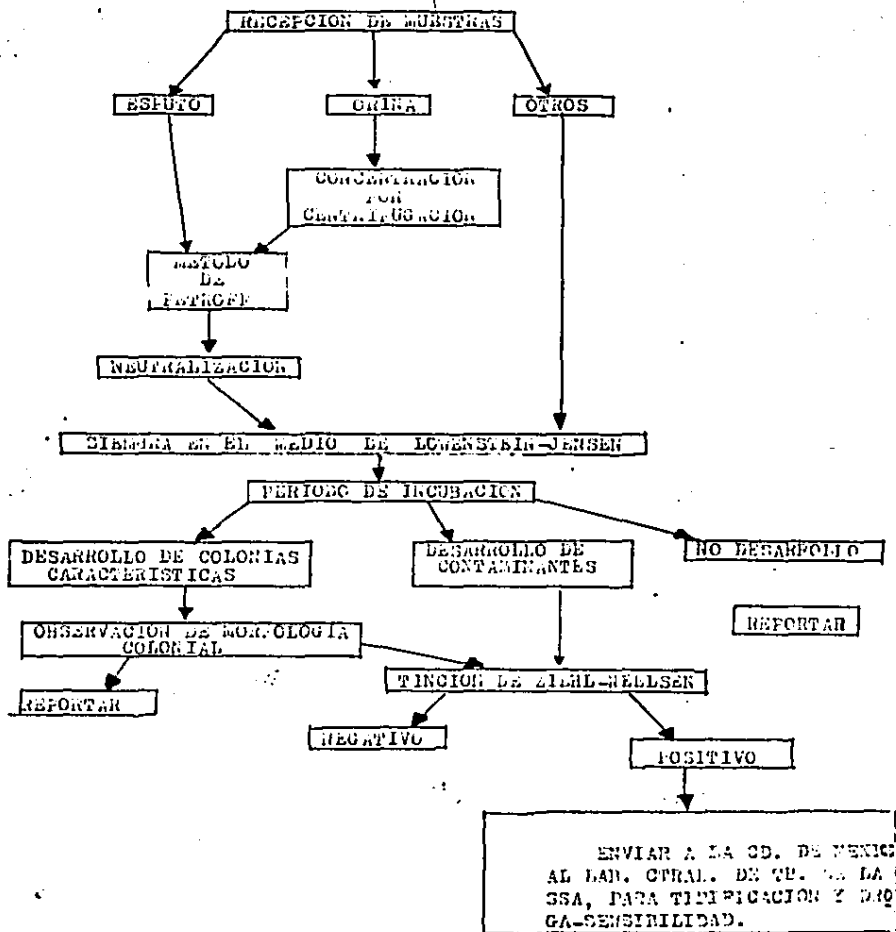
Se enviaron a la Cd. de México, el Laboratorio Central de Tuberculosis (SSA) para la tipificación y sensibilidad a medicamentos.

Posteriormente se determinó la incidencia de tuberculosis.

A continuación se expone más detalladamente los métodos utilizados en el estudio.

DIAGRAMA DE FISSO:

ESQUEMA I

CULTIVO

I MUESTRAS:

Para la obtención de un resultado confiable, no sólo es preciso ejecutar las técnicas en forma correcta, sino, recibir o tomar una buena muestra: entendiéndose como tal la que proviene del sitio de la lesión a investigar, obtenida en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado, bien identificada y transportada correctamente.

a) Expectoración.-

a.1. Expectoración natural.- Una buena muestra de esputo es la que proviene del árbol bronquial, conteniendo la mínima cantidad de saliva o secreciones nasales. La cantidad recolectada será de 5 a 10 ml. de esputo. El paciente no deberá usar antisépticos ni lavarse la boca antes de emitir su expectoración. La muestra de no ser enviada inmediatamente al laboratorio - deberá refrigerarse. Se tomará de preferencia en la mañana - muy temprano al levantarse.

a.2. Expectoración inducida.- Cuando el paciente no logra expectorar y es necesario un examen de esputo, se recurre a las siguientes formas de obtener las muestras:

a.2.1. Nebulizaciones: Se nebuliza en la garganta con agua salada. Se recoge la primera expectoración producida después de la nebulización.

a.2.2. Icopado laríngeo: Usa o en aquellos pacientes que no pueden emitir el esputo y lo degluten. Empleando - principalmente en niños o en los clínicos de enfermedades del tórax. Este procedimiento por cultivo en vista del escaso número de bacilos que contiene ésta muestra, ya que las fibras de algodón pueden inducir a error en la baciloscopia.

