

44  
201.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**"FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE *Mycobacterium*  
sp. EN PRODUCTOS OBTENIDOS DE NIÑOS DE  
DIFERENTES EDADES."**  
( TESIS )

**T E S I S**  
PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
GABRIELA DELGADO SAPIEN



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

## I N D I C E

RESUMEN	pag. 1.
INTRODUCCION	2
GENERALIDADES	
1.1. Antecedentes	3.
1.2. Historia	5.
1.3. Avances en el diagnóstico	17.
1.4. Patología	22.
1.5. Inmunidad	33.
1.6. Epidemiología	36.
MATERIAL Y METODOS	
2.1. Material	42.
2.2. Metodos	44.
RESULTADOS	47.
DISCUSION	65.
CONCLUSIONES	74.
APENDICE	91.
REFERENCIAS	94.

## RESUMEN

Se revisaron 1160 muestras para cultivo enviadas al laboratorio de bacteriología del Instituto Nacional de Pediatría durante el periodo de 1974 a 1985. Estas muestras correspondieron a niños de 5 a 12 años de edad, de los cuales 80 fueron del género masculino y 103 del género femenino.

Para el cultivo se emplearon las técnicas de digestión-descontaminación de NALC y NaOH. El porcentaje de cultivos positivos fue de 34.4% para masculinos y 42.7% para femeninos, cuyos orígenes fueron diversos siendo más frecuentes, los productos relacionados con infecciones pulmonares, y los restantes, aunque numerosos fueron muy variables.

Se propone un estudio prospectivo que comprenda una correlación clínico-bacteriológica, en relación con serología y las nuevas metodologías para la identificación de micobacterias.

Según los reportes actuales las metodologías diagnósticas para la tuberculosis han avanzado, sobre todo a nivel de biología molecular e ingeniería genética, por lo que se espera que en años posteriores el diagnóstico de esta enfermedad en población infantil no sea un problema.

## INTRODUCCION

Mycobacterium tuberculosis es probablemente el agente infeccioso que mas muertes ha causado en el mundo, ha infectado aproximadamente 1/3 de la población mundial, y constituye un problema tanto en países desarrollados como en los llamados en desarrollo. (1,2)

Segun la Organización Mundial de la Salud, un "caso" de tuberculosis pulmonar se refiere a adultos que expectoran bacilos tuberculosos observados microscópicamente. Esta definición no es aplicable a niños, además de que en estos la infección se expresa en forma muy variable. (3,4).

Para la Salud Publica el interés primordial es la detección y control de la fuente infecciosa y no pretende diagnosticar las formas no bacilíferas, que son frecuentes en niños pequeños. El diagnostico se establece segun varios autores cuando se obtiene del órgano enfermo un cultivo positivo, cuando el daño tisular muestra inflamación granulomatosa, necrosis caseosa y tinción positiva para bacilos acido-alcohol resistentes. Los niños son infectados generalmente por un adulto con la enfermedad activa. (3,4)

El proposito de este trabajo fue el determinar el porcentaje de cultivos positivos de diferentes orígenes, solicitados a niños de 5 a 12 años que asisten a la consulta externa y a los hospitalizados en el Instituto Nacional de Pediatría, además de conocer la frecuencia de positividad en las muestras enviadas del mismo niño.

## GENERALIDADES

### 1.1. ANTECEDENTES.

Las micobacterias están comprendidas dentro del género Mycobacterium, son bacilos aeróbios, no móviles, no formadores de esporas, no capsulados, de lento y rápido crecimiento y ácido-alcohol resistentes; esta característica se debe a la estructura de la pared celular micobacteriana que contiene múltiples capas con abundantes lípidos, algunos de los cuales son exclusivos de este género. (5,6).

Bergey menciona que existen evidencias considerables para afirmar que los géneros Mycobacterium, Corynebacterium y Nocardia están estrechamente relacionados y referidos como grupo C.N.M., y que además se debe incluir el género Rhodococcus. (6).

La primera clasificación fue hecha por Timpe y Runyon en 1954, basándose en la morfología colonial y cromogenicidad.

Actualmente 4 grupos son reconocidos y son: a) fotocromógenos, b) escotocromógenos, c) no fotocromógenos y d) de rápido crecimiento, añadiendo un quinto grupo f) patógenos para animales, los cuales no han sido asociados a enfermedades en humanos.

En 1980, el género Mycobacterium estaba formado por 41 especies, pero recientemente otras han sido incluidas haciendo un total de 54 que se muestran en el cuadro 1 en base a su crecimiento, cromogenicidad y/o patógenesis. (7).

CUADRO 1

CLASIFICACION DE LAS MICOBACTERIAS

	Patógenos obligados u oportunistas	Saprófitos
Patógenos estrictos:	M. africanum M. leprae M. bovis M. tuberculosis M. ulcerans	
Fotocromógenos:	M. asiaticum M. marinum M. kansasii M. simiae	
Escotocromógenos:	M. scrofulaceum M. szulgai M. xenopi	M. gordonae M. flavescens
No Fotocromógeno:	M. avium M. haemophilum M. intracellulare	M. gastri M. nonchromogenicum M. terrae
Crecimiento rápido:	M. malmoense M. shimoides M. chelonae M. fortuitum	M. triviale M. neoaurum M. agri M. parafortuitum M. aichiense M. obuense M. austroafricanum M. phlei M. aurum M. pulveris M. chitae M. rhodesiae M. chubuense M. smegmatis M. diernhoferi M. sphagni M. duvalii M. tokaiense M. fallax M. vaccae M. gadium M. gilvum M. komossense M. thermoresistible
Patógenos de animales.		
Crecimiento lento:	M. farcinogens M. microti M. lepraemurium M. paratuberculosis	
Crecimiento rápido:	M. porcinum M. senegalense	

## 1.2. HISTORIA.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa granulomatosa causada por Mycobacterium tuberculosis. (8)

La relación entre el hombre y algunas micobacterias se estableció probablemente desde las etapas iniciales del desarrollo evolutivo de la especie humana. Mientras la población humana fue escasa, dispersa y aislada, con una estructura social incipiente, la tuberculosis, de haber existido, pudo haber sido un hecho aislado e individual; pero cuando el hombre llegó a vivir en espacios cerrados y estableció comunidades fijas, la infección y enfermedad adquirieron mayor frecuencia. (9)

En el siglo VII a.C., el célebre médico asirio, Arad Nanai, en cuyos escritos se mencionan prescripciones curativas y explicaciones demoniológicas de las enfermedades, considera al demonio "Asakku" como el que tenía la facultad de producir la tuberculosis. (10)

Otra evidencia de la enfermedad se encuentra en algunas momias de Egipto, en las que se observaron lesiones tuberculosas en las vértebras. (11)

Hipócrates describió los síntomas de una enfermedad llamada tisis, "consunción de la carne", y reconoció nódulos pulmonares como característica de esta enfermedad, la idea de que la enfermedad se producía por contagio aparece en los escritos de Isócrates y Aristóteles. (11)

Otro de los escritos médicos es el Caraka Samhita, de los siglos I y II d.C., en cuyo volumen Nidana-Sthana, se encuentra la descripción de distintas enfermedades entre ellas la tuberculosis; Galeno en el siglo II d.C. propone que la tuberculosis es transmitida por la respiración, concepto que fue

posteriormente abandonado por los romanos. Aproximadamente 2 siglos después, siglo IV d.C., otro médico Indio, Susruta, incluye en el Ayur Veda, una excelente descripción de la tuberculosis pulmonar. (10,11)

Entre los aztecas también era conocida dicha enfermedad, la cual era llamada "tetzauhocoliztli". (10)

En 1546 Fracastoro retoma la teoría de Galeno manifestando que el contagio de la tuberculosis era por contacto directo con gérmenes invisibles que denominó "seminaria"; Silvio describe el tubérculo en el siglo XVII. (10,11)

Al llegar la Revolución Industrial, surgieron grandes ciudades, y con ellas las malas condiciones de vida, lo cual favoreció la transmisión de la tuberculosis, y por lo tanto, la incidencia se incrementó, la cual inicialmente adquirió características casi epidémicas en la población susceptible. Esto motivó que numerosos médicos de la época se dedicaran al estudio de la enfermedad. (9,12)

Robert Whytt en 1768 hace una descripción de la tuberculosis extrapulmonar y Jean Corvisart de la tuberculosis en pericardio. En 1793 Matthew Baillie describió la apariencia de los tubérculos en diferentes estadios de su desarrollo, Bayle en 1810 llamo nódulo gris, a los pequeños tubérculos con un diámetro entre 0.5 y 2 mm. semejantes a semillas de mijo, frecuentemente tubérculos de este tamaño presentan caseificación, aunque esta puede ser mínima o estar ausente, y en este año por primera vez Leblond señala que la tuberculosis puede afectar también a la población infantil. (11,13)

No fue hasta el siglo XIX, que Laënc describió cavidades desiguales en pulmón y pequeños nódulos grises esparcidos por

varios órganos (tubérculos miliares). (12)

Aunque ya existían algunas evidencias de que la enfermedad era transmisible. Klencke, en 1843, demostró el contagio en animales; y Villemin en 1865, estableció firmemente la naturaleza infecciosa de la tuberculosis, logrando producir la enfermedad en conejos, por medio de la inoculación de material proveniente de lesiones tuberculosas pulmonares y no pulmonares del hombre. (11,12).

#### COLORACION.

La causa de las lesiones provocadas por la tuberculosis no fue conocida hasta 1882 cuando Koch descubre y aísla el bacilo tuberculoso. La presencia del bacilo fue demostrada por una tinción, que permitía observar bacterias no descritas previamente en órganos que habían sido destruidos por la tuberculosis. Este procedimiento requería 24 horas, utilizando azul de metileno potásico a temperatura ambiente o 1 hora cuando se calentaba a 40°C observándose bacilos de color azul, arreglados en manojos dentro y fuera de las células. Para demostrar que la tuberculosis era producida por esta estructura bacilar fue necesario:

a) el aislamiento y cultivo puro del bacilo. Para ello Koch utilizó un medio sólido transparente de suero de vaca o carnero, inoculado con un solo tubérculo, o con pequeños cortes de tejido infectado.

b) Reproducir la enfermedad en conejos y cobayos con el cultivo así obtenido.

c) Recuperar el mismo bacilo en cultivo puro, de los animales infectados. (14,15)

En junio de ese mismo año, Ehrlich logró teñir el bacilo en

esputos por medio de una técnica más rápida y sencilla utilizando una solución acuosa saturada de aceite de anilina mezclada con fucsina o violeta de metilo, las preparaciones teñidas durante 15 a 30 min.. de esta manera son decoloradas con una solución diluída 1:3 de HNO<sub>3</sub> concentrado, los bacilos aparecían intensamente teñidos en un fondo incoloro, por lo que se pensó utilizar otro colorante como contraste. (amarillo si los bacilos se teñían de violeta o azul cuando los bacilos se teñían de rojo). Poco después en agosto de 1882, Ziehl reemplaza la anilina por el fenol y utiliza esta coloración para el diagnóstico de tuberculosis; dos meses después, en octubre, Rindfleish, preconiza el calentamiento del colorante, empleando además calor para la tinción, y decolorando con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluído al 25%, y posteriormente como contraste utilizar una solución de azul de metileno. (15)

En 1937, Hagemann introduce un nuevo método para la detección del bacilo tuberculoso, la microscopia de fluorescencia, en la que el bacilo es teñido con un colorante fluorescente, auramina, y examinado con un microscopio ordinario equipado con filtros especiales. Posteriormente, en 1941, Bogen, compara la microscopia de fluorescencia con la técnica de Ziehl-Neelsen; encontrando que hay aproximadamente un 20% más de muestras positivas con la técnica de fluorescencia, su especificidad y sensibilidad fué confirmada por cultivos en Lowenstein-Jensen y Petragnani. (16)

Freiman y Mokotoff, en 1943, sin embargo reportaron que la superioridad de sensibilidad entre la técnica de fluorescencia y la de Ziehl-Neelsen era en realidad poca, ya que las diferencias observadas en el examen de muestras de esputo revestía poca importancia; y que sólo en lo referente a lavados gástricos se observó casi el doble de muestras positivas por fluorescencia que

por Ziehl-Neelsen. (17)

En 1946, Hallberg describió un método de coloración diferente al de Ziehl-Neelsen, en el que el bacilo es teñido por un fenil metano, el azul de noche, y decolorado con alcohol-ácido clorhídrico. En 1951, Tison mejoró esta técnica, que permitió a los daltónicos bajo luz ordinaria observar bacilos azules sobre un fondo claro. Once años después en 1962, Truant y colaboradores introdujeron otra técnica de fluorescencia, empleando la tinción con auramina-rhodamina que era altamente satisfactoria cuando se compara con las convencionales, ya que la detección de los organismos ácido-alcohol-resistentes es más rápida y confiable. (15,18)

En ese mismo año Tyan Thiam Hok. describió una técnica simplificada. utilizó dos soluciones. la de Kinyoun a base de fucsina y la de Fraenkel Gabbet, una solución saturada de azul de metileno en alcohol ácido que permite la decoloración y la recoloración del fondo de la preparación. la ventaja es la rapidez, pero los bacilos así teñidos se observan pálidos. careciendo de contraste; por esta razón, en 1963, Devulder aumentó los tiempos de los colorantes, obteniendo así mayor contraste en las preparaciones teñidas. (15,18,19)

#### MEDIOS DE CULTIVO.

Koch para el cultivo del bacilo tuberculoso una vez demostrada su presencia por tinción, utilizó suero de bovino coagulado como medio de cultivo. En 1887. Nocard y Roux. demostraron que la adición de glicerina al caldo o gelatina nutritiva. en proporciones convenientes (5%-8%), permitía un crecimiento satisfactorio de estos bacilos. A partir de entonces, los medios utilizados en el cultivo se dividieron en medios

líquidos y medios sólidos. Los medios líquidos se reservan especialmente para el estudio de las cepas, mientras que los medios sólidos se utilizan normalmente para aislar micobacterias a partir de productos patológicos. (15)

En 1894, Proskauer y Beck, formularon y describieron un medio de cultivo líquido, constituido por una solución tampón que contenía carbonato de amonio y glicerina. En 1912 Sauton, logró mejorar el rendimiento del medio de Proskauer-Beck, al agregar un aminoácido y hierro. Youmans empleó en 1947 un medio de cultivo semisintético, agregando al medio de Proskauer-Beck un 10% de suero estéril de res. 3 años más tarde, Dubos sustituye el suero de res que utilizó Youmans, por la fracción V de albúmina bovina y adición también Tween 80 al medio, lo que permitió mejorar la disociación de las masas bacilares para la obtención de un cultivo homogéneo. Más tarde en 1958, Middlebrook desarrolla el medio 7H9, que contiene un enriquecimiento a base de piridoxina, biotina, albúmina bovina y catalasa. Posteriormente, fue empleado el medio de Lockeman, enriquecido con piruvato de sodio y glucosa. (15)

En 1963, Sula, desarrolla un medio de cultivo en el que enriqueció la base con alanina, hidrolizado de caseína y verde de malaquita; este medio sin embargo puede ser utilizado para el aislamiento de micobacterias. (15)

Los medios de cultivo para aislamiento de estos microorganismos, están preparados a base de huevo coagulado, lo que les proporciona una consistencia sólida, generalmente son derivados del medio de Dorset. Lubenau, Petroff y Petragnani modificaron la fórmula enriqueciéndola y perfeccionándola; hasta que en 1931, Lowenstein desarrolla el medio que lleva su nombre, y

fue modificado por Jensen un año después, constituyendo en la actualidad el medio a base de huevo más utilizado. (15)

En 1960, Colestos propuso 3 medios de cultivo particularmente adaptados a la realización del primocultivo de las micobacterias.

El primero se trata de un medio a base de huevo. "base de Colestos", enriquecido con oligoelementos, piruvato, glutamato y eosina, permite el crecimiento más rápido de las micobacterias, y es especialmente útil para el cultivo de Mycobacterium bovis. El segundo es el medio "base de Colestos" con eosina al 20%, y el tercero es el mismo medio base con eosina exudada y adicionado con una suspensión de extractos de órganos de simio.

Estos 2 últimos medios de cultivo, son adaptados para el cultivo de bacilos en fase estacionaria y de viabilidad reducida. (15)

#### DIGESTION-DESCONTAMINACION.

Para el cultivo de micobacterias de expectoraciones es necesario emplear técnicas de descontaminación de las muestras, ya que la mayoría contienen otros microorganismos que crecen más rápido que las micobacterias, también es necesario, licuar los exudados, ya que las micobacterias están atrapadas dentro de los restos celulares y orgánicos. Por esta razón desde 1900, Spengler preconiza el empleo de vapores antisépticos (formol) además de pancreatina como descontaminante y digestivo respectivamente con el propósito de permitir la inseminación de un producto descontaminado y fluido. En 1904, Piatowski añade algunas gotas de formol directamente sobre la muestra; poco después Nattan y Larrier con la finalidad de lograr descontaminación, desarrollaron un método que consistió en calentamiento discontinuo de la muestra

durante varios minutos a 54°C.; en 1908, para expectoraciones Uhlenhut recomendó añadir un volumen igual de antiformina al 30% durante 1 o 2 horas, agitando periódicamente. Griffith en 1914 observó que el bacilo tuberculoso podía ser aislado en cultivos puros si la muestra era digerida por hipoclorito de sodio sembrando inmediatamente. El siguiente año, Petroff usó una solución de hidróxido de sodio al 3% por 30 min. como digestivo y descontaminante, este es el método que más se emplea en la actualidad constituyendo ya una rutina para el cultivo del bacilo tuberculoso. En 1924, Lowenstein y Sumiyoshi, emplearon  $H_2SO_4$  al 15%, dejándolo actuar por 15 min sobre la expectoración, después de centrifugar el sedimento se lava con suero fisiológico y se siembra. (5,15,19)

En 1926, Hohn utilizó  $H_2SO_4$  al 10% por 20 min. para expectoraciones, centrifugando y sembrando el sedimento sin neutralización ni lavado previo. Entre 1927 y 1930, Corper y Uyei, emplearon como agente descontaminante, ácido oxálico al 5% en lugar de  $H_2SO_4$ , durante un período de 2 horas a 37°C. Saenz y Costil, en 1932 desarrollaron el método de descontaminación que consistía en la acción de  $H_2SO_4$  al 15% en partes iguales durante 30 min neutralizando la mezcla con NaOH al 30%, hasta obtener una coloración lila en presencia de azul de tornasol. En 1936, MacNabb emplea HCl al 3% como agente descontaminante. (15). Corper y Stoner en 1946, reportaron que el NaOH al 3% era tóxico para el bacilo tuberculoso, y que el uso de fosfato trisódico dodecahidratado a concentraciones del 10 al 23% durante un periodo de 18 horas, como procedimiento digestivo-descontaminante permitía una mayor sobrevivencia de los microorganismos. (19). Un año más tarde, Goldie sustituye el fosfato por carbonato de amonio. (15).

Smith y colaboradores en 1949, y Roberts y colaboradores en 1950, sugirieron el uso de penicilina en el medio de cultivo para inhibir los contaminantes no eliminados por el tratamiento digestivo-descontaminante. Abbott demostró que el control de la contaminación de los esputos dependía de la acción bactericida del agente digestivo y la acción bacteriostática del medio de cultivo. (20).

Posteriormente en 1951, Jungman utiliza sobre la expectoración la acción de dos soluciones, una de sulfato de hierro en un medio con ácido sulfúrico y la otra a base de  $H_2O_2$  al 1%; diferentes sustancias fueron experimentadas en esta época como amoníaco, agua de cal, soluciones de NaCl y boratos en altas concentraciones así como la adición de penicilina al proceso digestivo sugerido por Abbott. (15,20).

Ambert en 1952, añade pepsina en medio ácido sobre las expectoraciones, centrifugando en seguida y lavando con NaOH al 1%. Yegian y colaboradores, en este año estudiaron el efecto bactericida de una solución de NaOH al 4% sobre una cepa tipo, neutralizando con ácido clorhídrico en presencia de fenoftaleína. Los resultados mostraron la muerte del 56% de los bacilos en los primeros 5 min, después de 30 min. sobrevivían solo el 28% y a los 60 min. el 11%. Los autores señalan la importancia del número de bacilos presentes para obtener un cultivo positivo. (15,21).

El uso del Zephiran fué sugerido por Freedlander, Drea, Smith y colaboradores, debido a que el bacilo tuberculoso es susceptible a la acción bacteriostática pero resistente a su acción bactericida. (20). En 1954, Hirsch reportó que el cloruro de benzalconio (Zephiran) al 0.05%, es bactericida para bacterias no

ácido-alcohol resistentes y para micobacterias saprofiticas, pero no para el bacilo tuberculoso; por otro lado, el Zephiran a una concentración de 0.0002% en medio líquido, muestra un efecto bacteriostático casi igual en bacilos tuberculosos como en otras bacterias no ácido-alcohol resistentes. (22).

Patterson, Thompson y Larsen (1956), propusieron un procedimiento de digestión y descontaminación para esputos con cloruro de benzalconio y fosfato trisódico, el cual reduce significativamente la contaminación, así como incrementa el número de aislamientos positivos en comparación con otros procedimientos estandares, como el propuesto por Petroff (NaOH y HCl) y el método de Corper y Stoner (fosfato trisódico); También determinaron el efecto bactericida del cloruro de benzalconio sobre los bacilos tuberculosos. Los resultados confirmaron que la acción bactericida del cloruro de benzalconio sobre los bacilos tuberculosos es baja, ya que Mycobacterium tuberculosis continuaba viable después de haber estado en contacto con Zephiran (dil 1:1000) por 11 días. Los resultados que obtuvieron en la digestión con fosfato trisódico más Zephiran, mostraron que es menos tóxico que el hidróxido de sodio, puesto que fue posible obtener organismos viables después de haber estado expuestos al fosfato-trisódico-Zephiran por 7 días, mientras que 3 días fue el máximo tiempo de sobrevivencia en NaOH. Los resultados anteriormente mencionados, fueron obtenidos utilizando cultivos puros, por lo que el método de fosfato-trisódico-Zephiran, fue comparado con los métodos más comunmente usados, NaOH y fosfato trisódico, en el aislamiento de micobacterias a partir de muestras clínicas, la incorporación de Zephiran con fosfato trisódico en la digestión de esputos dio 9.5 y 11.1% más de cultivos positivos de

los que se obtuvieron con los métodos estandares de NaOH y fostato-trisódico, respectivamente. (20)

En 1958 Middlebrook y Cohn describen un nuevo método enzimático de digestión de material patológico con pangestina; comparándolo con el método tradicional de digestión, NaOH al 4%. Los resultados del estudio presentado, mostraron que la digestión enzimática seguida de un tratamiento ligeramente alcalino era superior al método convencional con NaOH, ya que el nuevo método daba de 2 a 16 veces más colonias de microorganismos que el otro método. (23)

Un año después, Wayne realizó un estudio con el objeto de determinar el efecto bacteriostático del cloruro de benzalconio sobre el bacilo tuberculoso; llegando a la conclusión que este descontaminante a la concentración final de 0.05% no ejercía efecto bacteriostático significativo, cuando el cultivo se hacía en un medio de huevo, ya que la presencia de fosfolípidos inactivaba los desinfectantes cuaternarios de amonio, mientras que el cultivo en un medio de agar podría ser menos apto para la inactivación de la sal de amonio. (23)

Kubica, Dye, Cohn y Middlebrook en 1963, publicaron el procedimiento de la "digestión enzimática". N-acetil-L-cisteína con NaOH. En este estudio se demostró que este nuevo agente mucolítico tiene poco efecto bactericida sobre la flora normal o el bacilo tuberculoso, por lo que fue necesario el incluir un agente descontaminante en concentraciones más bajas. También se comparó esta técnica de "digestión enzimática" con la convencional de NaOH al 4%, por lo que el esputo fue dividido en 2 partes iguales, una de las porciones fue tratada con el procedimiento enzimático de Kubica y la otra con la técnica de NaOH

al 4%. Los resultados obtenidos empleando 7H10 como medio de cultivo tratados con N-acetil-L-cisteína y sosa, fueron: 88 cultivos positivos, de los cuales 92.1% fueron positivos después de la digestión con N-acetil-L-cisteína, y sólo el 60.2% después del tratamiento con NaOH, en general se obtuvo un mayor número de colonias con N-acetil-L-cisteína, 10 a 50 veces, que con NaOH. Los cultivos contaminados fueron para NaOH el 4.5%, mientras que para N-acetil-L-cisteína (AC) el 10.9%. (24)

Un año después Kubica, Kaufmann y Dye señalan la importancia del volumen empleado, el tiempo de tratamiento con AC, el empleo de fosfato sin llegar a neutralización, dilución del sedimento tratado, y sugieren este método como útil para emplearlo en pruebas de sensibilidad directas. (25)

Krasnow y Kidd, en 1965, propusieron para esputos, el lavado del sedimento tratado con Zephiran-TPS, con un amortiguador de fosfatos estéril para aumentar la proporción y la cantidad de crecimiento de los bacilos. (26)

En 1966, Shah y Dye, proponen el empleo de ditiotreitól en vez de la N-acetil-L-cisteína, los datos muestran un mayor número de frotis positivos cuando se empleó el ditiotreitól, en los cultivos no se especifica que número fueron positivos por cada método. (27)

En este mismo año, Krasnow y Wayne, en un estudio comparativo con el objeto de determinar la proporción de muerte del bacilo tuberculoso en muestras de esputo con Zephiran-N-acetil-L-cisteína (Z-NAC), NaOH al 3%, NaOH al 4%, fosfato trisódico al 23% (TPS), Zephiran-fosfato trisódico (Z-TPS), NaOH-N-acetil-L-cisteína (NaOH-NAC). La mezcla de Z-AC no produjo muerte de bacilos tuberculosos contenidos en esputo proveniente de varios pacientes,

y la solución de NaOH al 4% resultó ser la que producía más mortalidad, aunque los autores señalan que lo más importante es neutralizar los agentes descontaminantes a un tiempo exacto. (28)

### 1.3. AVANCES EN EL DIAGNOSTICO.

El diagnóstico de tuberculosis debe de realizarse por observación de los bacilos e identificación del Mycobacterium tuberculosis en un medio de cultivo. Desde 1898 Arloing utilizó la aglutinación como método de serodiagnóstico, pero debido a la escasa descripción y aislamiento de antígenos específicos micobacterianos así como un pobre entendimiento de la respuesta humoral en las infecciones micobacterianas no ha sido de ayuda para ser utilizado como prueba diagnóstica. Sin embargo se ha intentado usar una gran variedad de complejos antigénicos, como la prueba de PPD y BCG pero sin ningún éxito, recientemente ha sido purificada una proteína llamada antígeno 5, que relativamente es esoe específica para Mycobacterium tuberculosis. En adultos con tuberculosis pulmonar se ha demostrado que empleando este antígeno en la técnica de ELISA, los resultados son similares a los de frotis para expectoraciones. Esta técnica puede ser utilizada cuando los frotis o cultivos no tienen significancia, como sucede en la tuberculosis pulmonar de niños y en la tuberculosis extrapulmonar. Recientemente debido a los avances en inmunología y ingeniería genética, las técnicas para el diagnóstico de tuberculosis han mejorado. Se ha intentado detectar componentes estructurales de micobacterias, por técnicas especiales como la cromatografía de gases, por ejemplo el ácido tuberculoesteárico en esputo, suero y líquido cefalorraquídeo (LCR). Un método prometedor es el uso de sondas de DNA complementarias a

secuencias específicas ribosomales del género Mycobacterium y también específicamente a Mycobacterium tuberculosis. El DNA marcado radioactivamente se añade a la preparación que contiene el RNA micobacteriano, después de la hibridación la preparación se lava, y en caso de tratarse de M. tuberculosis, se obtendrá radioactividad medida en un contador gamma.

En recientes experimentos las sondas de DNA del complejo Mycobacterium tuberculosis tienen una especificidad y sensibilidad del 100%. (29)

Daniel en 1990 señala la necesidad de técnicas rápidas para el diagnóstico de la enfermedad, unas dirigidas a la detección del agente infeccioso y otras a la respuesta del huésped. Las técnicas empleadas para el agente infeccioso se dividen en aquellas en cierto modo directas y en las que emplean métodos de concentración o más específicos.

#### I. Agente infeccioso.

##### A. Métodos directos.

###### 1. Frotis directo de esputo observado por:

Microscopia de Luz.

Microscopia de Fluorescencia.

###### 2. Cultivo rápido (Bactec).

###### 3. Determinación de ácido tuberculoesteárico.

##### B. Métodos de concentración.

###### 1. Frotis de esputo de cultivo de 2 semanas.

2. Microscopia de luz ultravioleta con colorantes de Fluorescencia.

3. Cultivo de corto tiempo con investigación de antígeno por inmunoensayo.

4. Reacción de polimerasa en cadena.

## II. Respuesta del huésped.

1. Serodiagnóstico.
2. Radiología de torax.

FROTIS DE ESPUTO. Es un exámen sencillo, económico y su especificidad es alta no así su sensibilidad, que es limitada, ya que solamente los casos con frotis positivo tienen de un 20 a un 40% de cultivos positivos. Otros autores han encontrado sensibilidades desde un 22 hasta un 78%, según el laboratorio que se considere. Pero es necesario que estos frotis deban ser observados por personal entrenado. (30)

### DETECCION DE ACIDO TUBERCULOESTEÁRICO.

La determinación del ácido tuberculoesteárico, se recomienda para muestras clínicas con pocas micobacterias, en la actualidad es la mejor técnica para un rápido diagnóstico de meningitis tuberculosa. (30)

### CULTIVO DE CORTO TIEMPO.

La amplificación que proporcionan los cultivos de corto tiempo permiten detectar micobacterias que están presentes en escasa cantidad, este método no se recomienda para países en desarrollo debido a su alto costo y a su complejidad técnica.

Estos cultivos emplean la detección radiométrica de bióxido de carbono producido por el crecimiento de microorganismos (BACTEC). Alamelu Raja y cols., reportaron en 1988 la técnica de inhibición de ELISA, simple y económica que es capaz de detectar antígenos secretados por el crecimiento de micobacterias durante 2 semanas en el medio BACTEC. Friedman y cols., recientemente

emplearon también la técnica de ELISA para determinar la presencia de crecimiento de Mycobacterium tuberculosis en cultivos BACTEC antes de ser detectados radiométricamente. (30)

#### SONDAS DE ACIDOS NUCLEICOS DESPUES DE CULTIVOS DE CORTO TIEMPO.

Los ácidos nucleicos han sido usados para el desarrollo de sondas capaces de reconocer partes específicas de DNA o RNA. Su empleo permite la identificación de Mycobacterium tuberculosis y del complejo Mycobacterium avium-intracellulare, pero este no ha sido probado en muestras clínicas. probablemente el sistema de biotina-avidina es útil. (30)

#### SONDAS DE ACIDOS NUCLEICOS DESPUES DE UNA AMPLIFICACION POR LA REACCION POLIMERASA EN CADENA.

En 1989, Brisson-Noel y cols., reportan por primera vez identificaciones de Mycobacterium tuberculosis por este método en muestras clínicas, por lo que a pesar de ser costosa, este método es prometedor. (30)

#### SEROLÓGIA DE TUBERCULOSIS.

El serodiagnóstico de tuberculosis comenzó con la aglutinación directa del bacilo, realizada por Koch con resultados negativos; posteriormente se emplearon todas las pruebas de inmunoensayo como:

- a) Aglutinación de eritrocitos y partículas sensibilizadas.
- b) Fijación de complemento.
- c) Precipitación en medio líquido y geles.
- d) Radioinmunoensayo.

A partir del trabajo de Nassau en 1976, el serodiagnóstico ha sido

por ELISA, que empleó primeramente antígenos crudos y fraccionados parcialmente, esta técnica daba resultados positivos tanto para pacientes tuberculosos (con frotis positivos) como para sujetos normales, y la positividad era igual en pacientes con frotis negativos y con otras enfermedades. En 1984, Balestrino y Daniel en Estados Unidos y Ma en China usando un antígeno de Mycobacterium tuberculosis denominado antígeno 5 mostraron que las prueba de ELISA podía ser de utilidad.

Es importante señalar que el antígeno 5 es difícil de obtener y no es estable durante su almacenamiento y transporte. En México, Sada y Daniel utilizaron un antígeno de Mycobacterium tuberculosis de un peso molecular de 30,000 daltones que tiene la característica de ser estable cuando se liofiliza; encontraron una sensibilidad del 60% en pacientes con tuberculosis pulmonar y una especificidad de 100% en sujetos control con otras enfermedades pulmonares, la sensibilidad en pacientes con tuberculosis pleural y miliar es mucho más baja. En 1990, Daniel evalúa el rol de la prueba de ELISA en el diagnóstico de esta enfermedad y concluye que esta tiene un valor similar a aquel obtenido por frotis directo de esputo. (30)

Los antígenos de Mycobacterium tuberculosis son compartidos con otras especies además de tener específicos de especie; se han tratado de purificar los últimos pero ha resultado muy difícil, aunque se ha logrado aislar algunos, no han servido para el diagnóstico. Sin embargo algunos autores han empleado antígenos crudos para analizar la respuesta de inmunoglobulinas IgG (clases y subclases), este es un procedimiento caro y que emplea mucho tiempo por lo que no es recomendable como prueba de rutina. Se ha pensado como prueba más sensible, el empleo de anticuerpos

monoclonales a antígenos de carbohidratos como pruebas definitivas, pero no se ha logrado ningún resultado. (31)

Algunos autores han explicado la poca especificidad de la prueba de ELISA, debido a los bajos niveles de anticuerpos humorales y que a pesar de utilizar antígenos purificados se observan anticuerpos en individuos sanos, con lesiones tuberculosas y en aquellos que padecen enfermedades semejantes en apariencia a tuberculosis. A pesar de haber sido sugerida la determinación de anticuerpos en forma secuencial, las respuestas han estado dentro de los niveles considerados como normales. (31)

Debido a la falta de un antígeno específico y dominante además de la sensibilidad de respuesta del huésped a antígenos compartidos por micobacterias del medio ambiente y aun empleando diferentes anticuerpos monoclonales no se ha demostrado una correlación adecuada con el diagnóstico clínico, radiológico y bacteriológico. (31)

#### 1.4. PATOLOGIA

##### TUBERCULOSIS PULMONAR.

La infección tuberculosa puede localizarse en el tracto respiratorio bajo, y el pulmón es el órgano principalmente involucrado, se ha sugerido que esta predilección se debe a los requerimientos del Mycobacterium de oxígeno molecular para su crecimiento, y en esta etapa es cuando ocurren las manifestaciones iniciales de la tuberculosis.

Mycobacterium tuberculosis sin embargo puede producir infección y enfermedad en cualquier tejido y órgano, pero la enfermedad es generalmente el resultado de una diseminación de un foco pulmonar. Las manifestaciones de la

infección tuberculosa dependen de que el individuo afectado haya o no tenido experiencia previa con Mycobacterium tuberculosis constituyendo así en el primer caso la llamada infección primaria que se debe a la presencia de uno o más bacilos en los alveolos donde al ser fagocitados principalmente por macrofagos alveolares se multiplican a la misma velocidad que en un medio de cultivo. Debido a la lenta multiplicación, la aparición de síntomas requiere varias semanas; cuando el número de bacilos es significativo aparece un exudado inflamatorio celular que constituye el proceso neumónico. A pesar de que la multiplicación sea lenta la diseminación de los bacilos se hace a través de los ganglios linfáticos y de éstos al torrente sanguíneo para distribuirse a todos los órganos y tejidos, ocurriendo en algunos enfermos la muerte cuando no se administra tratamiento; en otros, la multiplicación disminuye, el proceso neumónico desaparece y cesa la diseminación, en cuyo caso la infección puede o no desaparecer.

En lactantes y escolares este proceso se reduce al complejo de Ghon, y lo constituye un pequeño nódulo calcificado subyacente a la pleura en la parte más baja de los lóbulos superiores o en la parte superior de los lóbulos inferiores y los ganglios del hilio se observan aumentados de tamaño. (32,33)

En caso de que la tuberculosis primaria ocurra en un huésped no inmune y no alérgico donde se presente una multiplicación y diseminación rápidas no hay necrosis. La inmunidad celular adquirida se produce antes que se manifieste la hipersensibilidad, una vez desarrollada la inmunidad celular el bacilo puede permanecer dentro de los tejidos humanos por muchos meses, años o toda la vida, la inmunidad celular no destruye, solo inhibe la

### multiplicación. (32)

Los focos primarios se pueden presentar en : parénquima pulmonar, anginas, mucosa intestinal (en la parte inferior del ilium y ciego) y muy rara vez en piel; independientemente de su localización los bacilos tuberculosos alcanzan los ganglios linfáticos del área, que presentan lesiones secundarias que aumentan de tamaño y se caseifican formando el complejo primario tuberculoso. Histológicamente en la primera fase de la infección en individuos alérgicos o no alérgicos hay una respuesta inflamatoria con mayor exudado; en los individuos alérgicos, sin embargo en algunos esta respuesta pasa desapercibida; posteriormente se inicia la formación del tubérculo constituido por células epitelioides (macrófagos) en la periferia, células gigantes de Langhans, alrededor fibroblastos, linfocitos y una masa central de necrosis caseosa. (13)

Las alteraciones del tejido pulmonar pueden expresarse como:

- a) Infección Progresiva Primaria, en la que las lesiones resultantes en individuos excepcionalmente susceptibles y en algunos con una resistencia promedio, pueden ocasionalmente progresar hasta que ocurra la enfermedad diseminada. La infección progresiva se presenta en lactantes y en niños menores de 5 años, y aún más frecuente en negros de cualquier edad que en los caucasicos de edades semejantes, aunque rara vez se pueden encontrar casos de infección primaria progresiva en escolares y adultos blancos. Las lesiones pueden encontrarse en cualquier parte del pulmón, pero la diseminación puede producirse por 2 métodos, el primero, en que la masa caseosa se suaviza y pasa al lumen de pequeños bronquios, de donde los bacilos contenidos en el tejido necrótico y exudado son distribuidos a través de los

bronquios a otros tejidos no involucrados de ambos pulmones. El segundo tiene como fuente los ganglios linfáticos caseosos, que se presenta principalmente en las edades más tempranas y en pocos casos a medida que se alcanza la edad adulta. En éstos los ganglios linfáticos hiliares o intrapulmonares aumentan de tamaño y necrosis, además de incluir a los bronquios adyacentes. Las paredes bronquiales se necrosan y la sustancia caseosa pasa del ganglio linfático suave al lumen bronquial, algunas veces puede presentarse bronconeumonía o el proceso desaparece dejando como residuo masas calcificadas y fibrosas. (13)

b) Tuberculosis Fibrocaseosa Crónica, se presenta en adultos y en ocasiones en niños mayores, tiene una aparición asintomática, es de larga duración y con pocas manifestaciones, se localiza frecuentemente en la mitad del apex del lóbulo superior, tiende a destrucción lenta del parénquima con formación y aumento de tamaño de las cavidades. depende en los adultos de la comunicación entre las cavidades y el lumen bronquial. En niños, los bronquios son pequeños, blandos y fácilmente colapsables, y por una oclusión espontánea de los bronquios y bronquiolos por tapones de exudado, moco y restos celulares, podríamos explicar, en parte la pequeña proporción de infecciones pulmonares progresivas y la rareza de formación de cavidades crónicas en niños en comparación de lo que sucede en adultos. La reactivación de una lesión que ha sido detenida temporalmente no es una reinfección, en el sentido patológico, más bien una progresión retardada de una lesión preestablecida. En el correcto uso del término, la única y verdadera reinfección es aquella adquirida por fuentes exógenas en un individuo que ha superado completamente una o varias infecciones previas. Debido a la confusión que originan los

términos de reinfección, Anderson sugiere emplear las definiciones de Terplan, a) progresión post-primaria, si el proceso es una extensión de una lesión primaria temporalmente inactiva, b) reinfección, si un sujeto con un proceso cicatrizado se infecta de nuevo y c) superinfección cuando en presencia de una lesión no cicatrizada se adquiere una nueva infección, y constituye la infección tuberculosa secundaria. (13)

c) Lesiones Acinares: se produce por la presencia de moco bronquial con bacilos en bronquiolos y alveolos sanos iniciándose una infección que al ser producida por un número pequeño de bacilos la formación del tuberculoma es lenta. (13)

d) Neumonía Tuberculosa: esta se presenta cuando en un tejido hipersensible sin lesión se introduce gran cantidad de antígeno, (bacilos completos o sus productos de degradación), provocando una respuesta inflamatoria muy severa. El exudado que se forma es el mismo que el producido en las lesiones de la infección primaria, pero la respuesta es más severa y el exudado más abundante, y la necrosis del tejido es más rápida. (13)

Tuberculosis secundaria. La infección secundaria empieza en los segmentos posteriores o apicales de uno o ambos lobulos, y cerca de la clavícula, tales lesiones se conocen como focos de Simon producidos durante el periodo temprano de la infección y favorecidos por la alta presión de oxígeno molecular de la región; hay una fagocitosis más rápida y las lesiones de los ganglios regionales son raras, y las pulmonares permanecen localizadas o son de progreso lento a pesar de que la caseificación ocurre más rápidamente así como la formación fibrosa de las lesiones. Esta infección secundaria puede:

- 1) Cicatrizarse y calcificarse.
- 2) Extenderse como infección progresiva pulmonar.
- 3) Afectar a la pleura con producción de fibrosis, y de adhesiones o efusiones pleurales (empiema).
- 4) Erosionar los bronquios, con invasión de los mismos, de bronquiolos, de tráquea y en ocasiones implantes en laringe.
- 5) Los bacilos pueden ser detenidos en las placas linfoides del intestino delgado y grueso para producir tuberculosis intestinal.
- 6) Tuberculosis miliar, cuando las micobacterias se dirigen a los linfáticos y sangre para distribuirlos a órganos distantes. los sitios favorecidos son la médula, riñones, bazo, hígado, suprarrenales, próstata, vesículas seminales, trompas de Falopio y meninges.
- 7) Tuberculosis progresiva de órganos aislados que puede currir en cualquiera de los órganos o tejidos afectados por diseminación miliar, los sitios mas comunes son: ganglios linfáticos cervicales (escrófula), meninges, riñones, suprarrenales, huesos, trompas de Falopio y epididimo (tuberculosis genital). (33)

#### TUBERCULOSIS MILIAR.

La tuberculosis miliar es una manifestación de la infección tuberculosa que se caracteriza por numerosas lesiones pequeñas menores o mayores de 1 mm., del tamaño de semillas de mijo.

En los adultos, así como en los niños, las lesiones son más abundantes en los pulmones, especialmente en los lóbulos superiores donde se encuentran las de mayor tamaño, en la pleura y en el parénquima subpleural. En los estadios tempranos no se

observa necrosis debido al pequeño número de bacilos presentes, si la lesión aumenta puede haber presencia de macrófagos, caseificación, células multinucleares y proliferación de fibroblastos. En otros órganos como el hígado, bazo, y la corteza subcapsular de los riñones los tubérculos son pequeños y en menor número. (13)

#### TUBERCULOSIS RENAL Y DE VIAS URINARIAS.

La tuberculosis renal es secundaria a una lesión activa crónica ulcerada presente en otro órgano, originada por una diseminación hematogena. La lesión es unilateral y se inicia en la corteza, pasa a la médula, a la papila, pelvis renal, uretero y vejiga. La retención de orina debido a la alteración de los ureteros produce cambios hidronefróticos. Al inicio de la infección se observan pocos tubérculos amarillentos en la corteza y punta de la papila, posteriormente hay caseificación que reemplaza el tejido y las cavidades hidronefróticas contienen pus espeso y cremoso. Los ureteros aumentan de diámetro y se hacen rígidos y estenosos, la infección de la vejiga empieza en el agujero uretral extendiéndose en forma irregular. (13)

La tuberculosis de la vejiga también puede ser secundaria a tuberculosis de próstata o vesículas seminales, o asociada a una tuberculosis miliar generalizada. La mayoría de la cistitis tuberculosa se debe a la implantación del bacilo tuberculoso proveniente del tracto urinario superior, formando úlceras y causando contracción por fibrosis. (13)

#### TUBERCULOSIS INTESTINAL.

Se han observado dos formas de tuberculosis intestinal:

A) Tuberculosis intestinal primaria, en la cual el microorganismo alcanza el tracto intestinal por la ingestión de alimentos lácteos contaminados con bacilo tuberculoso bovino. Se presenta en dos tipos: la hiperplásica que involucra la región de la válvula ileocecal y la ulcerativa, que afecta los ganglios mesentéricos.

B) Tuberculosis intestinal secundaria, es una complicación de la tuberculosis pulmonar cavitaria y se produce por ingestión de esputo que contiene bacilos tuberculosos. El ano puede presentar fistulas debido a infecciones en las criptas de Morgagni. (13)

#### TUBERCULOSIS OSEA.

La tuberculosis ósea frecuentemente es causada por una diseminación hematogena del bacilo proveniente de un foco activo presente en pulmón, riñón, intestino o ganglios linfáticos. Puede presentarse una extensión directa del foco caseoso en tejidos blandos adyacentes al hueso. Los niños son más frecuentemente afectados que los adultos, y se presenta en las metafisis de los huesos largos, se extiende a la epifisis y entra a las articulaciones. La tuberculosis de la columna se conoce como enfermedad de Pott. (13)

#### TUBERCULOSIS EN MENINGES.

Una de las formas más peligrosas de tuberculosis es la que afecta al sistema nervioso central. La incidencia de la meningitis tuberculosa es directamente proporcional a la prevalencia de la infección tuberculosa general, y depende del nivel socioeconómico y condiciones higiénicas de la comunidad. La enfermedad puede ocurrir en cualquier edad, es poco común en menores de 6 meses y

rara en menores de 3 meses; la incidencia más alta se presenta en los primeros 5 años de vida, y en los adultos se ha incrementado en los últimos años. En niños la meningitis tuberculosa es frecuentemente una complicación de la infección primaria, con o sin diseminación miliar; en los adultos, puede ocurrir como una forma aislada de la tuberculosis o en asociación con otra forma de la enfermedad, especialmente pulmonar o miliar. La infección puede ser fatal dentro de un periodo de 1 a 8 semanas si no es tratada, y tiene un alto riesgo de presentar severas secuelas si el tratamiento es retardado. (2)

Durante muchos años se creyó que la meningitis tuberculosa era el resultado directo e inmediato de una infección hematógena de las meninges. Rich y McCordock señalaron los siguientes argumentos para poner en duda esta hipótesis:

1) Muchos casos de meningitis tuberculosa ocurren en ausencia de tuberculosis miliar.

2) La meningitis puede estar ausente en muchos de los casos de tuberculosis miliar extrema.

3) Cuando la tuberculosis miliar y la meningitis tuberculosa ocurren al mismo tiempo, el carácter y la edad de los tubérculos miliares viscerales no corresponden con el estadio de los de las meninges y viceversa

4) La introducción de un gran número de bacilos tuberculosos en la sangre de animales susceptibles, producen tuberculosis miliar, pero no causa meningitis simultánea aún cuando la inoculación se haga a través de la arteria carótida y

5) La meningitis tuberculosa típica difusa se produce si el bacilo se introduce directamente al espacio subaracnoideo de animales susceptibles. Basados en estas observaciones,

los autores postularon que la meningitis tuberculosa se origina en 2 etapas: la inicial en que las lesiones tuberculosas en el cerebro o meninges se forman por una diseminación hematógica del bacilo durante la infección primaria, menos común, durante el curso de una tuberculosis crónica, y posteriormente por descarga de bacilos directamente en el espacio subaracnoideo y procedentes de un foco caseoso subyacente. El tipo y extensión de las lesiones que se presentan después de la descarga del bacilo al líquido cefalorraquídeo, dependen del número, virulencia del bacilo y respuesta inmune del huésped. (2)

El proceso inflamatorio frecuentemente afecta la corteza cerebral, por lo que realmente es una meningoencefalitis. (13)

#### TUBERCULOSIS GANGLIONAR.

Se puede encontrar en cualquier ganglio linfático de un enfermo con tuberculosis y se debe al escape de bacilos provenientes de focos tuberculosos. La tuberculosis en ganglios hiliares y/o mediastinales se encuentra después de una infección primaria pulmonar los ganglios mesentéricos son con frecuencia afectados en los casos de enteritis tuberculosa. (13.34)

Frecuentemente los ganglios cervicales y supraclaviculares están involucrados. En adultos, la linfadenitis granulomatosa es casi siempre causada por Mycobacterium tuberculosis, en niños y en especial en aquellos menores de 5 años, las micobacterias atípicas son más comunes. (34)

#### **TUBERCULOSIS DE SUPRARRENALES.**

Anteriormente era la causa más común de la enfermedad de Addison. esta incidencia está relacionada a la frecuencia de tuberculosis, y nunca es primaria, pero si debe de estar presente como una forma activa en cualquier otro órgano.

La tuberculosis en las suprarrenales puede ser bilateral, y es un proceso progresivo que destruye la corteza y médula. (13)

#### **TUBERCULOSIS GENITAL.**

Tuberculosis en Testículos y Epidídimo. en una tuberculosis miliar generalizada se pueden encontrar tuberculos discretos en el testículo: la infección del epidídimo que es generalmente unilateral y ocurre a cualquier edad y está asociada a tuberculosis pulmonar y tracto genitourinario. La localización del foco primario en tuberculosis genital según Young's se encuentra en las vesículas seminales y Walker. considera. que tanto la próstata como las vesículas seminales pueden ser el foco primario. (13)

Tuberculosis en Genitales Femeninos. La incidencia de la tuberculosis pélvica varía según la de la tuberculosis pulmonar. la mayoría de los casos ocurren entre los 15 y 40 años. siendo un síntoma común el dolor abdominal y anormalidades menstruales.

La diseminación es hematogena y la de un órgano pélvico a otro puede ser directa, hematogena o por vía linfática. Las lesiones en las trompas se observan en su parte distal, el endometrio se infecta de las trompas y luego al miometrio. La infección de la superficie serosa se asocia con peritonitis pélvica, y las lesiones cervicales son secundarias a las lesiones del endometrio, la vagina puede observarse como

normal o con nódulos y ulceraciones. Las lesiones del ovario son microscópicas y probablemente por vía linfática, y secundaria a la infección de las trompas. (13)

#### 1.5. INMUNIDAD.

La respuesta inmune es del tipo de inmunidad celular adquirida y se manifiesta como:

a) Una hipersensibilidad retardada específica de las micobacterias a proteínas (tuberculino positivo) o a polipeptidos de bajo peso molecular.

b) Una no específica, manifiesta por la inhibición del crecimiento de las micobacterias en los macrófagos; ambas mediadas por linfocitos.

La tuberculino reacción es específica y los linfocitos responsables de ésta producen una o varias linfotoxinas que destruyen tejidos, pero no proporcionan resistencia a la infección; así se explica que en tuberculosis secundaria haya formación de necrosis y cavidades. Los linfocitos responsables de la inmunidad celular adquirida (resistencia no específica) activan a los macrófagos por medio de una sustancia producida en conejos, que inhibe en general la multiplicación de bacterias. Hay sin embargo controversia sobre esto, pero se ha demostrado que animales inmunizados con cera D y tuberculoproteína no son más resistentes que los animales control, y animales inmunizados con complejos de RNA y proteínas, presentan una mayor resistencia a la infección a pesar de ser tuberculino negativos. Los linfocitos esplénicos procedentes de animales inmunizados con micobacterias atenuadas no producen resistencia a la infección, en cambio cuando la inmunización se hace con

complejos de RNA y proteínas de micobacterias hay resistencia, no se sabe si ésta se deba precisamente a la activación de macrófagos o destrucción de las micobacterias. En la tuberculosis primaria debido a que los individuos no son tuberculino sensibles ni tienen inmunidad celular adquirida, el proceso que se desarrolla no es destructor, y se produce una diseminación rápida de los microorganismos. En la tuberculosis secundaria no se sabe que condiciona la reinfección, sólo que cualquiera de los factores que influyen para una baja resistencia como edad, enfermedad degenerativa, terapia inmunosupresora hacen susceptible al huésped previamente infectado a la enfermedad tuberculosa, siendo ésta más difícil de sanar que la infección primaria. (32)

En 1990, Kauffman relaciona la protección que se presenta en infección tuberculosa y las alteraciones patológicas. Como se ve de las interleucinas, derivadas de las células T son importantes en la protección local, y su papel fue demostrado al emplear macrófagos de médula ósea estimulados por varias interleucinas recombinantes, y después infectados con M. bovis, identificándose el interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) como la única interleucina capaz de inhibir el crecimiento de este microorganismo dentro de los macrófagos; pero cuando éstos fueron primero infectados con M. bovis y después estimulados con IFN- $\gamma$  se observó una menor actividad de la inhibición. (35)

También los factores estimulantes de células B, interleucinas 4 y 6 (IL-4 e IL-6) tienen el mismo efecto sobre macrófagos, esto sugiere que la infección micobacteriana por sí misma, vuelve a tales macrófagos sensibles a estas interleucinas y producen una falta de respuesta al IFN- $\gamma$ . (35)

Kauffman en un trabajo previo, establece que las infecciones con bacterias intracelulares y protozoarios activan a los linfocitos T CD8 clase I restringida, estas células T lisan los macrófagos sensibilizados cuando se les enfrenta al agente homólogo. indicando que los linfocitos T citolíticos participan en la inmunidad a micobacterias. También se han involucrado los productos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase I, y que hay una asociación con ellos sin necesitar neosíntesis, sino únicamente la presencia de estas bacterias en el citoplasma es suficiente para que este mecanismo actúe; M. leprae y M. tuberculosis tienen además la capacidad de trasladarse del compartimiento endosómico al citoplásmico y así asociarse a los productos del CMH clase I. (35)

En un individuo normal aproximadamente el 90% de los linfocitos periféricos CD4 y CD8 tienen receptores compuestos por una cadena  $\alpha$  y otra  $\beta$ , el resto de los linfocitos T presentan otro receptor con cadenas  $\gamma/\delta$ ; aunque se sabe poco sobre su función, especificidad antigénica y restricción genética. (35)

Modlin, Janis, O'Brien, Holoshitz y Haregewoin, demostraron que la células T  $\gamma/\delta$  tienen una predilección particular por las micobacterias, desconociéndose si intervienen en la resistencia adquirida y que función desempeñan. Recientemente se ha demostrado que los linfocitos T  $\gamma/\delta$  activados con micobacterias y después reestimulados con M. tuberculosis producen IL-2, posteriormente Munk probó que estos linfocitos T activados con micobacterias adquieren actividad citolítica contra blancos autólogos con componentes micobacterianos, parece ser que ambos linfocitos T  $\alpha/\beta$  y  $\gamma/\delta$  juegan un papel en la inmunidad a estos patógenos y que expresan actividades funcionales semejantes; además de estos

linfocitos T las células "killer" no específicas parecen participar también en esta inmunidad. (35)

#### 1.6. EPIDEMIOLOGIA.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en 1982, estimó que cada año se reportan de 4 a 5 millones de nuevos casos de infección por Mycobacterium tuberculosis con frotis positivo, y un número igual de cultivos positivos con frotis negativos. Si esto es correcto, 10 millones de nuevos casos de tuberculosis aparecen anualmente; y aproximadamente 3 millones mueren por esta enfermedad. (1)

En los E.E.U.U. se reportaron anualmente más de 22,000 nuevos casos de tuberculosis activa, y la mortalidad es de más de 1,600 entre adultos y niños. El control de la tuberculosis fue alterado por el número de inmigrantes del sur de Asia, Haití, Camboya, Laos y Vietnam, solo en 1985 la proporción fue de 310 casos por 100,000 habitantes constituyendo así un problema de salud pública. A pesar que se han desarrollado nuevas técnicas para eliminar la tuberculosis, en general la población así como los organismos encargados de Salud Pública han mostrado poco interés en su frecuencia y diseminación. El Centro para el Control de las Enfermedades (CDC) de Atlanta, Georgia con objeto de eliminar a la tuberculosis en los E.U.A., ha dirigido su programa a grupos de alto riesgo y en especial a niños, ya que estos con infección primaria constituyen el reservorio de casos futuros. La imprecisión del diagnóstico de la tuberculosis en pediatría y el seguimiento a largo plazo hacen que el estudio de esta enfermedad y su tratamiento se dificulten, por lo que las

recomendaciones se adaptan de lo establecido para los adultos. En 1985, de 1261 casos en niños menores de 15 años, 789 o sea 63% ocurrieron en los menores de 5 años, y el intervalo de 5 a 14 años es la edad "favorecida" por la tuberculosis, ya que los niños de esta edad tienen un porcentaje menor de casos activos. Los niños frecuentemente son infectados por un adulto en el ambiente familiar. Otros ambientes como prisiones, casa hogar, asilos y guarderías pueden fomentar la transmisión, aunque los niños con tuberculosis raramente infectan a otros niños, por lo que es casi seguro que un niño con tuberculosis debió haberla contraído de un adulto con la enfermedad activa. (29)

Para América Latina, sólo se encontró el reporte del Laboratorio Central del Ecuador y de la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud (SS) de los Estados Unidos Mexicanos, en el del Ecuador no se menciona la edad de los pacientes, por lo que se desconoce la frecuencia en las diferentes edades pediátricas. (36)

En México, las tasas de morbilidad de tuberculosis pulmonar, meníngea y otras formas durante el periodo de 1980 a 1989, se observan en la gráfica 1 y cuadro 2, donde las tasas son constantes a partir de 1984, estos datos fueron los reportados a esta dependencia basados en baciloscopia en un 84.4%, 10% por otros métodos que no se menciona su naturaleza, por biopsia 2% y por cultivo únicamente el 1.1% (gráfica 2). (36)

En el cuadro 3 (gráfica 3), se puede observar la morbilidad de tuberculosis pulmonar de acuerdo a los años en que se reportaron y a los grupos de edad, para los menores de 1 año la tasa mayor fue en los años de 1987 y 1989, y la menor en el año

de 1982.