a.2.3. Lavado Bronquial o Broncoscopia: Puede hacerse con sonda o con broncoscopio. Debe procesarse por baciloscopia y cultivo.

b) Otras muestras.-

Deben procesarse por cultivo pues la escasa cantidad de bacilos así como la presencia de micobacterias esporófitas, hacen que la baciloscopia no sea concluyente.

b.1. Lavado Gástrico.- Debe procesarse siempre por cultivo, se practica en clínica y es indicado para:

-Aquellos pacientes con evidencia radiológica de tuberculosis pulmonar cuyo esputo es considerado negativo por otros métodos.

-En pacientes que no pueden emitir el esputo y lo degluten

-En niños pequeños cuyo esputo es difícil de obtener.

-En pacientes no ambulatorios.

La toma se recomienda temprano en la mañana, deberá ser procesada inmediatamente debido al efecto deletéreo del jugo gástrico en los bacilos tuberculosos.

b.2. Orina.- Debe recolectarse toda la orina de la primera micción de la mañana, previa higiene externa con agua. Concentrar por centrifugación y realizar también baciloscopia.

b.3. Líquido Cefalorraquídeo.- La obtención de éste está reservada al personal médico. Centrifugar a 2,000 rpm durante 10 minutos, se toma sedimento para preparar frías e inocular en medio de cultivo.

b.4. Pus y otros líquidos de punción.- El pus de cavidad abierta es un material tan contaminado como el esputo, y deben someterse a un tratamiento previo antes del cul-

tivo. El uso de cavidad cerrada, lo mismo que los líquidos de inoculación tomados estérilmente y recogidos en envase estéril, pueden inocularse directamente al medio de cultivo sin tratamiento previo.

II EXAMEN MICROSCÓPICO:

Heciloscofia.— Es considerado el examen básico para el diagnóstico bacteriológico de tuberculosis humana, especialmente en su forma franco-maltonar. Por su ejecución rápida, sencilla y económica, el examen microscópico del espécimen clínico permite lograr una amplia cobertura de diagnóstico.

La presencia de BAAR en las muestras, no necesariamente nos indicará la presencia de una caso de tuberculosis, ni que éste organismo observado es patógeno o está vivo.

La heciloscofia puede ser útil en ciertos casos:

- Cuando son detectados casos nuevos de tuberculosis con una posterior confirmación del cultivo como soporte a la microscopia.
- Cuando se quiere conocer el progreso después del tratamiento.
- Para confirmar que las bacterias que han crecido en el medio de cultivo (Löwenstein-Jensen en nuestro caso) son BAAR.

- 1) **Preparación del extendido:** Preparar las laminillas usando únicamente Factor o aplicadores de madera, extendiendo una muestra representativa del espécimen en un portobjetos procurando que la extensión sea de 2 a 3 cm., para lograr un mayor homogeneo del extendido y realicen movimientos de vaivén con el mismo aplicador hasta lograr una película uniforme. Pasar por la llama del mechero los bordes del portobjetos y colocarlo sobre la rejilla de

ra que se seque a temperatura ambiente. Fijar cada baculillo con el extendido hacia arriba, pasándolo 2 ó 3 veces sobre la llama del mechero.

- 2) Tinción del extendido: La capacidad de formar compuestos coloreados con los derivados del 2,6-dicloro-4-nitrofenol que resisten la acción de etanol-ácido (ácido-álcohol-resistencia), es una propiedad característica de las micobacterias. Los colorantes aniónicos derivados del 2,6-dicloro-4-nitrofenol que se emplean para poner de manifiesto dicha propiedad son: La fucsina, el cristal violeta y la carmalum. De ellos se les agrega fenol acuoso, que aumenta la penetración del colorante en los lípidos constituyentes de la pared del bacilo. Las micobacterias pierden su acidolcohol-resistencia al extraerles su capa lipídica externa por tratamiento con etanol alcalino, o al someter los bacilos secos a una molienda fina.

La integridad de la estructura celular y de las membranas de su pared son esenciales para que las micobacterias conserven ésta propiedad.