CUADRO 2

DISTRIBUCION DE LAS TASA DE TUBERCULOSIS PULMONAR, MENINGEA  
Y OTRAS FORMAS EN LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (1980-1989)

Año	LOCALIZACION			TOTAL	
	Pulmonar	Meningea	Otras formas	Tasas	Casos
1980	16.16	0.00	0.00	16.16	11,215
1981	17.76	0.00	0.00	17.76	12,651
1982	11.30	0.00	0.00	11.30	8,265
1983	15.35	0.00	0.00	15.35	11,506
1984	16.42	0.00	2.50	18.92	14,531
1985	14.28	0.00	4.85	19.12	15,017
1986	14.29	0.04	2.11	16.44	13,180
1987	15.91	0.11	2.01	18.03	14,631
1988	14.75	0.18	1.15	16.07	13,297
1989	15.91	0.23	2.24	18.39	15,489
Total					129,782

Para el grupo de 1-4 años la tasa más elevada fue en 1986 y la más baja en 1982, en la población de 5-14 años la tasa más elevada fue en 1984 y la menor en 1983, en general las tasas fueron más altas hasta 1984 para los de 5 a 14 años y más bajas para los menores de 1 año. (36)

CUADRO 3

MORBILIDAD DE TUBERCULOSIS PULMONAR POR GRUPO ETARIO  
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (1980-1989)

Año	E D A D E S					T O T A L		
	<1	1-4	5-14	15-44	45-64	<65	Tasas	Casos
1980	3.18	3.24	4.35	19.35	40.09	42.73	16.73	11,215
1981	3.47	3.63	4.76	21.58	44.71	50.48	17.72	12,651
1982	2.31	2.38	3.08	13.58	28.25	32.09	11.31	8,265
1983	3.26	3.31	4.25	18.22	38.02	43.42	15.40	11,506
1984	4.12	4.57	5.17	18.87	39.18	47.63	16.52	12,609
1985	4.32	2.69	3.62	15.64	34.80	42.03	14.38	11,211
1986	5.12	5.10	4.98	15.48	32.54	39.02	14.40	11,455
1987	6.70	4.89	4.44	17.56	33.65	44.70	15.91	12,906
1988	4.53	4.17	4.09	16.88	35.69	49.62	15.87	13,129
1989	6.93	4.37	4.04	17.80	34.11	45.76	15.91	13,406
Total								118,353

En lo que respecta a la morbilidad de tuberculosis meningea y Sistema Nervioso Central (cuadro 4 y grafica 4), sólo se reportaron datos desde 1986, pero se observa una elevación de las tasas en los menores de 1 año al igual que las de 1 a 4 años, en 1988 y 1989, en 1988 la morbilidad fue mayor para todos los grupos de edad. En los grupos de menores de 1 año, 1 a 4 años y 5 a 14 años se observó un incremento progresivo en las tasas, encontrando las más elevadas en los dos primeros grupos. (36)

CUADRO 4

## MORBILIDAD POR TUBERCULOSIS MENINGEA Y DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL POR GRUPOS DE EDAD (1986-1989)

Año	E D A D E S						T O T A L	
	<1	1-4	5-14	15-44	45-64	+65	Tasas	Casos
1986	0.10	0.10	0.02	0.02	0.04	0.07	0.04	30
1987	0.34	0.24	0.07	0.08	0.13	0.10	0.11	90
1988	0.74	0.36	0.08	0.17	0.37	0.37	0.21	170
1989	0.75	0.49	0.18	0.17	0.22	0.29	0.23	197
Total								487

En el cuadro 5 grafica 5, donde se observa la mortalidad por grupos de edad y según el año, de todas las formas de tuberculosis las tasas más elevadas fueron para los mayores de 65 años y las más bajas las de grupo de 5 a 14 años, en general las tasas bajan hasta la edad de 5 a 14 años, volviendo a elevarse en los mayores de 15 a 65 años. (36.37)

C U A D R O 5

MORTALIDAD POR TUBERCULOSIS TODAS FORMAS SEGUN GRUPOS DE EDAD EN LOS  
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. (1980 - 1987)

GRUPOS DE EDAD	1980		1981		1982		1983		1984		1985		1986		1987	
	DEF	TASA														
- 1	133	5.5	99	3.9	79	3.3	88	3.4	65	2.6	55	2.1	63	2.4	56	2.2
1 - 4	260	3.1	227	2.7	211	2.5	181	2.2	180	2.1	161	1.9	149	1.8	146	1.8
5 - 14	242	1.2	187	0.9	160	0.8	109	1.0	190	0.9	182	0.9	159	0.8	168	0.9
15 - 24	531	3.7	485	3.3	412	2.7	433	2.7	385	2.3	421	2.5	416	2.4	382	2.4
25 - 44	1751	11.4	1726	10.8	1608	9.7	1617	9.4	1608	9.0	1609	8.6	1587	8.2	1569	7.9
45 - 64	2082	30.1	1843	25.8	1954	26.4	2063	27.0	2132	27.0	2091	25.6	2062	24.4	2110	24.4
65 Y +	2156	93.3	2058	86.6	2024	82.9	2333	92.9	2363	91.0	2250	83.5	2284	81.9	2419	83.5
IGN	66		96		76		78		60		43		55		42	
TOTAL	7221	10.4	6721	9.4	6524	8.9	7002	9.4	6983	9.1	6812	8.7	6775	8.5	6892	8.5

Tasa por 100,000 habitantes.

Menores de un año tasas por 100,000 nacidos vivos.

## MATERIAL Y METODOS

### 2.1. MATERIAL.

Se analizaron los resultados de 1160 muestras de diferente origen como se ve en el cuadro 6. Que correspondieron a 191 pacientes, esto es 103 pacientes del sexo femenino y 88 del sexo masculino, que asistieron a la consulta externa o estuvieron hospitalizados en el Instituto Nacional de Pediatría, las edades fueron desde 5 a 12 años.

#### EQUIPO ESPECIAL DE LABORATORIO:

- Agitador Vortex.
- Autoclave.
- Balanza de precisión.
- Bomba de vacío.
- Campoana de flujo laminar.
- Centrifuga Internacional (más 3000 rpm).
- Coagulador a 80°C.
- Incubadora a 35°C.
- Licuadaora.
- Potenciómetro.
- Refrigerador.

#### MATERIAL DE LABORATORIO:

- Agua estéril.
- Asa de alambre.
- Batas.
- Bulbos de hule.
- Cubre bocas.
- Filtros Millipore.
- Gradillas para tubos.

**Guantes.**

**Lámpara de alcohol.**

**Mechero de gas.**

**Matraces aforados.**

**Matraces de varios tamaños.**

**Matraz de Kitasato.**

**Pipetas Pateur.**

**Porta-objetos.**

**Recipientes para eliminación de material contaminado.**

**Tubos Pyrex con tapón de rosca de 16x125 mm.**

**Tubos Pyrex con tapón de rosca de 50 ml.**

**Varillas de vidrio para soporte de tinción.**

**MEDIOS DE CULTIVO:**

**Medio de Lowenstein-Jensen.**

**REACTIVOS QUÍMICOS:**

**Acido clorhídrico.**

**Albumina bovina fracción V.**

**Alcohol etílico.**

**Azul de metileno.**

**Citrato de sodio.**

**Cloruro de sodio.**

**Fenol.**

**Fosfato monobásico de potasio anhidro.**

**Fosfato dibásico de sodio anhidro.**

**Fucsina básica.**

**Glicerol.**

**Hidróxido de sodio.**

**N-acetil-L-cisteína.**

CUADRO 6

DISTRIBUCION DE LOS NIÑOS SEGUN EL SEXO  
Y LA EDAD EXPRESADA EN AÑOS

EDAD	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
5	12	17	29
6	14	8	22
7	15	16	31
8	6	12	18
9	7	7	14
10	13	14	27
11	7	17	24
12	14	12	26
TOTAL	88	103	191

## 2.2. METODO:

Para el aislamiento y cultivo de Mycobacterium sp. cada muestra fue dividida en 2 partes iguales en tubos de centrifuga de 50 ml..Una de ellas fue digerida por la técnica de Petroff modificada. NaOH al 4%. y la otra fue tratada por la técnica de Kubica, con N-acetil-L-cisteína y NaOH al 4%.

## TECNICA DE NaOH AL 4%. (PETROFF MODIFICADA)

A la muestra se le agregó un volumen igual de NaOH al 4%. se agitó en Vortex 10 seg. para homogeneizarla y se centrifugó a 3000 rpm, por 20 min., terminada la centrifugación el sobrenadante se decantó totalmente y se le agregó una solución reguladora de fosfatos M/15 a pH. 6.8 aprx. estéril hasta la mitad del tubo y se centrifugó nuevamente a 3000 rpm. por 20 min., este procedimiento de lavado se repitió nuevamente, terminada la centrifugación el sobrenadante se decantó y el sedimento se resuspendió en agua

estéril; con pipeta Pasteur se sembraron 3 gotas en el medio de cultivo de Lowenstein-Jensen y se hizo el frotis para la tinción de Ziehl-Neelsen.

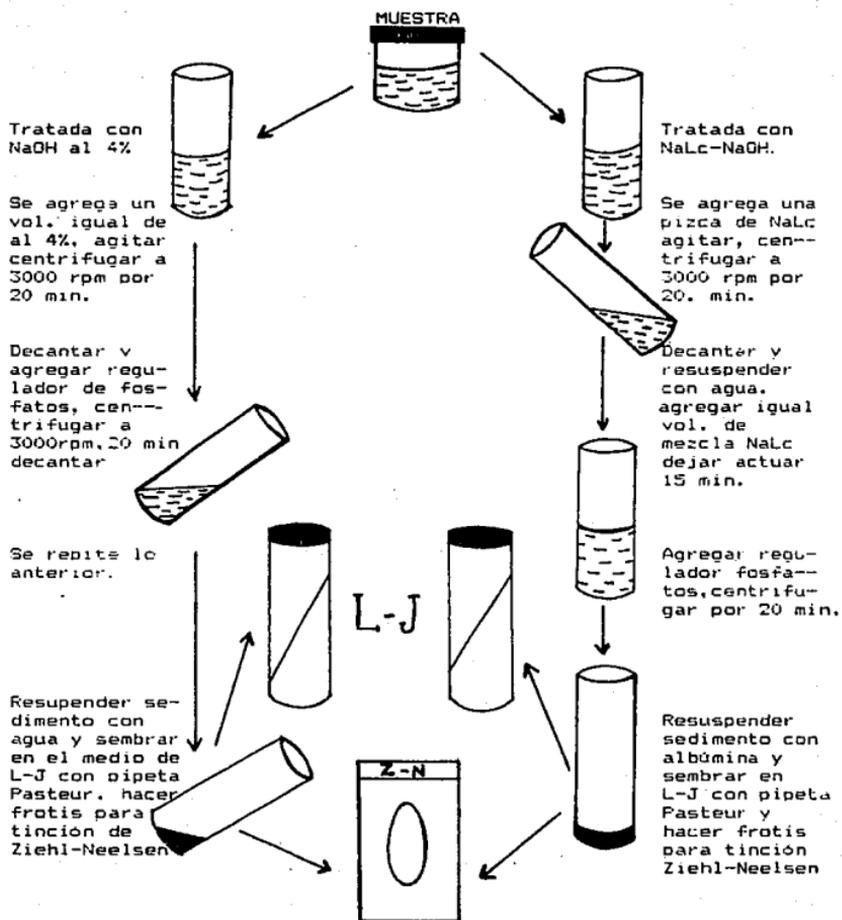
#### TECNICA DE DIGESTION ENZIMATICA CON N-ACETIL-L-CISTEINA. (KUBICA)

Se agregó a la muestra una pizca de N-acetil-L-cisteína (aprox. 0.02 g), se agitó en Vortex 10 seg. para homogeneizarla y se centrifugó a 3000 rpm. por 20 min.; terminada la centrifugación el sobrenadante se decantó y el sedimento se resuspendió en agua estéril, en seguida se le agregó un volumen igual de la mezcla digestivo-descontaminante (0.5 g. de N-acetil-L-cisteína en 50 ml. de NaOH al 4% y 50 ml. de citrato de sodio al 2.9%) y se dejó actuar 15 min.. Posteriormente se agregó solución reguladora hasta las 3/4 partes del volumen total del tubo (para minimizar la acción bactericida del Alkali) y se centrifugó 20 min. a 3000 rpm.; terminada la centrifugación se decantó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió con solución de albúmina bovina. se sembró con pipeta Pasteur en el medio de Lowenstein-Jensen (3 gotas) y se hizo frotis para tinción de Ziehl-Neelsen.

#### TINCION DE ZIEHL-NEELEN.

1. Se cubrió completamente el portaobjetos con fucsina.
2. Se calentó ligeramente a emisión de vapores de 3 a 5 minutos.
3. Se lavó con agua de la llave y se decoloró con alcohol ácido, lavándose nuevamente con agua.
4. Se colocó el colorante de contraste, azul de metileno por 3 seg., se lavó con agua de la llave y se observó al microscopio.

DIAGRAMA DE LOS PROCEDIMIENTOS DE  
DIGESTION Y DESCONTAMINACION.



## RESULTADOS

El número de cultivos positivos de las muestras recibidas en el grupo de niños de 5 a 12 años distribuidos según el sexo y expresados en porcentaje se muestran en el cuadro 7, los cultivos positivos del sexo femenino fueron 265 de un total de 626 (42.3%), y los del sexo masculino 184 de 534 (34.4%).

CUADRO 7

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS EXPRESADOS EN PORCENTAJE SEGUN EL NUMERO DE MUESTRAS RECIBIDAS			
SEXO	CULTIVOS NUMERO	POSITIVOS %	TOTAL
MASCULINO	184	34.4	534
FEMENINO	265	42.3	626
TOTAL	449	38.9	1160

En el cuadro 8, se observa el número de productos conforme al sexo y el origen. Las muestras más frecuentes fueron las orinas, y en orden decreciente los lavados gástricos, expectoraciones, líquidos cefalorraquídeos (LCR), secreciones, aspiraciones bronquiales y ganglios, hubo varias muestras de origen variado en un número de 2 a 12.

Cuando se agruparon los cultivos positivos expresados en número (cuadro 9), y en porcentajes (cuadro 10 y grafica 6) conforme al origen y sexo en relación al número de muestras recibidas, se observó en general que para el sexo femenino hubo un mayor porcentaje de cultivos positivos, 46.0% de 336, a

diferencia de 33.0% de un total de 212 del sexo masculino, con excepción de los líquidos pleurales.

CUADRO 8

DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS RECIBIDAS SEGUN  
EL SEXO Y EL ORIGEN

PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gastrico	120	196	316
Expectoracion	72	102	174
Asp. bronquial	14	22	36
Liq. pleural	6	16	22
Orina	210	220	430
LCR	46	36	82
Liq. articular	NE	2	2
Liq. peritoneal	2	NE	2
Heces	8	NE	8
Secrecion	32	10	42
Ganglio	14	16	30
Absceso	8	4	12
Biopsia	NE	2	2
Tuberculoma	2	NE	2
Total	534	626	1160

NE= muestra no enviada al laboratorio.

En el cuadro 11, se encuentra el numero de cultivos positivos y sus porcentajes en relacion al total de muestras (cuadro 12) de orinas, LCR y líquidos articulares, las niñas tuvieron un mayor porcentaje de cultivos positivos en LCR, en las orinas los porcentajes fueron semejantes para ambos sexos, el total de

CUADRO 9

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS  
CONFORME AL TIPO DE MUESTRA Y EL SEXO

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	44	91	135
Expectoración	19	45	64
Asp. bronquial	2	13	15
Liq. pleural	6	7	13
Total	71	156	227

cultivos positivos fue de 85 cultivos (32.9%) de 258 para los femeninos y para los masculinos 75 de 256 o sea 29.3%. La representación grafica de estos resultados se observa en la grafica 7.

CUADRO 10

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS  
EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	35.8	46.4	42.4
Expectoración	26.4	44.1	36.8
Asp. bronquial	14.3	59.1	41.7
Liq. pleural	100	43.7	59.1
Total	33.0	46.4	40.6

CUADRO 11

---

 DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS  
 CONFORME AL TIPO DE MUESTRA Y EL SEXO
 

---

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Orina	55	62	117
LCR	20	21	41
Liq. articular	NE	2	2
Total	75	85	160

---

El número de cultivos positivos según el sexo y el origen del siguiente grupo: abscesos, secreciones, ganglios, biopsias y tuberculomas, se observan en el cuadro 13 y su distribución porcentual en el cuadro 14 y la gráfica 8; donde los porcentajes son mas elevados para las niñas, 24 de 32 cultivos (75.0%) y para los niños de 36 de 56 (64.0%), el número de cultivos positivos fue

CUADRO 12

---

 DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS  
 EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO
 

---

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Orina	26.2	28.2	27.2
LCR	43.5	58.3	50.0
Liq. articular	NE	100	100
Total	29.3	32.9	31.1

---

CUADRO 13

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS  
CONFORME AL TIPO DE MUESTRA Y EL SEXO

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Absceso	7	4	11
Secreción	20	9	29
Ganglio	8	10	18
Biopsia	NE	1	1
Tuberculoma	1	NE	1
Total	36	24	60

mayor en abscesos, secreciones y ganglios procedentes de las niñas.

CUADRO 14

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS  
EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Absceso	87.5	100	91.6
Secreción	62.5	90.0	69.0
Ganglio	57.1	62.5	60.0
Biopsias	NE	50.0	50.0
Tuberculoma	50.0	NE	50.0
Total	64.2	75.0	68.2

En los cuadros 15 y 16, se observan los productos menos frecuentes tanto en número como en positividad, excepto para el líquido peritoneal.

CUADRO 15

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS  
CONFORME AL TIPO DE MUESTRA Y EL SEXO

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Heces	0	NE	0
Liq. peritoneal	2	NE	2
Total	2	NE	2

CUADRO 16

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS  
EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO

PRODUCTO	CULTIVOS MASCULINO	POSITIVOS FEMENINO	TOTAL
Heces	0.0	0.0	0.0
Liq. peritoneal	100	NE	100
Total	20.0	NE	20.0

Los cuadros del 17 al 24, fueron agrupados al igual que los anteriores, por sexo y origen de la muestra, pero conforme a la edad expresada en años.

El cuadro 17 (gráfica 9) corresponde a niños de 5 años, donde se puede observar que los pacientes femeninos tuvieron 90 cultivos

CUADRO 17

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 29 NIÑOS DE 5 AÑOS			
PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	14 (36)	6 (26)	20 (62)
Expectoración	1 (6)	2 (4)	3 (10)
Asp. bronquial	NE	0 (2)	0 (2)
Liq. pleural	2 (2)	NE	2 (2)
Orinas	10 (40)	12 (30)	22 (70)
LCR	0 (2)	16 (28)	16 (30)
Liq peritoneal	2 (2)	NE	2 (2)
Heces	0 (8)	NE	0 (8)
Secreción	4 (4)	NE	4 (4)
Ganglio	NE	NE	----
Biopsias	NE	NE	----
Tuberculoma	NE	NE	----
Absceso	NE	NE	----
Total	33 (100)	37 (90)	70 (190)

NE=muestra no enviada al laboratorio

( )=numero de cultivos totales enviados al laboratorio.

totales y 37 positivos, y los masculinos 33 de 100. Los lavados gástricos fueron positivos en un porcentaje más elevado para los niños; y para las niñas las orina y LCR.

Para los pacientes de 6 años, cuadro 18, el número de muestras recibidas de niñas fue de 34 con 21 cultivos positivos (61.8%), y de niños 26 de 94, o sea el 27.6% (gráfica 10). Los niños fueron positivos en un 50.0% las secreciones y los LCR, la expectoraciones 37.5%, las orinas 25.0%, para las niñas los

lavados gástricos fueron positivos en un 85.7% y las orinas 21.4%.

CUADRO 18

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN  
Y EL SEXO DE 22 NIÑOS DE 6 AÑOS

PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	1 (18)	11 (14)	12 (32)
Expectoración	3 (8)	NE	3 (8)
Asp. bronquial	NE	2 (2)	2 (2)
Liq. pleural	NE	NE	----
Orinas	10 (40)	3 (14)	13 (54)
LCR	6 (16)	NE	6 (16)
Liq. articular	NE	2 (2)	2 (2)
Ábsceso	NE	NE	----
Secreción	5 (10)	2 (2)	7 (12)
Ganglio	NE	NE	----
Biopsia	NE	NE	----
Tuberculoma	1 (2)	NE	1 (2)
Total	26 (94)	21 (34)	47 (128)

Para los de 7 años, cuadro 19 y gráfica 11. el número de cultivos positivos fueron más elevados para el sexo femenino 37 de 84 muestras (44.0%), que para el sexo masculino 20 de 80 (25.0%); los lavados gástricos en los niños 27.3% y en las niñas 45.6%, las orinas mostraron 23.1% y 31.8% respectivamente.

El cuadro 20 corresponde a niños de 8 años. y la gráfica 12 muestra los porcentajes de cultivos positivos para los diferentes productos. se recibieron para las niñas 142 muestras de las cuales 47 (33.1%) fueron positivas, y para los niños 10 de 18 (55.5%).

Para las niñas los lavados gástricos fueron 50.0% positivos,

las expectoraciones 42.5% y las orinas 12.9% de positividad.

La distribución de los cultivos positivos para niños de 9 años se observa en el cuadro 21 y sus porcentajes en la gráfica 13, el total de productos para los femeninos fueron 24 positivos

CUADRO 19

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN  
Y EL SEXO DE 31 NIÑOS DE 7 AÑOS

PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav gástrico	6 (22)	21 (46)	27 (68)
Expectoración	3 (16)	2 (4)	5 (20)
Asp. bronquial	0 (6)	4 (4)	2 (10)
Liq. pleural	2 (2)	2 (4)	4 (6)
Orinas	6 (26)	7 (22)	13 (48)
LCR	0 (2)	2 (2)	2 (4)
Liq. articular	NE	NE	----
Absceso	NE	NE	----
Secreción	NE	NE	----
Ganglio	3 (6)	1 (2)	4 (8)
Biopsias	NE	NE	----
Total	20 (80)	37 (84)	57 (164)

de 60 (40.0%), y para los masculinos 21 de 62 (33.9%). Para el sexo masculino 31.6% de las orinas fueron positivas y para el femenino 25.0% y el 50.0% de los lavados gástricos.

El cuadro 22, corresponde a los cultivos positivos de niños de 10 años, y sus porcentajes están representados en la gráfica 14, las niñas tuvieron 41.7% de cultivos positivos, 30 de 72 cultivos, y los niños 45.2% de cultivos positivos esto es 28 de un total de 62, los lavados gástricos fueron 57.1% positivos para los

niños y 31.2% para las niñas, las orinas fueron positivas en 28.6% y 43.3% respectivamente.

Para los 11 años, en el cuadro 23, se consideraron los totales de los productos recibidos, para las niñas 44 de 92 (47.8%) fueron positivos y para los niños 11 de 50, o sea 22%.

Los lavados gástricos procedentes de niñas fueron positivos en un 59.4% y para los niños en 12.5%, las orinas 25.0% y 23.1%, las expectoraciones 50.0% y 28.6% respectivamente. Su representación gráfica se observa en la gráfica 15.

CUADRO 20

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 16 NIÑOS DE 8 AÑOS			
PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	1 ( 2)	13 (26)	14 (28)
Expectoración	2 ( 8)	17 (40)	19 (46)
Asp. bronquial	NE	2 ( 4)	2 ( 4)
Lid. pleural	NE	2 ( 2)	2 ( 2)
Orinas	NE	8 (62)	8 (62)
LCR	2 ( 2)	NE	2 ( 2)
Lid. articular	NE	NF	----
Absceso	2 ( 2)	2 ( 2)	4 ( 4)
Secreción	3 ( 4)	3 ( 4)	6 ( 8)
Ganglio	NE	2 ( 2)	2 ( 2)
Biopsia	NE	NE	----
Total	10 (19)	47 (142)	59 (160)

La distribución de los cultivos positivos en los niños de 12 años se observa en el cuadro 24 y sus porcentajes en la gráfica 16, los porcentajes de los totales fueron muy semejantes en ambos

sexos, esto es 48.1% y 47.0%; para los lavados gástricos en las niñas se obtuvo 38.9% y para los niños 71.4%, las orinas 25.0% para los niños y 60.0% para las niñas.

CUADRO 21

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN  
Y EL SEXO DE 14 NIÑOS DE 9 AÑOS

PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	3 ( 6)	9 (18)	12 (24)
Expectoracion	2 ( 8)	2 ( 6)	4 (14)
Asp. bronquial	NE	4 ( 4)	4 ( 4)
Liq. pleural	NE	NE	----
Orinas	12 (38)	6 (24)	18 (62)
LCR	2 ( 4)	1 ( 4)	3 ( 8)
Liq. articular	NE	NE	----
Abceso	NE	NE	----
Secrecion	2 ( 6)	NE	2 ( 6)
Ganglio	NE	2 ( 4)	2 ( 4)
Biossia	NE	NE	----
Total	21 (62)	24 (60)	45 (122)

Los cuadros 25 y 26 corresponden a casos individuales femeninos agrupados conforme a la edad y cultivos positivos en otras muestras diferentes a lavados gástricos. El número de muestras que fueron recibidas están dentro del paréntesis .

En el cuadro 25, un total de 21 niñas de 5 a 12 años mostraron en general 56 cultivos positivos de 98 muestras de lavados gástricos: una de dos niñas de 5 años, una de cuatro de 7 años y una de dos de 9 años, tuvieron cultivos de orina positivos: una de 6 años, una de 7 años y una de 10 años además de los

CUADRO 22

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 27 NIÑOS DE 10 AÑOS			
PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	8 (14)	5 (16)	13 (30)
Expectoración	2 ( 8)	6 (18)	8 (26)
Asp. bronquial	NE	0 ( 2)	0 ( 2)
Liq. pleural	2 ( 2)	NE	2 ( 2)
Orinas	8 (28)	13 (30)	21 (58)
LCR	2 ( 2)	2 ( 2)	4 ( 4)
Liq. articular	NE	NE	----
Absceso	NE	2 ( 2)	2 ( 2)
Secreción	6 ( 8)	NE	6 ( 8)
Ganglio	NE	2 ( 2)	2 ( 2)
Bicosis	NE	NE	----
Total	28 (62)	30 (72)	58 (134)

lavados gástricos presentaron cultivos positivos en secreción la de 6 años y en ganglio las dos últimas mencionadas.

El cuadro 26 corresponde a 16 niñas, 6 de las cuales ninguno de los 30 lavados gástricos enviados fue positivo, de las otras 8 niñas no se recibió muestra. De las dos niñas de 5 años los cultivos positivos fueron de líquido cefalorraquídeo, una de 7 años tuvo cultivos positivos tanto de secreción como de ganglio; para la de 9 años solo una de 14 muestras de orina fue positiva y 2 de 4 de ganglio; la de 10 años también la orina fue positiva en una ocasión de 4, por último una de 11 años no tuvo cultivos positivos y para la de 12 años no fueron recibidas muestras, más que expectoraciones, las que fueron positivas.

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN  
Y EL SEXO DE 24 NIÑOS DE 11 AÑOS

PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	1 ( 8)	19 (32)	20 (40)
Expectoración	4 (14)	8 (16)	12 (30)
Asp. bronquial	0 ( 2)	3 ( 4)	3 ( 6)
Liq. pleural	NE	2 ( 2)	2 ( 2)
Orinas	6 (26)	7 (28)	13 (54)
LCR	NE	NE	----
Liq. articular	NE	NE	----
Absceso	NE	NE	----
Secreción	NE	2 ( 2)	2 ( 2)
Ganglio	NE	3 ( 6)	3 ( 6)
Biosisias	NE	1 ( 2)	1 ( 2)
Total	11 (50)	44 (92)	56 (142)

Los casos individuales masculinos con todos sus cultivos se observan en los cuadros 27 y 28. Los niños con cultivo de lavados gástricos positivos fueron 18, de los que 35 muestras fueron positivas de 62 recibidas; un niño de 5 años presentó además secreciones con cultivo positivo, uno de 9 años tuvo cultivos positivos en líquido cefalorraquídeo, uno de 10 años tuvo orina con aislamiento positivo a Mycobacterium sp., y por último un niño de 12 años presentó cultivo positivo en ganglio. Los niños con cultivo de lavado gástrico negativo fueron 8 y a otros 7 niños no se les tomó este tipo de muestra. El único niño de 5 años tuvo 2 cultivos positivos de 6 muestras de orina; uno de 6 años tuvo 4 de 6 secreciones, otro solo una de dos orinas y el último únicamente el líquido cefalorraquídeo fue positivo.

CUADRO 24

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN  
Y EL SEXO DE 26 NIÑOS DE 12 AÑOS

PRODUCTO	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
Lav. gástrico	10 (14)	7 (18)	17 (32)
Expectoración	2 (4)	8 (14)	10 (18)
Asp. bronquial	2 (6)	NE	2 (6)
Liq. pleural	NE	1 (8)	1 (8)
Orinas	3 (12)	6 (10)	9 (22)
LCR	8 (18)	NE	8 (18)
Liq. articular	NE	NE	----
Absceso	3 (4)	2 (2)	5 (6)
Secreción	NE	2 (2)	2 (2)
Ganglio	5 (8)	NE	5 (8)
Biodpsias	NE	NE	----
Total	31 (66)	26 (54)	59 (120)

Uno de 11 años tuvo una de 8 muestras de orina con cultivo positivo y por último uno de 12 años solo presentó muestras positivas de líquido cefalorraquídeo.

CUADRO 25

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS RECIBIDOS SEGUN SU ORIGEN, LA EDAD  
DE 21 NIÑAS CON MUESTRAS DE LAVADO GASTRICO EN LAS QUE  
SI HUBO AISLAMIENTO DE MYCOBACTERIUM SP.

EDAD AÑOS	LAVADO GASTRICO	EXPECTORACION	ASP. BRONQUIAL	LIQ. PLEURAL	ORINA	L C R	SECRECION	GANGLIO	BIOPSIA
5	1 (2)		0 (2)						
	2 (6)				3 (4)				
6	1 (2)				0 (6)				
	6 (6)						2 (2)		
7	3 (6)				0 (2)				
	4 (6)		0 (2)	0 (2)	0 (4)				
	1 (2)				2 (2)				
	2 (8)			0 (2)				1 (2)	
8	4 (6)	12 (24)	2 (2)		0 (18)				
	4 (6)				0 (6)				
	2 (2)	2 (6)	0 (2)	2 (2)	0 (2)				
	1 (4)	1 (8)							
9	2 (2)		2 (2)						
	4 (8)	2 (2)	2 (2)		4 (4)				
10	1 (6)	0 (2)							
	2 (2)	2 (2)							
	1 (2)				0 (2)			2 (2)	
11	3 (4)		2 (2)						
	4 (6)				0 (2)				
	4 (6)							0 (2)	
12	4 (6)	2 (2)							

C U A D R O 2 6

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS RECIBIDOS SEGUN SU ORIGEN, LA EDAD  
DE 16 NIÑAS CON MUESTRAS DE LAVADO GASTRICO EN LAS QUE  
NO HUBO AISLAMIENTO DE MYCOBACTERIUM SP.

EDAD AÑOS	LAVADO GASTRICO	EXPECTORACION	ASP. BRONQUIAL	LIQ. PLEURAL	ORINA	L C R	SECRECION	GANGLIO	BIOPSIA
5	0 (6) 0 (2)	2 (6)			0 (6) 0 (4)	4 (4) 2 (2)			
7	0 (6)	1 (2)							
8	0 (2)						2 (2)	2 (2)	
9	0 (2)	0 (4)			1 (14) 1 (6)			2 (4)	
10	0 (4)	1 (2) 0 (6)	0 (2)		3 (4) 1 (2) 1 (4)				
11	0 (2)	3 (6) 1 (4) 3 (4) 1 (2)	1 (2)	2 (2)	0 (4) 0 (4) 1 (6) 0 (2)			1 (2)	1 (2)
12	0 (6)	2 (4)							

C U A D R O 2 7

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS RECIBIDOS SEGUN SU ORIGEN, LA EDAD  
DE 18 NIÑOS CON MUESTRAS DE LAVADO GASTRICO EN LAS QUE  
SI HUBO AISLAMIENTO DE MYCOBACTERIUM SP.

EDAD. AÑOS	LAVADO GASTRICO	EXPECTORACION	ASP. BRONQUIAL	LIQ. PLEURAL	ORINA	L C R	ABSCESO	SECRECION	GANGLIO	HECES
5	1 (2)	0 (2)								
	5 (6)				0 (6)					
	6 (10)				0 (10)	0 (2)		2 (2)		0 (8)
7	1 (6)				0 (6)	0 (2)				
	1 (2)	0 (4)								
8	1 (2)	0 (2)								
9	1 (4)					2 (4)				
	2 (2)	0 (2)			0 (2)					
10	1 (2)				2 (4)					
	3 (6)				0 (6)					
	2 (4)				0 (4)					
	2 (2)				0 (2)	2 (2)				
11	1 (4)	1 (2)								
12	1 (2)		0 (2)		0 (2)				1 (2)	
	2 (2)	1 (2)			0 (2)					
	1 (2)				0 (2)					
	2 (2)		2 (2)							
	2 (2)		0 (2)							

C U A D R O 2 8

DISTRIBUCION DE LOS CULTIVOS RECIBIDOS SEGUN SU ORIGEN, LA EDAD  
DE 15 NIÑOS CON MUESTRAS DE LAVADOS GASTRICOS EN LAS QUE  
NO HUBO AISLAMIENTO DE MYCOBACTERIUM SP.

EDAD AÑOS	LAVADO GASTRICO	EXPECTORACION	ASP. BRONQUIAL	ORINA	L C R	ABSCESO	SECRECION	GANGLIO	TUBERCULOMA
5	0 (2)			2 (6)					
6		2 (6)		0 (6)			4 (6)		
	0 (2)			0 (4)					
	0 (2)			1 (2)					
	0 (8)			0 (6)	2 (6)				1 (2)
	0 (4)	1 (2)		0 (4)	0 (2)		0 (2)		
7	0 (6)	1 (8)	0 (6)					1 (2)	
		0 (2)		0 (2)					
10							2 (2)		
						2 (2)	2 (2)		
11		1 (4)	0 (2)						
	0 (4)			1 (8)					
12	0 (2)								
				1 (2)	2 (8)				
					4 (4)				

## DISCUSION

En este estudio se seleccionó el grupo de edad de 5 a 14 años para ser analizado debido a que en la literatura (29), este grupo se reporta como el intervalo de "edad favorecido" por la tuberculosis, en que la enfermedad es menos frecuente. Sin embargo los resultados proporcionados por la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud de México (37), muestran que de 1075 niños menores de 15 años en 1985, el 71.0% correspondieron a los de 5 a 14 años que difiere de lo reportado en los Estados Unidos, que se presenta en un 27.3% de 344 casos de blancos hispanicos menores de 15 años. En 1989, en México, esta observación se vuelve a repetir, puesto que el número de casos fue de 4940, y de estos, los niños del grupo de 5 a 14 años fueron el 67.0% (37). No se piensa que se deban comparar las frecuencias de tuberculosis en México con las reportadas en Estados Unidos, ya que el método diagnóstico en estos dos países es diferente, pero debe tomarse en cuenta que un caso de tuberculosis infantil siempre implica un contagio a través de un adulto y como en México la tuberculosis en adultos es muy frecuente, 5 a 10 veces más que en niños, es lógico que la tuberculosis de la niñez también lo sea y no haya una edad favorecida (29).

El diagnóstico de esta enfermedad, según la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud de México, se hace principalmente en base a frotis, en un 84.4% de los casos, por lo que conociendo el antecedente de que los frotis no son frecuentemente positivos en adultos (del 25% al 40%) y en niños debido a su incapacidad de producir una buena muestra y de que el número de bacilos presentes en las secreciones es escaso, el número de casos probablemente es aun mayor al

reportado aunque no pueda afirmarse, ya que el método diagnóstico de tuberculosis en este grupo de edad no fue especificado por la Dirección General de Epidemiología. Se recordará que para tener un caso de tuberculosis, la enfermedad debe de estar bacteriológicamente confirmada, por lo que se requiere el aislamiento e identificación de Mycobacterium tuberculosis. (3,4,29,30,37)

En este trabajo se estudiaron únicamente los niños de 5 a 12 años, que corresponden a los escolares de la clasificación de Gomez, ya que se piensa que esta clasificación es más adecuada que la de 5 a 14 años que hace la Dirección General de Epidemiología de México.

Al analizar el número de pacientes con respecto al sexo, los datos se muestran en el cuadro 6, el número de niñas fue casi igual que el de niños, sin embargo debe de recordarse que se deben relacionar al número de ingresos de niños de esta edad al hospital; durante los años de 1974 a 1985, estos fueron 12,664 femeninos por 17,185 masculinos (datos proporcionados por el archivo del Instituto Nacional de Pediatría), así 8 niñas v solo 5 niños de cada 1000 ingresos tienen cultivos positivos a Mycobacterium sp., aunque hay que mencionar que el número de solicitudes para la investigación del bacilo tuberculoso fue el mismo para ambos generos. No se puede especificar en que bases se hizo la solicitud de investigación y cultivo del bacilo puesto que este trabajo no implica una correlación clínico bacteriológica, ni tampoco se puede asegurar que la tuberculosis en niñas de 5 a 12 años sea más frecuente que en niños de esta edad, habría que hacer una investigación más profunda sobre las características de la familia, y estado socio-económico en cada uno de los casos.

El número de muestras enviadas al laboratorio de los 191 niños comprendidos en la edad mencionada, fue de 1160 (cuadro 7) más numerosas por supuesto para las niñas. también hubo un número mayor de cultivos positivos para este sexo no se puede afirmar o negar que el número de muestras enviadas haya influido para que el porcentaje de positivos haya sido mayor ya que se debe considerar que para que una muestra sea positiva hay varios factores involucrados:

- a) Desde el origen de éstas.
- b) El número de bacilos presentes.
- c) El manejo adecuado de la muestra.

d) Las posibilidades de contaminación con bacterias que destruyan el medio de cultivo y no permitan la observación del desarrollo del Mycobacterium sp.