TECNICA DE ZIEHL-NEELSEN:

- Cubrir la superficie del extendido con fucsina fenolizada, brevemente filtrada.
- Calentar suavemente 2 ó 3 veces sucesivamente con la llama de un isopo de algodón embebido de alcohol, pasándolo por debajo de los portaobjetos; hasta que se observe emisión de vapor. Se debe cuidar que el calentamiento sea suave y que no produzca la ebullición del colorante. Si el volumen del colorante disminuye por evaporación se debe agregar más hasta cubrir el extendido. El tiempo mínimo de coloración con fucsina es de 5 minutos.

- Lavar con agua corriente a baja presión.
- Cubrir la totalidad de la superficie del portaobjetos - con alcohol-ácido. Dejar tiempo necesario para la decoloración.
- Lavar con agua corriente a baja presión.
- Cubrir el portaobjetos con solución de azul de metileno, la que se dejará no menos de 10 segundos.
- Lavar con agua corriente a baja presión.
- Dejar secar a temperatura ambiente sobre papel absorbente limpio.

3) Exámen microscópico del extendido.

4) Informe de resultados: Se anuncia la presencia o ausencia de BAAR conforme el siguiente esquema:

- (-) No se encuentran BAAR en 100 campos microscópicos.
- (+) Menos de un BAAR por campo, en 100 campos microscópicos.
- (++) 1 - 10 BAAR por campo, en 50 campos microscópicos.
- (+++) Más de 10 BAAR por campo, en 20 campos microscópicos.

5) Preparación de soluciones colorantes: Las soluciones colorantes se deben filtrar - con frecuencia. Idmtrar los frascos roteros cada vez - que se vacien.

a.- Fucsina, solución madre

Fucsina básica	10	gr.
Alcohol 96°	100	ml.

Disolver por agitación en un frasco.

Solución madre	10	ml.
Fenol acuoso	5.5	ml.

Agitar y agregar agua destilada hasta completar 100 ml.
Dejar reposar 24 hrs. y filtrar por papel.

-Fenol acuoso:

fenol cristalino	100	grs.
agua destilada	10	ml.

Calentar a baño maría hasta completa disolución y dejar enfriar.

b.- Azul de Metileno, solución madre

Azul de metileno	1	gr.
Alcohol 96°	100	ml.

Disolver por agitación.

-Azul de Metileno al 1 % (para coloración):

azul de metileno, sol. madre	10	ml.
agua destilada	90	ml.

Dejar reposar 24 hrs. y filtrar por papel.

c.- Solución Decolorante

Acido clorhídrico para análisis	3	ml.
Alcohol 96°	97	ml.

El ácido debe ser agregado al alcohol lentamente evitando suveamente.

III CULTIVO:

El cultivo permite diagnosticar los casos de tuberculosis broncopulmonar en los que el número de bacilos eliminados en las secreciones no es lo suficientemente alto como para ser puesto de manifiesto por una baciloscopia.

En las formas extrapulmonares de tuberculosis constituye prácticamente el único método de diagnóstico bacteriológico.

La elección del mejor medio para cultivar a las micobacterias no es fácil. El interés bioquímico son proteínas, carbohidratos y lípidos que una micobacteria es capaz de producir. Los requerimientos de nitrógeno (N) de las micobacterias, pueden ser proporcionados por simples sales de amonio una vez que el organismo se adaptó al medio de cultivo. Para el crecimiento, un requerimiento de nitrógeno complejo tal como la asparagina o ácido glutámico pueden usarse en el medio sintético. Los requerimientos de carbono (C) normalmente son dados por la inclusión de glicérol o glucosa en el medio.

La mayoría de los microorganismos, incluyendo el género Mycobacterium producen cantidades variables de CO_2 suficiente para estimular su propio crecimiento.

Algunas necesidades inorgánicas son: K, Mg, P, S, Fe, Cu, Zn, Ca; quizás las últimas cuatro no sean necesarias para estimular su crecimiento.

Tratamiento de las muestras previa al cultivo.-

El propósito del tratamiento preliminar de las especímenes clínicos antes del cultivo de micobacterias es por los siguientes motivos:

- 1.- Descontaminación: Eliminando la flora asociada, que por su desarrollo mucho más rápida que las micobacterias, impedirían su multiplicación.
- 2.- Homogenización: Obteniendo una igual distribución de los organismos en la muestra, facilitando una subsiguiente manipulación.
- 3.- Licuefacción: Del mucus y la fibrina, disminuyendo la densidad de la muestra con el fin de acercarle a la densidad del agua para su

las micobacterias sean concentradas por centrifugación.

- 4.- No dañar ni deteriorar a las micobacterias presentes, para que sobrevivan y puedan tener acceso a los nutrientes del medio después de su siembra.