Considerando los diferentes orígenes de muestras (cuadro 8), se observa un número mayor de orinas, que es lógico puesto que se recordará, que es necesario enviar una serie de muestras de orina y medio para poder cultivar el bacilo con mayor seguridad si está presente, el número fue semejante para los dos géneros, a pesar de que las niñas fueron más numerosas (38). Los lavados gástricos siguieron en frecuencia, se cree que son más abundantes que otras muestras por la dificultad que presenta el obtener expectoraciones en niños, que si es difícil obtener muestras adecuadas de adultos, mucho más es en niños que no saben expectorar, y este método según otros autores sustituye a las expectoraciones (3). El número de aspiraciones bronquiales es pequeño 36, debido a que este procedimiento se utiliza en casos muy especiales, ya que implica un procedimiento quirúrgico y con personal entrenado, estas muestras fueron más numerosas para las

niñas que en cierto modo es lo esperado puesto que el número de niñas es mayor. Las siguientes muestras más frecuentes fueron el líquido cefalorraquídeo, más numeroso para los niños que para las niñas, el resto del tipo de muestras fue muy variable esperando que en estudios posteriores se envíen al laboratorio un mayor número de ganglios, ya que en un Instituto asisten a consulta numerosos pacientes con masas ganglionares, que generalmente son extraídas y enviadas a patología para estudio histológico y diferenciación con otros procesos etiológicos; por lo que se recomendaría que parte de cada una de estas muestras se enviaran al laboratorio de bacteriología para su cultivo.

Al analizar la gráfica 6 (cuadro 8, 9 y 10), se ve que para el género femenino el porcentaje de cultivos positivos es muy semejante tanto para lavados gástricos, expectoraciones, aspiraciones bronquiales y líquidos pleurales en cambio para los masculinos, los porcentajes son muy variables especialmente en lo que se refiere a aspiraciones bronquiales (2 de 14), y los líquidos pleurales (6 de 6) que hacen variar los porcentajes. En este estudio no se hizo investigación del porque de estos resultados, ni se puede siquiera sugerir si el estado de evolución de la enfermedad y las características clínicas eran diferentes en cada género.

Los productos considerados en el cuadro 11 (gráfica 7) presentan diferencias en el porcentaje de cultivos positivos con respecto al género femenino pero debe tomarse en cuenta el número de muestras enviadas (cuadro 8) y además que en ocasiones las muestras fueron muy pocas o no se enviaron (especialmente los resultados del cuadro 15), por lo que no pueden ser discutidos.

Convendría en un estudio prospectivo dilucidar si el género

influye en el porcentaje de cultivos positivos a esta bacteria, para los diferentes productos. Cuando se hicieron las distribuciones de los niños por años (cuadro 17 al 24, cuyas representaciones están en las graficas 9 a 16). se vio que no hubo predominancia de cultivos positivos, en los de 5 años con respecto al género hubo 33% de masculinos y femeninos 41.1%, en los de 9 años (masculinos 33.8% y femenino 40.0%), en los de 10 años el masculino 45.1% y femenino 41.6%, y en los de 12 años 46.9% y 48.1% respectivamente; sin embargo la positividad fue mucho mayor en las niñas de 6 años 61.7% en femeninos a 27.6% en masculinos, de 7 años (44.0% a 25.0%), de 11 años (47.8% a 22.0%), y los de 8 años fue el unico grupo de edad que presenta un mayor predominio de niños (55.5% a 33.1%).

Todas estas comparaciones no pueden ser validas, aunque si deben señalarse, porque difieren en el numero de muestras de un sexo a otro, por lo que para tener resultados comparativos habria que realizarse, como ya fue sugerido un estudio prospectivo en niños con tuberculosis, diagnosticada sobre bases epidemiologicas y solicitando las mismas muestras de los diferentes productos para hacer comparaciones conforme a la edad y el sexo.

Los cuadros 25 y 26 muestran los cultivos positivos de 37 de 103 niñas que tienen varias muestras positivas: 21 de ellas (cuadro 25) tuvieron lavados gastricos positivos en número variable, y cultivos positivos e negativos en orinas, expectoraciones, aspiraciones bronquiales, líquidos pleurales, ganglios y secreciones, lo que confirma lo observado por otros autores (29), que las muestras de estos productos pueden o no dar cultivos positivos dependiendo del número de bacilos presentes y

la rapidez del procesamiento de la muestra. (38). Como en este trabajo no se hizo una correlación clínico-bacteriológica, no puede sacarse ninguna conclusión de si se trataba de tuberculosis diseminada o limitada a un órgano, en cada caso particular habría que revisar el expediente clínico para analizar lo anteriormente mencionado. desafortunadamente este estudio es una revisión retrospectiva, y como los 21 casos no tienen el mismo número y tipo de muestras no se pueden sacar conclusiones. En lo que se refiere a expectoraciones es comprensible que en el grupo de niñas menores de 7 años no hayan sido enviadas muestras, y en la de 8 a 12 años con excepción de las de 11 años si tengan este tipo de muestras con resultados variables, pero esto es explicable ya que las expectoraciones son muestras difíciles de obtener en adultos y mucho más en niños. No se sabe con que criterio se hizo la toma de aspiración bronquial pero hay que recordar que esto implica un proceso más agresivo y costoso por lo que en ocasiones no es posible obtener. Las muestras de orina tienen resultados variables por lo que sería conveniente revisar si estas niñas tienen urografía o unicamente fue solicitado el estudio de BAAR con objeto de determinar una diseminación de esta bacteria. En el cuadro 26 se observan los resultados de 16 niñas con muestras de diversos orígenes, en 8 de ellas se encontró solicitud de investigación de BAAR en lavados gástricos que a pesar de ser varios no mostraron cultivos positivos aunque en otros productos si, hay que recordar que los lavados gástricos son muestras que tienen que ser procesadas en un máximo de 4 horas después de haberse colectado o bien ser neutralizadas con la finalidad de que la acidez no afecte la viabilidad de los bacilos, esto último podría explicar que en 3 niñas de 7, 11 y 12 años tengan lavados

gástricos negativos al cultivo pero positivos a las expectoraciones. En otras 5 niñas, de 5, 9 y 11 años, con expectoraciones positivas no fueron tomados lavados gástricos, en cambio cuando se consideraron las aspiraciones bronquiales de las niñas del grupo con lavado gástrico positivo (cuadro 25), 4 de 7 niñas de 8, 9 y 11 años, presentaron cultivos positivos de las aspiraciones bronquiales, y de las niñas del otro grupo (cuadro 26) solo una presentó aspiración bronquial con cultivo positivo; debe recordarse que hay que tener el mismo cuidado y las mismas consideraciones para este tipo de producto que para los lavados gástricos y expectoraciones que son sometidos a los procesos de digestión-descontaminación. De las 37 niñas que comprenden estos últimos cuadros 25 y 26, solo 2 niñas de 5 años con lavados gástricos negativos presentaron cultivos positivos de líquido cefalorraquídeo, indicando quizá un estado muy avanzado de la enfermedad.

En los niños, fueron 12 con lavado gástrico positivo (cuadro 27), y 8 de 15 (cuadro 28) con lavados gástricos negativos. En los niños con cultivos positivos de lavados gástricos, solo 2, uno de 11 y el otro de 12 años, tuvieron expectoraciones positivas, y en los de 5, 7, 8 y 9 años no hubo expectoraciones positivas probablemente por no ser adecuada la muestra, solo 3 fueron sometidos a la toma de aspiración bronquial y solo 1 tuvo cultivo positivo, de las orinas únicamente 1 niño de 10 años presentó muestra positiva a pesar de que a 11 de ellos se les solicitó la investigación de BAAR; para líquidos cefalorraquídeos, a 4 niños se les solicitó la búsqueda y cultivo y 2 de ellos tuvieron cultivos positivos, ambos también presentaron cultivos positivos de lavados gástricos, pero se ignora si había

diseminación de la enfermedad debido a que no se tomaron otro tipo de muestras. En los de lavado gástrico negativo (cuadro 28), 2 de ellos tenían expectoraciones con cultivo positivo (de 6 y 7 años), hubo además otro sin toma de lavado gástrico. Las orinas en su mayoría fueron negativas, con excepción de 1 niño de 11 años del grupo de niños con lavado gástrico positivo y en 3 niños de 6 del grupo de lavados gástricos negativos, esto resultados confirman la impresión de llevar a cabo un estudio prospectivo que incluya tomas de muestra conforme a un esquema y la correlación clínico bacteriológica a pesar que en niños los síntomas y signos son muy diversos y diferentes a los que presentan los adultos.

A pesar de que recientemente la tuberculosis es una enfermedad que está afectando de nuevo no solo a los países en desarrollo sino también a los desarrollados, a poblaciones con un estado nutricional deficiente, o bien nutridos y a aquellos inmunológicamente comprometidos: el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico y la aplicación de biología molecular han hecho que la tuberculosis, cuyo agente etiológico no solo sea el Mycobacterium tuberculosis sino también otras especies de micobacterias altamente resistentes a farmacos vuelvan a ser tema de publicaciones y objeto de investigación. Con el advenimiento de la biología molecular y el conocimiento más avanzado de la inmunidad celular, se han hecho sugerencias sobre la investigación de antígenos micobacterianos en el suero de pacientes enfermos, por investigadores como los doctores Sada y Daniel, que emplean la determinación de un antígeno de 30 KD y/o la presencia de otro antígeno contenido en la pared celular de la micobacteria denominado lipoarabinomano, aunque su papel se desconoce en niños.

Jacobs y colaboradores han empleado fasmidos "shuttle" para el análisis de genes involucrados en la patogenicidad de micobacterias, con tal metodología pueden emplearse huéspedes micobacterianos de rápido crecimiento como Mycobacterium smegmatis. (39).

Para finalizar se piensa que la tuberculosis es una enfermedad cuyos métodos diagnósticos son difíciles de establecer ya que el estudio bacteriológico se ha dificultado por su lento crecimiento y se desconoce la relación que existe con bacterias de flora normal y no patógenas en huéspedes normales, quizá con el advenimiento de tecnología más avanzada como ingeniería genética, avances en inmunología y metodología que permita la identificación rápida de la enfermedad, podamos entender mejor a Mycobacterium tuberculosis y al padecimiento que ha afectado a la humanidad durante tantos años.

## CONCLUSIONES

1°. El manejo de las muestras especialmente las llamadas contaminadas, debe de hacerse en condiciones estrictas, para evitar la muerte de los bacilos, y esto dependerá de las mezclas digestivo-descontaminantes y el tiempo que se tarde en neutralizar los productos.

2°. La frecuencia de la tuberculosis infantil en Mexico está determinada por el número de adultos bacilíferos y no es comparable a las frecuencias de otros países.

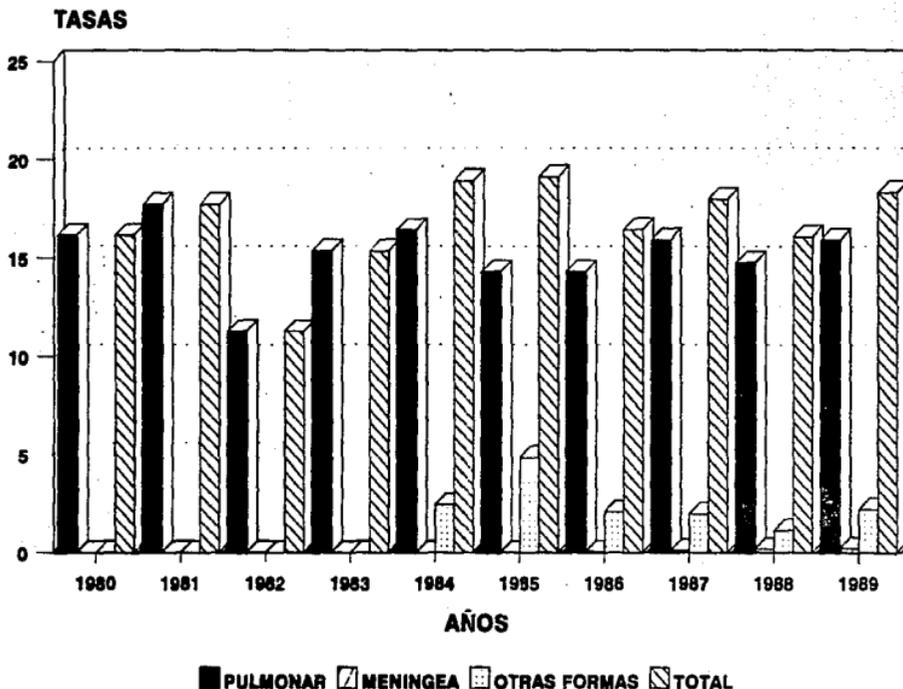
3°. El diagnóstico de tuberculosis no tendrá que limitarse en adultos a únicamente estudios de frotis, sino que convendría establecer técnicas más adecuadas y sobre todo obtener cultivos que confirmen la enfermedad, que aunque es más costoso podría a la larga ayudar a que esta enfermedad no sea tan frecuente en niños.

4°. En Mexico así como en Estados Unidos se están haciendo esfuerzos por lograr metodologías más eficaces para el diagnóstico de esta enfermedad.

5°. No se debe olvidar que a pesar de ser una enfermedad conocida durante muchos siglos su prevalencia sigue siendo elevada a pesar de todos los adelantos en salud pública y epidemiología.

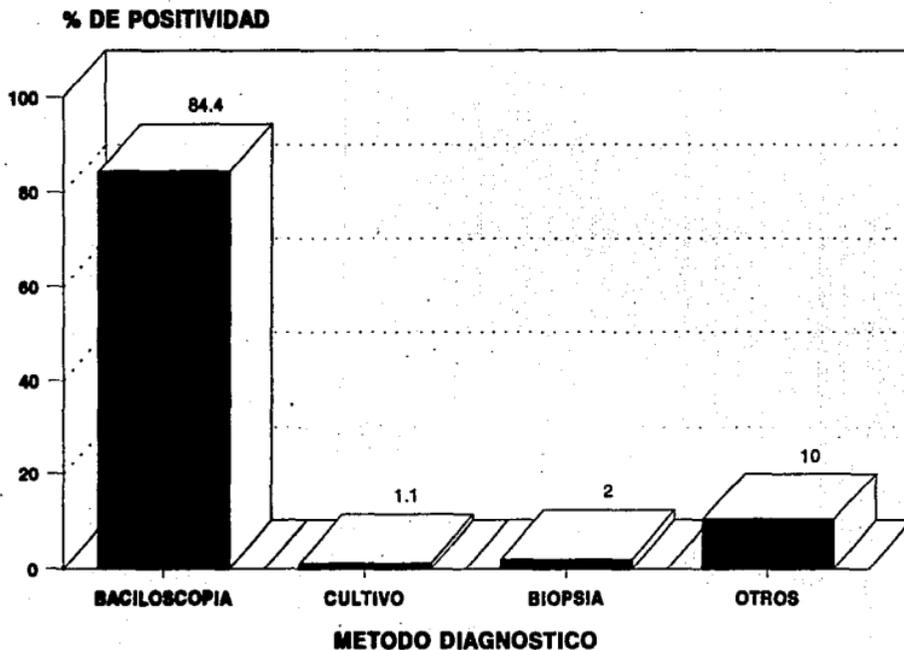
6°. Es importante el cultivo para determinar las especies predominantes y su sensibilidad a los fármacos empleados tradicionalmente.

# DISTRIBUCION DE TASAS DE TUBERCULOSIS PULMONAR MENINGEA Y OTRAS FORMAS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (1980-1989)



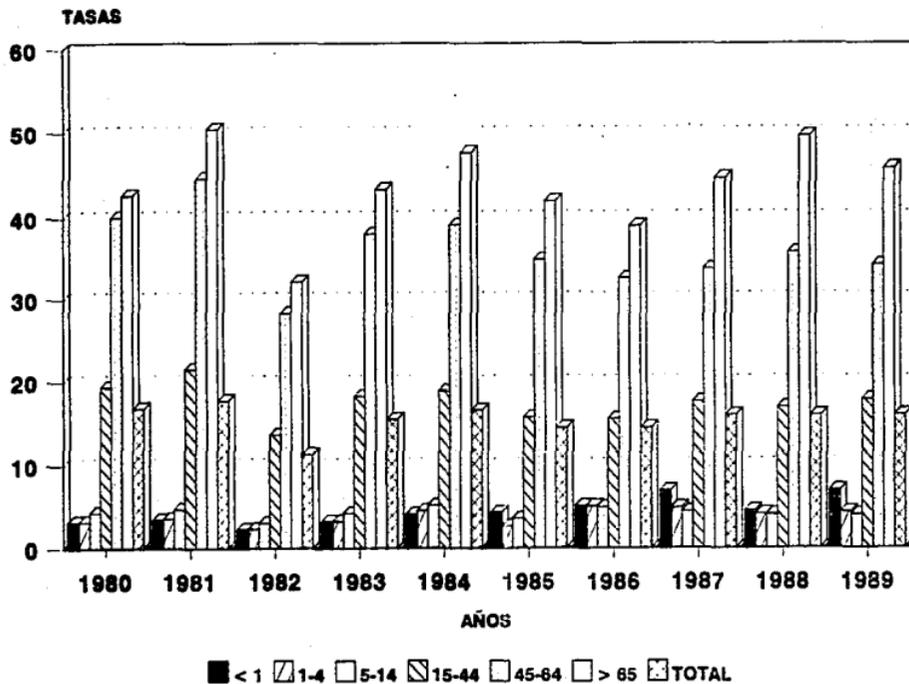
**GRAFICA 1**

# DISTRIBUCION DEL METODO DIAGNOSTICO PARA LOS CASOS REGISTRADOS DE TUBERCULOSIS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS



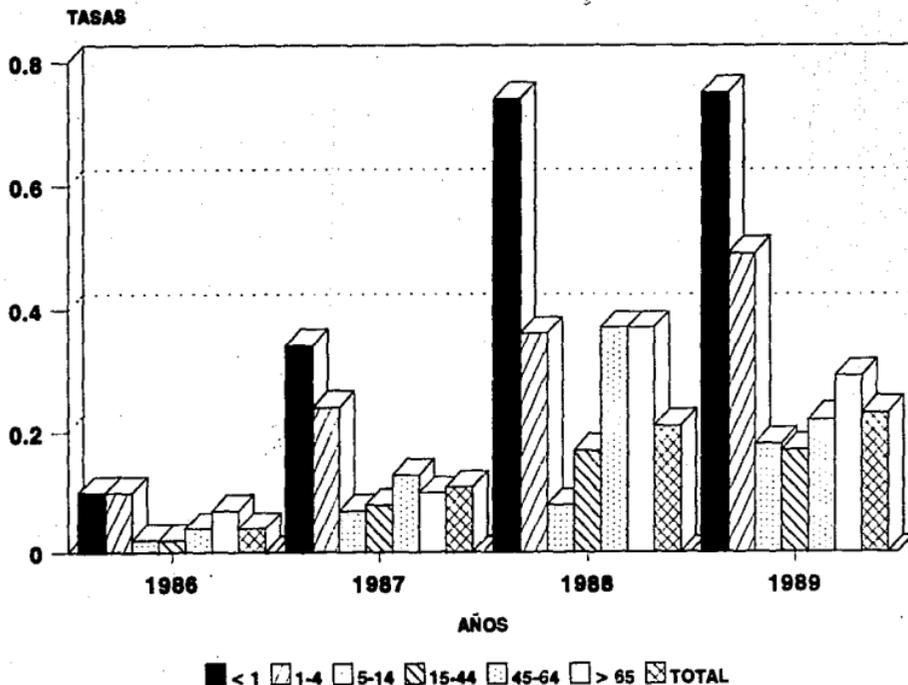
DATOS HASTA MARZO 1990  
GRAFICA 2

# MORBILIDAD DE TUBERCULOSIS PULMONAR POR GRUPO ETARIO ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (1980-1989)



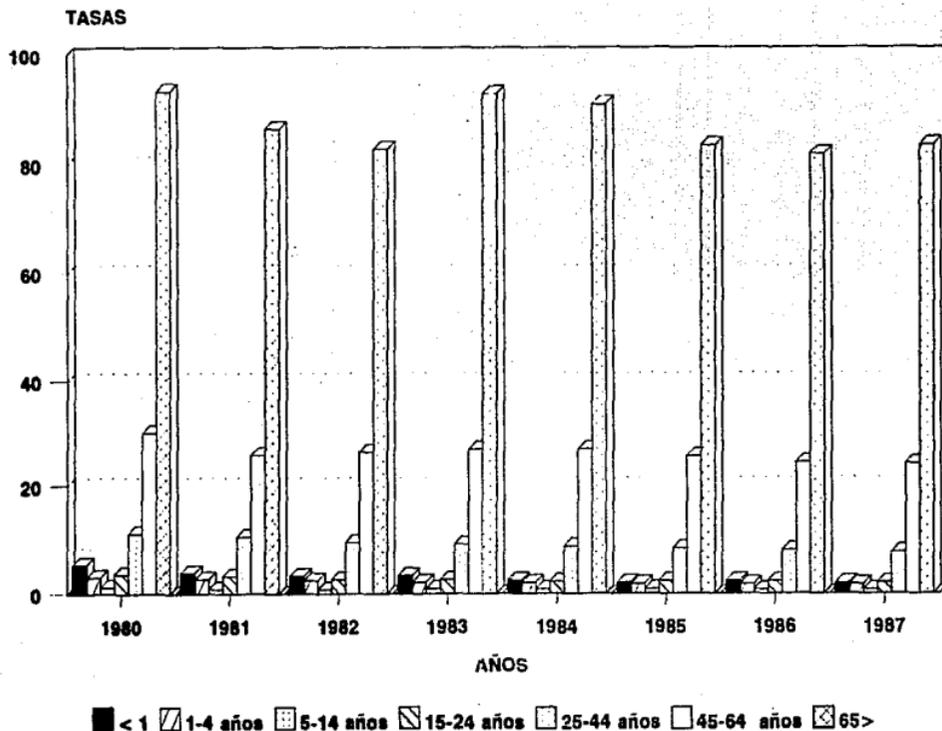
GRAFICA 3

# MORBILIDAD DE TUBERCULOSIS MENINGEA Y DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (1986-1989)



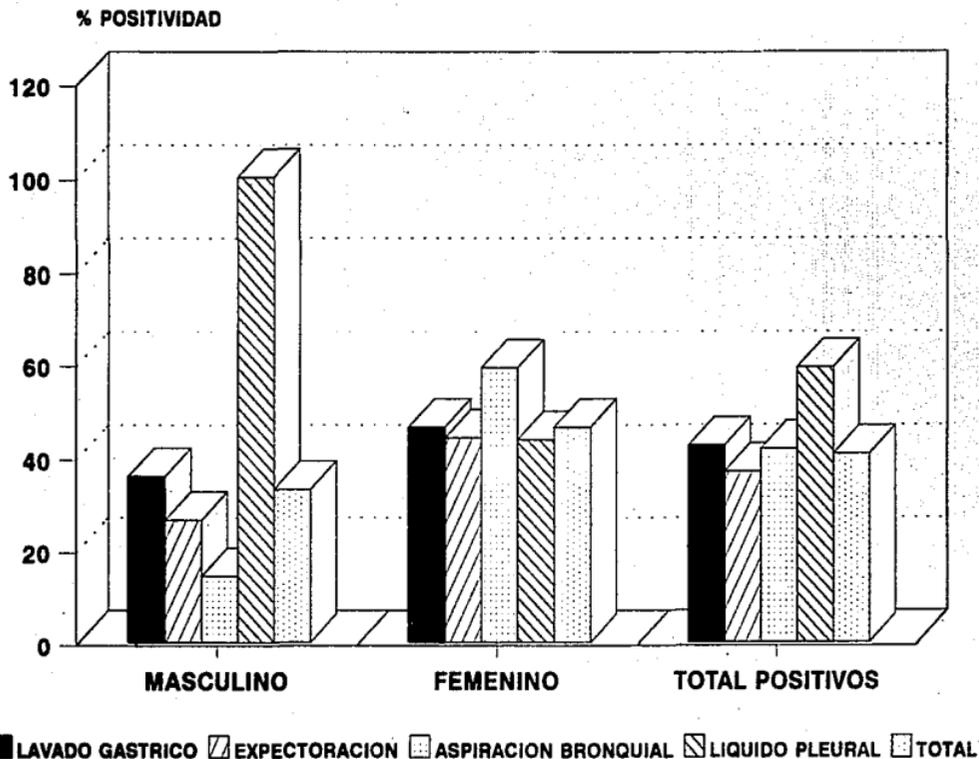
GRAFICA 4

# MORTALIDAD POR TUBERCULOSIS TODAS FORMAS SEGUN GRUPOS DE EDAD ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (1980-1987)



GRAFICA 5

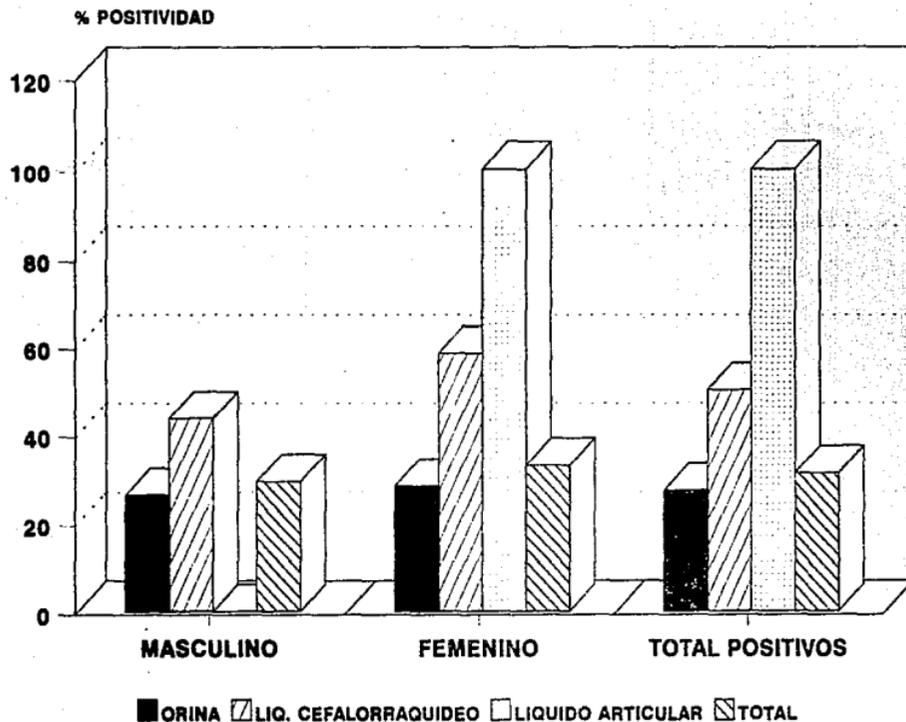
# DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO



ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

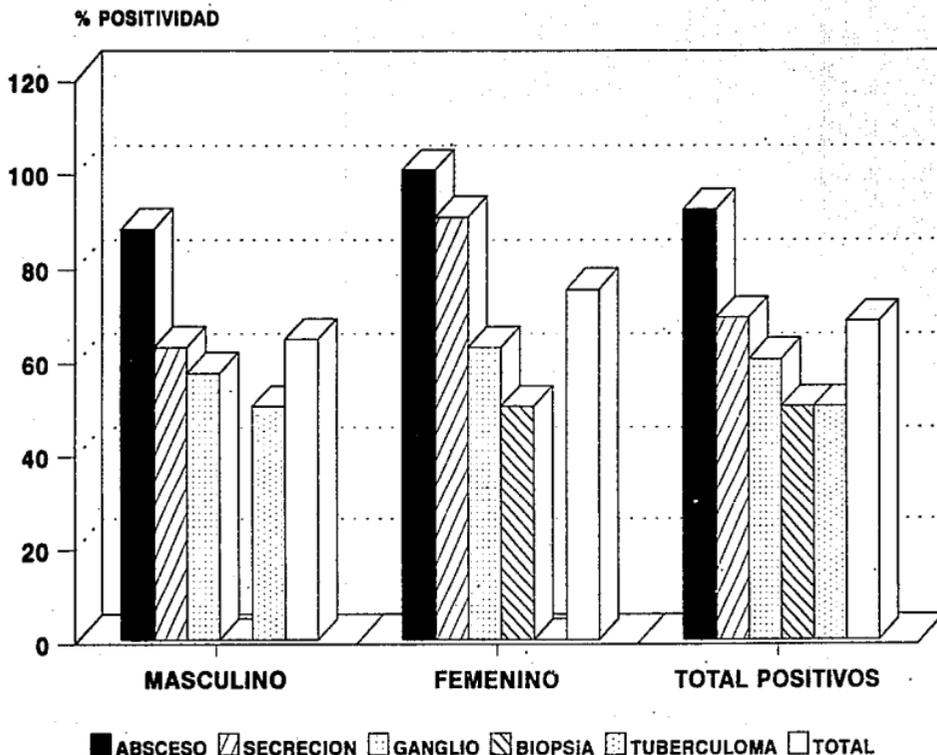
GRAFICA 6

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO



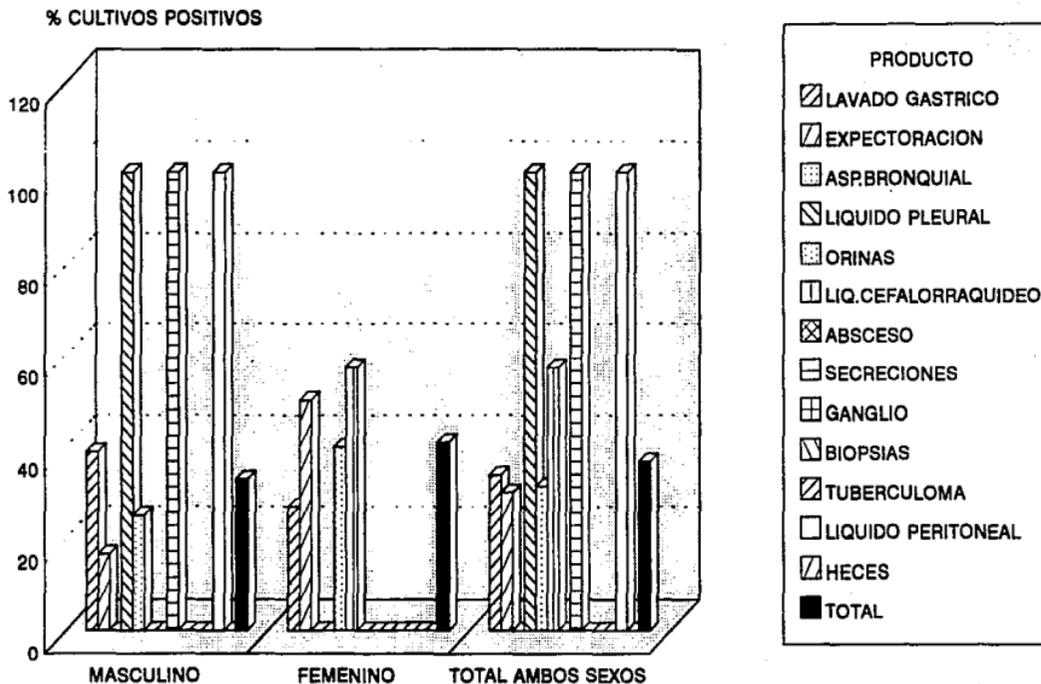
GRAFICA 7

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CULTIVOS POSITIVOS EN RELACION A LOS PRODUCTOS Y EL SEXO



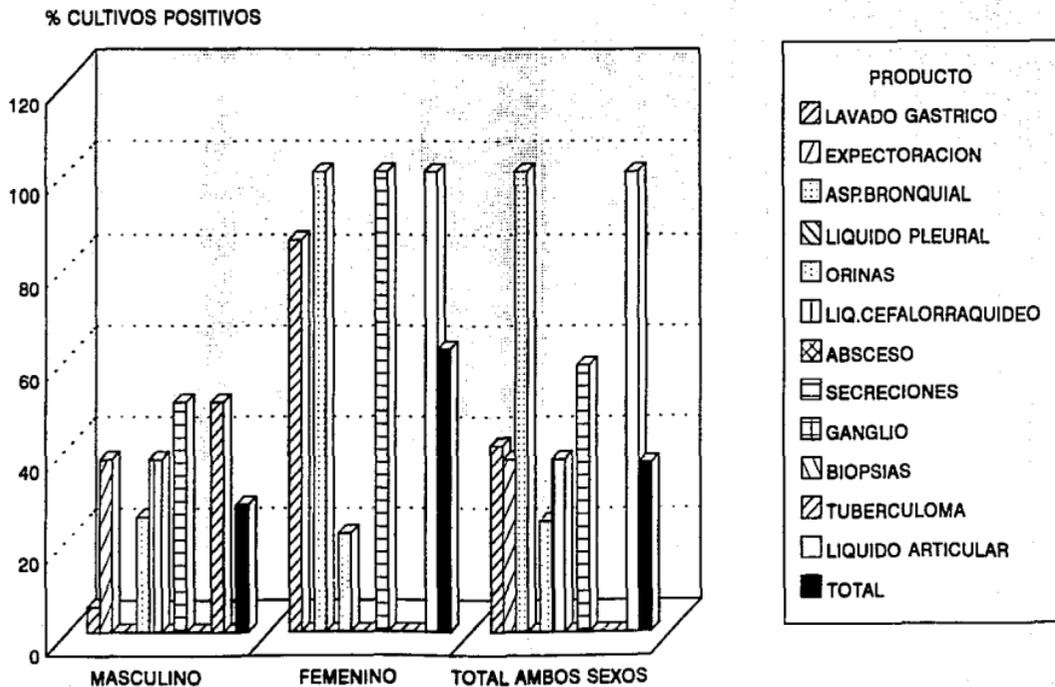
**GRAFICA 8**

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 29 NIÑOS DE 5 AÑOS



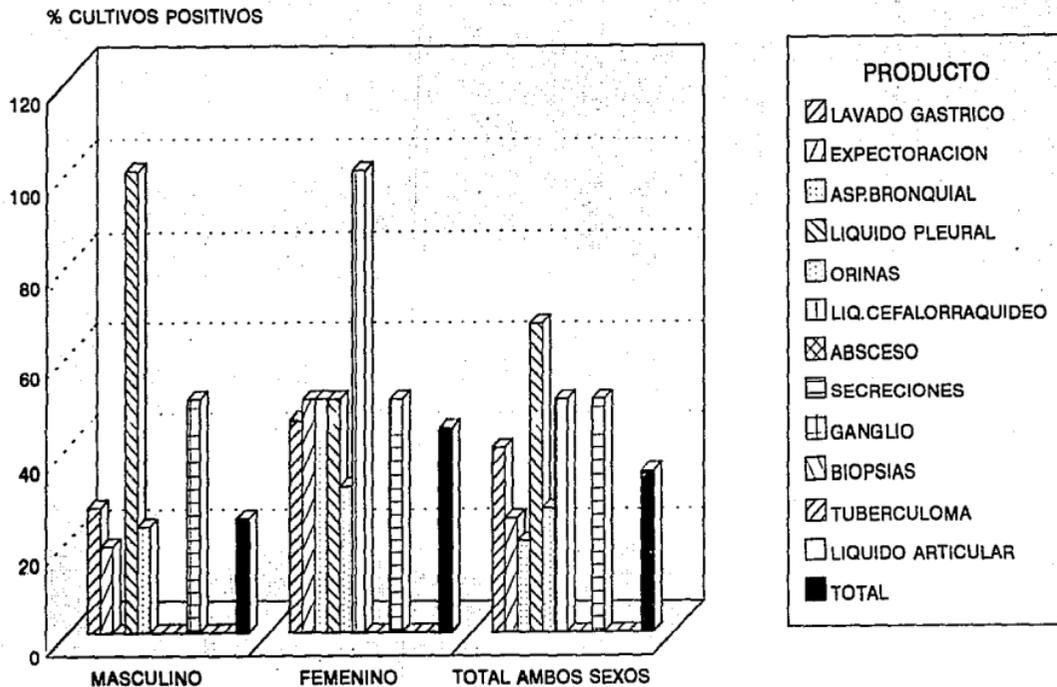
GRAFICA 9

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 22 NIÑOS DE 6 AÑOS

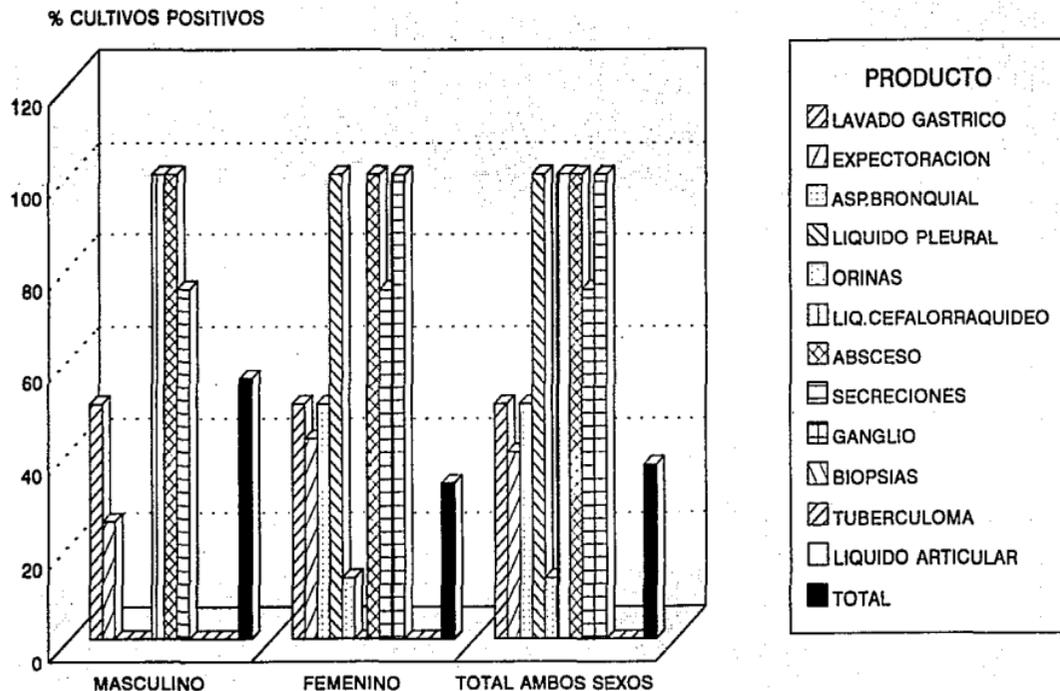


GRAFICA 10

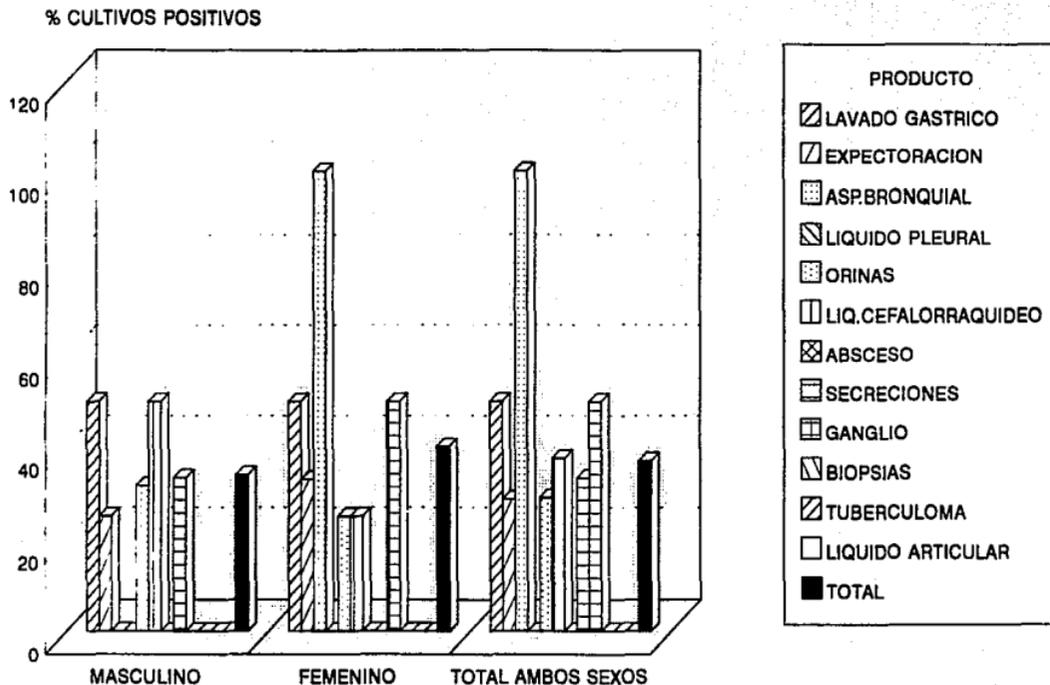
## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 31 NIÑOS DE 7 AÑOS



## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 18 NIÑOS DE 8 AÑOS

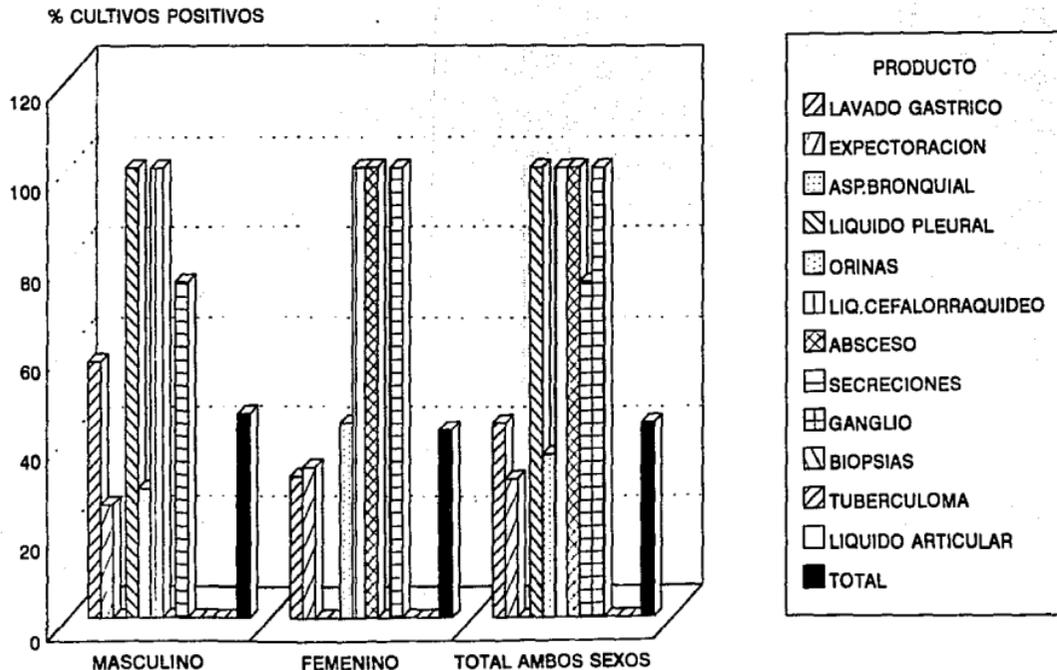


## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 14 NIÑOS DE 9 AÑOS



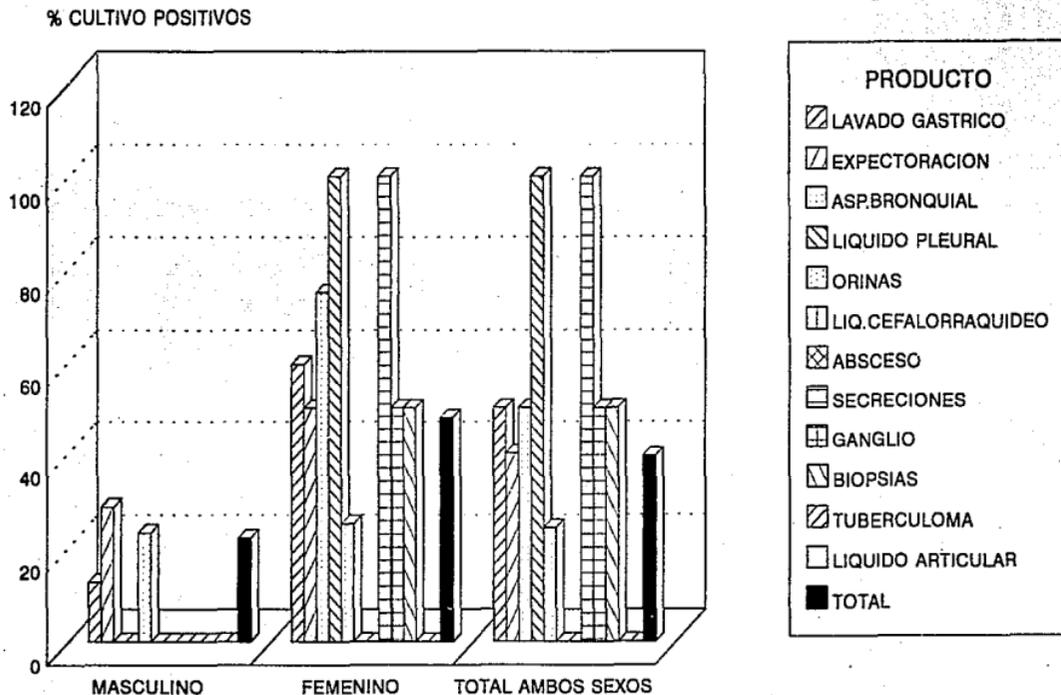
GRAFICA 13

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 27 NIÑOS DE 10 AÑOS



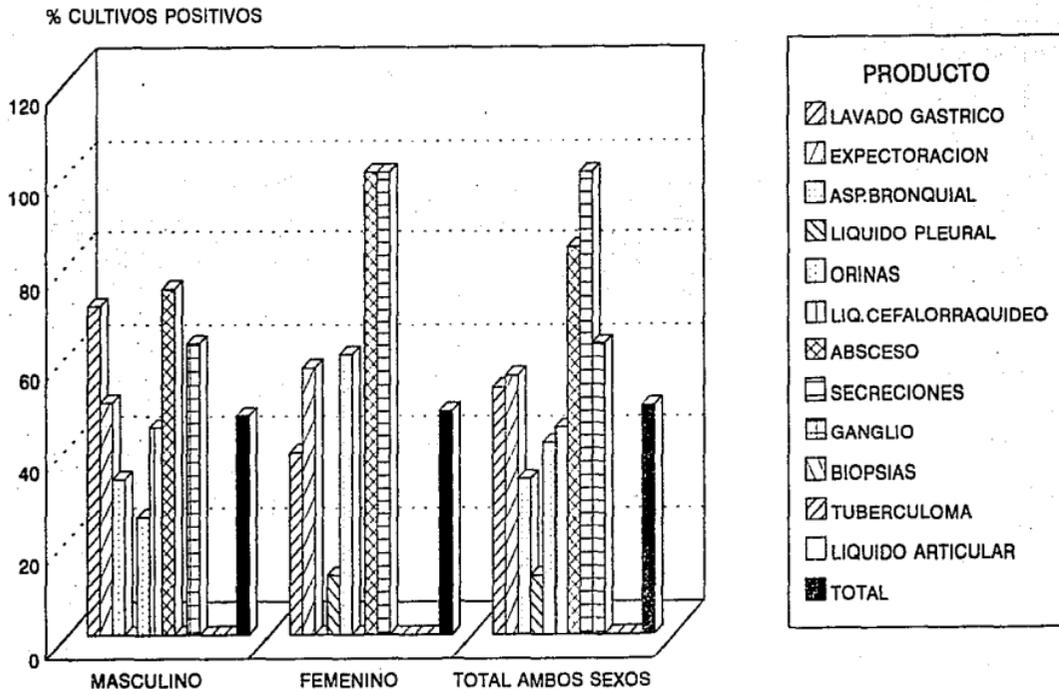
GRAFICA 14

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 24 NIÑOS DE 11 AÑOS



GRAFICA 15

## DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS CULTIVOS POSITIVOS SEGUN EL ORIGEN Y EL SEXO DE 26 NIÑOS DE 12 AÑOS



GRAFICA 16

## APENDICE

### MEDIOS DE CULTIVO, SOLUCIONES Y REACTIVOS.

#### BASE DEL MEDIO DE LOVENSTEIN-JENSEN.

Formula en gramos por 600 ml de agua destilada.

Fosfato monopotásico	2.50 g.
Sulfato de magnesio	0.24 g.
Citrato de magnesio	0.60 g.
Asparagina	3.60 g.
Harina de papa	30.00 g.
Verde de malaquita	0.40 g.

37.7 g del medio base se agregaron a 600 ml de agua destilada con 12 ml. de glicerol y se disolvieron con calentamiento y agitacion constante, se esterilizó a 121°C por 15 min. y se enfrió aprox. a 50 °C. Se preparo 1 litro de huevo integro obtenido asepticamente y se mezcló con la base. Se distribuyó en tubos con tapón de rosca y se colocaron en un coagulador en posición inclinada durante 45 min. a temperatura de 85°C.

#### SOLUCION DIGESTIVO DESCONTAMINANTE.

Para preparar 100ml mezclar:

- 50 ml de NaOH al 4% esteril.
- 50 ml de citrato de sodio al 2.9% esteril.
- 0.5g de N-acetil-L-cisteina en polvo.

#### SOLUCION REGULADORA DE FOSFATOS M/15.

- En un matraz volumétrico se colocaron 9.47 g. de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  anhidro y se disolvieron con agua destilada aforando a un litro.
- En otro matraz se colocaron 9.09 g. de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y se

disolvieron con agua destilada aforando a un litro.

Se mezcló 50 ml. de la solución a con 50 ml. de la solución b, verificándose en el potenciómetro que el pH sea fuera de 6.8 y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min.

#### SOLUCION DE NaOH AL 4%.

40 g. de NaOH se disolvieron en 1 litro de agua destilada y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min.

#### SOLUCION DE CITRATO DE SODIO AL 2.0% (0.1M)

Se disolvieron 29.4g. de  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  anhidro en un litro de agua y se esterilizó en autoclave.

#### SOLUCION FISIOLOGICA SALINA AL 0.85%.

Se disolvió 8.5 g. de NaCl en 100ml de agua destilada y se esterilizó a 121°C por 15 min.

#### SOLUCION DE ALBUMINA BOVINA FRACCION V AL 0.2%.

A 100 ml. de sol. salina, se adicionó 2 g. de albumina bovina fracción V y se disolvió con agitación lenta. se ajustó el pH a 6.8 con una solución de NaOH al 10% y se esterilizó por filtración. Se prepararon 100 tubos con tapón de rosca con solución reguladora de fosfatos 1/15 M. a pH.6.8 y se esterilizaron, a cada uno de los tubos se le agregó 1 ml. de solución de albumina y se guardaron en refrigeración.

#### SOLUCION DE FENOL AL 5%.

5 g. de fenol en cristales se disolvieron en 100 ml. de agua destilada.

REACTIVOS PARA LA COLORACION DE ZIEHL-NEELEN.

a) FUCSINA FENICADA.

Fucsina básica	0.3 g.
Etanol al 95%	10.0 ml.
Fenol en cristales	5.0 g.
Agua destilada	95.0 ml.

Se disolvió la fucsina en el alcohol, el fenol en el agua y se mezclaron las 2 soluciones.

b) ALCOHOL ACIDO

Etanol al 95%	97 ml.
Acido Clorhídrico conc.	3 ml.

c) COLORANTE DE CONTRASTE

Azul de metileno	0.3 g.
Agua destilada	100.0 ml.

## REFERENCIAS

1. Gracey D.R., Commentary. Tuberculosis in the world today. Mayo Clin. Proc. 63:1251-1255, 1988.
2. Molavi A., Lefrock L.J.. Tuberculous Meningitis. Medical Clinics of North America. 69 (2):315-331, 1985.
3. Perez F. L., Ridaura C., Gomez R., Flores A.. Bases para el diagnostico de la tuberculosis pulmonar en el niño. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.. Vol 41, 3:155-161. 1984.
4. Narain R., Rao S., Chandrasekhar P., Pyarelal H.. Microscopy positive and microscopy negative cases of pulmonary tuberculosis. Am. Rev. Resp. Dis. 103:761-773, 1971.
5. Joklik W., Willet H., Amos B.. Mycobacterium. En "Zinsser Microbiología". Panamericana. 16ª Edición. Argentina. p.p. 635- 675. 1986.
6. Sneath P., Mair N., Sharpe M., Holt J.. Eds. The Mycobacteria. In "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" Vol. 2. Williams and Wilkins. Baltimore. p.p. 1435-1457, 1986.
7. Good F.C.. Opportunistic pathogens in the genus Mycobacterium. Ann. Rev. Microbiol. 39:347- 369, 1985.
8. Gorlin R.. Patología oral. Thoma. Salvat. 2ª edición. España. p.p. 313. 1981.
9. Yañez A., Vargas M.. La tuberculosis en el mundo, historia antigua, problema actual. Salud Pública de México. XXIV. (3):261-267, 1982.
10. Bardoun M. Historia de la medicina. Ed. UNAM. 1ª edición México. 1971.
11. Koch E.. Bacteriología y Virología Médica. 1ª edición. México p.p. 309-321. 1955.
12. Davis B., Dulbecco R., Eisen H., Ginsberg H., Wood B.. Mycobacteria. "Microbiology". Harper and Row. New York, Evaston and London. 1ª edición. p.p. 841-868, 1970.
13. Gunn F.. Tuberculosis. "Pathology". Ed. Anderson W.A.D.. 4ª edición. CV. Mosby Co. St. Louis Mo., p.p. 243-263, 1961.
14. Brock D.T.. Milestones in Microbiology. American Society for Microbiology. Washington D.C., p.p. 109-120, 1975.
15. Tisor F., Carbonelle B.. Recherche, isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries en pratique courante. Crouan & Roques. Ed. 3ª édition. Lille, 1972.
16. Bogen E. Detection of Tubercle bacilli by fluorescence microscopy. Am. Rev. Tub. 44:267-271, 1941.

17. Freiman D., Mokotoff G., Demonstration of tubercle bacilli by fluorescence microscopy. Am. Rev. Tub.. 48: 435-442, 1943.

18. Lennette E., Hausler W. & Shadomy H. In " Manual of Clinical Microbiology ". American Society for Microbiology. 4<sup>th</sup> edition. Washington D.C., p.p. 216- 246. 1995.

19. Truant J.P., Burcon R.. Evaluation of two mucolytic agents for the isolation of mycobacteria. Rev. Lat. Amer. Microbiol. Parasitol. 8:13-18, 1966.

20. Patterson R., Thompson T. & Larsen D.. The use of Zephiran in the isolation of M. tuberculosis. Am. Rev.Tub. 74:284-288. 1956.

21. Yegian D., Budd V.. Toxic effect of sodium hydroxide on tubercle bacilli. Amer. J. Clin. Path. 22:456-460. 1952.

22. Wayne L.G.. Some observations on the use of benzalkonium chloride (Zephiran) in tuberculosis bacteriology. Am. Rev. Resp. Dis., 80:912-913, 1959.

23. Middlebrook G. & Cohn M. Bacteriology of tuberculosis: Laboratory methods. Am. J. Publ. Health. 48., 7:844-853, 1958.

24. Kubica G., Dye W. & Middlebrook G.. Sputum digestion and decontamination with N-Acetyl-Cysteine-Sodium Hydroxide for culture of Mycobacteria. Am. Rev. Resp. Dis.,87:775-779, 1963.

25. Kubica G., Kaufmann S. & Dye W. Comments on the use of the new mucolytic agent, N-Acetyl-Cysteine, as a sputum digestant for the isolation of Mycobacteria. Am. Rev. Resp. Dis. 89:284-286, 1964.

26. Krasnow I., Kidd G.. The effect of a buffer wash of sputum sediments digested with Zephiran on the recovery of acid-fast bacilli. Am. J. Clin. Path.. 44:238-240, 1965.

27. Shah P. & Dye W.. Use of dithiothreitol to replace N-Acetyl-Cysteine for routine sputum digestion-descontamination for the culture of Mycobacteria. Am. Rev. Resp. Dis.. 94:454, 1966.

28. Krasnow I., Wayne L.. Sputum Digestion. The mortality rate of tubercle bacilli in various digestion systems. Am. J. Clin. Path. 45:352-355. 1966.

29. Starke J.. Modern Approach to the Diagnosis and Treatment of Tuberculosis in Children. Pediatr. Clin. North Am., 35:441-453, 1988.

30. Daniel TM.. The rapid diagnosis of Tuberculosis. J. Lab. Clin. Med.. 116, 3:277-282, 1970.

31. Grange J.M., Laszlo A.. Serodiagnosis test for Tuberculosis. B.W.H.O.. 68, (5):571-576, 1990.

32. Youmans G.P.. Tuberculosis. In " The biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases ". Ed. Youmans G, Patterson P, Sommers H.. 2<sup>nd</sup> edition. W.B. Saunders, Philadelphia, London.

Toronto. p.p. 371-389. 1980.

33. Lichtenberg F. Infectious Diseases. In Robbins " Pathologic basis of disease ". Ed. Cotran R., Kumar V., Robbins S.. 4<sup>m</sup> edition. W.B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokio. p.p. 374-380, 786-789. 1989.

34. Bass J., Farer L., Hopewell., Jacobs R., Snider D.. Diagnostic standards and clasifcation of tuberculosis. Am. Resp. Dis. 142: 725-735. 1990.

35. Kaufmann S.H.E.. Immunity to Mycobacteria. Reserche in Microbiology. 141, 78:765-768, 1990.

36. Gavilanes S., Caracteristicas de aislamiento e identificación de Mycobacterium tuberculosis. Tesis para obtener el titulo de especializacion en bioquimica clinica. Universidad Nacional Autónoma de Mexico. 1991.

37. "Información Epidemiologica de Tuberculosis. Estados Unidos Mexicanos. 1960-1989" Secretaria de Salud. Direccion General de Epidemiologia. Departamento de IRA y Tuberculosis, Mexico, 1990.

38. Vestal Ai. Procedures for the isolation & identification of Mycobacteria. U.S. Department of Health Education & Welfare. Publ Health Serv. Public.1995, Washington dc.. 1989.

39. Jacobs W., Scott S., Tuckman M. & Bloomm B.. Mycobacteriophage Vector Systems. Rev. Infec. Dis. Vol.11 S2:404-410. 1989.