En la actualidad no hay un procedimiento que reúna estas condiciones, pero el método que más se recomienda es el de Petroff con NaOH al 4%.

- A) Método de PETROFF: Fue introducido en 1915 y se demostró ser el más eficiente de los métodos de concentración.

El método en detalle está basado en la edición de NaOH al 4% como descontaminante, ya que destruye a los organismos no ácidos resistentes presentes en la muestra; además actúa como un agente mucolítico; posteriormente se neutraliza con HCl sirviendo como indicador fenolftaleína.

En este método se tendrán en consideración los siguientes hechos:

- El contacto de NaOH al 4% con la muestra a la temperatura del laboratorio, no debe ser menor de 30 minutos ni mayor de 5 hrs.
- Si la solución de NaOH usada es menor de 4%, la homogenización de la muestra es insuficiente, lo que aumenta la contaminación de los cultivos.
- Si el NaOH se utiliza a una concentración mayor al 4% la homogenización es perfecta, la contaminación nula, pero la positividad de los cultivos baja y puede llegar a desaparecer debido a que el NaOH a esta concentración no sólo destruye a los contaminantes, sino también a las micobacterias.

Procedimiento:

- Trabajar siempre a la llama del mechero.
- Evitar numeración y acomodo de muestras.
- Colocar tubos estériles en gradillas de trabajo.
- Añadir la muestra, más solución de NaOH al 4% en proporción 1:2.
- Apitar.
- Centrifugar 20 minutos a 2000 - 3000 rpm.
- Decanar sobrenadante (en fondo 5 ó 10%).
- Flanear inmediatamente los bordes del tubo y tapar.
- Aprovechar el sedimento una gota de fenolftaleína y neutralizar con HCl 2N. Procurando obtener un pH de 6.5 - 7.0 del producto a sembrar.

F) SIEMBRAS: Del producto neutralizado tomar con una pipeta Pasteur estéril y sembrar en cada tubo, de 0.3 - 0.5 ml., dejándolo escurrir sobre la superficie del medio sin tocarlo.

Si algún tubo con medio contiene agua de condensación (esta debe ser eliminada antes de sembrar).

Los pipetas Pasteur deben flanearse, lo mismo que los tubos después de abrirlos y antes de cerrarlos.

G) INCUBACION: Los tubos ya sembrados colocarlos sobre una lamina con fondo inclinado, de manera que el líquido sembrado cubra toda la superficie del medio. Se llevan a la estufa de cultivo con la tapa floja para que pueda evaporarse la parte líquida de la siembra.

A las 48 hrs. revisar los tubos y si se ha evaporado el líquido, ajustar las tapas firmemente.

La incubación debe hacerse a una temperatura que como se dijo

varía entre 35 y 37°C.

Las revisiones posteriores deben hacerse a los 7, 15, 30, 60 y 90 días.

Si existe desarrollo observar la morfología colonial y realizar frotis tíñendolos por el método de Ziehl-Neelsen para determinar si son BAAR.

Las colonias típicas del M. tuberculosis son de color crema, rugosas con aspecto de coliflor; se desarrollan en la superficie del medio y el sitio en el que se implantan no cambia de color.

Las colonias del M. bovis y algunas del M. tuberculosis resistentes a la isonicácida son más planas y de superficie lisa.

Medio de Löwenstein-Jensen: (a base de huevo)

La yema de huevo es un constituyente empleado para obtener medios de cultivo ricos en lípidos, por los que las micobacterias tienen especial preferencia. Los medios a base de huevo están, en general constituidos por soluciones reguladoras a base de fosfatos, ciertos cationes a muy bajas concentraciones, una fuente de carbono (glicerol), otra de nitrógeno (asparagina en este medio). Además se les agrega verde de malaquita u otros como protector contra la contaminación.

Este medio proporciona:

- Un máximo de crecimiento desde se usen inoculos.
- ✓Permite la aparición rápida de crecimiento para facilitar una confirmación rápida de un diagnóstico clínico de tuberculosis.
- En él crece una gran variedad de grupos y especies de micobacterias.
- Su preparación no es muy difícil.

FORMULA:

Fosfato monopotásico anhidro (KH_2PO_4)	0.4	gr
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.4	gr
Citrato de magnesio	0.6	gr
L-Asparagina	3.6	gr
Glicerina bidestilada	10.0	ml
Agua destilada	600.0	ml
Suspensión de huevos enteros	1000.0	ml
Sol. acuoso de verde de malaquita al 2%	20.0	ml
(recién preparada)		

PREPARACION: Disolver las tres primeras sales, y la asparagina en 600 ml. de agua destilada, agregar el citrato. Esterilizar en autoclave a 121°C por 30 minutos. Los huevos no deben de tener más de una semana; se limpian cuidadosamente con un cepillo, agua y jabón y se dejan 30 minutos en un decórito de agua jabonosa. Se enjuagan con agua corriente, se colocan en un cestillo de alambre y se sumergen en alcohol de 70° durante 15 minutos.

Con las manos cuidadosamente lavadas quebrar los huevos uno a uno en un vaso estéril. Esta etapa tiene por objeto limpiar cada huevo. Vaciar los huevos en un mortero con varilla de vidrio estéril y homogenizándolos; vaciar a una probeta graduada hasta completar un litro. Esta operación se hace utilizando un embudo estéril el que previamente se ha cubierto por completo con una gasa estéril, la cual tiene por objeto filtrar y retener las partículas gruesas que no se han homogenizado.

Los huevos ya medidos y homogenizados se vacían en el matraz que contiene la solución con sales, caseína y glicerol.

Agregar la solución de verde de Induita (20ml) recién preparada y esterilizada.

Mezclar bien agitando manualmente el matraz y luego dejar reposar durante media hora para que los burbujas de aire contenidas en el medio asciendan a la superficie y se eliminen.

Envasar aproximadamente 4.5 ml del medio de cultivo en tubos de ensayo de 15X15 mm. Esterilizar. Dejar el congelador a -80°C durante 16 minutos, para que solidifique el medio. Puede quedarles un poco de agua pero no deben hervir. Después de enfriar guardar en el refrigerador.

NOTA: El medio fue proporcionada ya distribuido en los tubos.

C A P I T U L O V I

RESULTADOS:

RESULTADOS DE BACILOGOPIAS ESTUDIADAS EN SINTOMÁTICOS
RESPIRATORIOS POR TBS

PERIODO DE JULIO A DICIEMBRE DE 1999.

MES DE ESTUDIO	SINTOMÁTICOS DESCRIPTIVOS ESTUDIADOS	BACILOGOPIAS POSITIVAS	%BACILOGO- PIAS POSITI- VAS P/LES
JULIO	15	1	6.6%
AGOSTO	8	0	0%
SEPTIEMBRE	30	3	10%
OCTUBRE	18	1	5.55%
NOVIEMBRE	19	1	5.26%
DICIEMBRE	10	0	0%
TOTAL	100	6	6%

RELACION ENTRE RESULTADOS DE BACILOSCOPIA Y LOS DE
 DE LAS PRÁCTICAS BACILOSCOPIA Y CULTIVO
 PERIODO DE JULIO A DICIEMBRE DE 1933.

NO. DE MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	BACILOSCOPIA	CULTIVO
1 (JULIO)	Esputo *	+++	Negativo
2 (Agosto)	Orina	-	Contaminada
3 (Agosto)	L. C. R.	No se realizó	Negativo
4 (Septiembre)	Esputo	++	Abundante
5 (Septiembre)	Esputo	+++	Abundante
6 (Septiembre)	Esputo	++	Moderado
7 (Octubre)	Esputo	++	Ligero
8 (Noviembre)	Esputo	+++	Moderado
9 (Noviembre)	Orina	-	Negativo

* Muestra con Baciloscopia positiva y cultivo negativa.

**CASOS DE TUBERCULOSIS DIAGNOSTICADOS EN EL PRESENTE
ESTUDIO POR GRUPO ETARIO**

**DURANTE LOS MESES DE JULIO A DICIEMBRE
1988.**

GRUPO ETARIO	SINTOMATICOS RESP. ESTUDIADOS	CASOS DX.	% DE CASOS DX POR GRUPO ETARIO
-1	0	0	0%
1-4	1	0	0%
5-14	2	0	0%
15-44	41	4	9.75%
45-64	35	1	2.86%
65 y más	18	0	0%
Se ignora	3	0	0%

El objetivo del presente estudio encaminado a la determinación de la Incidencia de tuberculosis en la Jurisdicción Sanitaria no. III Compostela, Nayurit., ha sido cumplido.

Estudiándose 100 pacientes y obteniendo:

6 Baciloscopías positivas

5 Cultivos positivos

De donde se captó una

INCIDENCIA = 5

Por cada 100,000 Habitantes de la Jurisdicción
5 Padecen Tuberculosis.

INCIDENCIA = $\frac{\text{No. de casos nuevos en un período determinado en una población "x"} \times 100}{\text{Población a mitad de período}}$

A continuación se anexan copias de los resultados obtenidos de tipificación y sensibilidad a medicamentos, de nuestras culturas positivas que se enviaron a la ciudad de México al Laboratorio Central de Tuberculosis, perteneciente a la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CAPITULO VII

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES:

En el presente estudio como se expuso en los resultados se obtuvieron 6 baciloscopías -' positivas y 5 cultivos positivos.

La negatividad del cultivo correspondiente a la baciloscopía positiva ++ (No. 1 de Julio) pudo deberse a:

- Que el paciente se encontraba bajo la administración de tratamiento antituberculoso y los P.A.T. observados podrían haber estado muertos.
- La presencia de hongos o contaminantes que reaccionaron al tratamiento de la muestra.
- Errores en el procesamiento de la Muestra de Pectraff.

En el capítulo III, en la página No. 14; se encuentra un esquema que contiene los casos de tuberculosis en los años 1966 y 1967; podemos ver claramente el aumento de casos. Pero para regular una comparación de nuestro estudio efectuamos el siguiente esquema que pertenece a periodos equivalentes:

CASOS DE TUBERCULOSIS DIAGNOSTICADOS EN SIEMPRETICOS
RESPIRATORIOS ESTUDIADOS POR LA SECRETARIA DE SALUD
EN LA JURISDICCION SANITARIA No. III DE COYOTEALLA,
NAYARIT, DURANTE LOS PERIODOS
1966/67 - 1967/68

PERIODO	SIEMPRETICOS RESPIRATORIOS ESTUDIADOS	CASOS	%	I
1966/67	602	20	3.32	20
1967/68	367	6	1.63	6

Nota: Como se puede observar hay disminución muy notable de casos durante el período 1987/02. Cabe señalar que 2 meses de éste período no se trabajaron; ésto influye en los datos obtenidos por la Secretaría.

Para datos más precisos es importante observar el esquema donde se exponen los casos de todo el año.-

En el período 1988/02 al que corresponde el presente estudio, los pacientes sintomáticos respiratorios fueron 100, el No. de casos: 5 y la INCIDENCIA captada 5.

Se puede concluir que la Incidencia de Tuberculosis en la Jurisdicción ha disminuido.

Se considera importante e indispensable seguir insistiendo que el éxito de todo programa de control y prevención de la tuberculosis, depende en gran medida de la colaboración entre el paciente, sus familiares y la comunidad en general; apoyando las actividades de educación para la salud.

Además, que todo enfermo tuberculoso descubierto debe ingresar a un régimen de tratamiento y terminarlo, pues sólo de ésta manera se logrará la curación del enfermo bacilífero que es quien transmite la enfermedad.

C A P I T U L O V I I I

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Freeman, B.A.: TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BUEENOS. 21a ed., México, D.F., Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1984.
- 2.- Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J., Tenet, J.P.: MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA. 3a ed., Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana., 1982.
- 3.- Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.H. Gommers, H.K.: DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana., 1983.
- 4.- Mac Fadin, J.P.: PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLINICA. México, D.F., Editorial Médica Panamericana., 1984.
- 5.- Fundenberg, H.H., Stites, D.P., Cadwell, J.L.: MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA. 3a ed., México, D.F., Editorial el Menor Moderno, S.A. de C.V., 1982.
- 6.- Pérez, J.A.: IMPORTANCIA DE LA BACTERIOLOGIA EN EL ENFOQUE ACTUAL DE LA TUBERCULOSIS. Revista Argentina de la Tuberculosis y Enfermedades Pulmonares., Buenos Aires, 38: 15-24, 1977.

- 7.- Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias: "CONTROL Y TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS HUMANA", No. 2, México, D.F., Secretaría de Salud, 1987.
- 8.- Dirección General de Medicina Preventiva: PROGRAMA DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA TUBERCULOSIS., México, D.F., Secretaría de Salud, 1987.
- 9.- Dirección General de Epidemiología: MANUAL DE TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO EN TUBERCULOSIS., México, D.F., Secretaría de Salud, 1985.
- 10.- Kantor, N. de I.: BACTERIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS HUMANA Y ANIMAL., Buenos Aires, Centro Panamericano de Zoonosis, 1979.