

21



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

CONFIABILIDAD DIAGNÓSTICA DEL MÉTODO POR CONCENTRACIÓN CON HIPOCLORITO DE SODIO EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR.

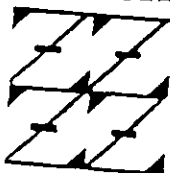
297273

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A
ARACELI GALÁN JIMÉNEZ

A S E S O R E S

Q. F. B. Roberto Cruz González Meléndez.
Q. B. P. Francisco Salinas Madrigal.

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO RUMBO ES
DE NUESTRA EVOLUCIÓN

MÉXICO, D. F.

AGOSTO 2001.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



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 esta 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.

Dedico ésta tesis a:

Q. B. P. Francisco Salinas Madrigal:

Quien depositó en mi su confianza para realizar este trabajo, brindándome sus conocimientos, tiempo y dedicación para dirigirme en el presente...

Q. F. B. Roberto Cruz González Meléndez

Por su valioso tiempo, apoyo, paciencia durante su asesoría para la realización de esta tesis, y por sus enseñanzas...

**M. en C. María José Marques Dos Santos,
Q. F. B. María de las Mercedes Zamudio
Durán, Q. F. B. Hugo Leinez Celiseo:**

A quienes agradezco su paciencia y valiosos conocimientos durante su enseñanza como profesores...

MIL GRACIAS.

Q. F. B. Antonino Sáenz:

Quien con sus enseñanzas y consejos siempre me orientó en muchos aspectos de mi vida.

...Dejar de ser letra muerta para ser letra que late, que combate y que muere; sólo si con ello da inicio a un nuevo párrafo.

Y hoy me puedo sentir orgullosa de decir que yo soy uno de esos nuevos párrafos que se inician en el mismo campo que usted.

Aunque ya no este presente físicamente siempre le estaré agradecida por todo, y donde esté...

MIL GRACIAS.

Dios:

El ser a quien más amo y que nunca se ha separado de mí, que en todo momento me ha llevado de la mano guiándome y ayudándome a cumplir mis objetivos.

Por ti he aprendido que; *si la vida es una situación de prolongada emergencia, lo mejor es tener amigos...*

... y no hay más que hoy.

GRACIAS Dios por ser mi amigo.

Sra. Piedad Jiménez Díaz:

Mi madre que me enseñó que "*el futuro es prometedor*", *pero no siempre es cumplidor; y esto depende básicamente de lo que cada quien haga por que él cumpla lo que promete.*

Nunca encontraré las palabras precisas para expresarte cuanto te amo y te estoy agradecida por cada uno de tus sacrificios para sacarme adelante.

GRACIAS mamá.

Angeles, Maricela, Blanca Laura, Norma y Miriam:

Mis hermanas, que siempre me han enseñado que ser débil no es aceptable, puesto que solamente así el río llegara al mar para revelar su propio entendimiento silencioso en esta prueba de talento y tolerancia.

Por esto y muchas cosas más, **GRACIAS**, quiero que este triunfo lo sientan suyo.

Miriam Galán Jiménez:

Esta tesis es fruto de un enorme cariño por la ciencia y en ella no sólo yo he puesto mi corazón, sino también tú.

Por todo esto, GRACIAS.

Bióloga Elva Susana De Garay Gómez del Villar:

Por brindarme su amistad, dedicación, experiencias y conocimientos que ha dejado en mí y en mi tesis...

GRACIAS.

Q. B. P. Heleodora González, Leticia, Lucy, Teresa, Lurdes, Penélope, Susana, Melina y Maguitos:

Personal del Laboratorio de Neumología del Hospital General de México, por aportar sus conocimientos, apoyo y haberme rodeado siempre de un sentimiento de verdadera amistad, así como por su inagotable energía que me ayudo a cumplir uno de los sueños más grande y bello... Mi tesis.

GRACIAS.

ÍNDICE

1. Resumen.	1
2. Introducción.	2
3. Planteamiento del problema.	4
4. Marco teórico.	5
4.1.1 Definición de tuberculosis pulmonar.	5
4.1.2 Historia.	5
4.1.3 Factores predisponentes.	7
4.1.4 Transmisión y Vías de infección.	8
4.1.5 Signos y síntomas.	9
4.1.6 Descripción clínica.	10
4.1.7 Histopatología.	11
4.1.8 Inmunopatología.	13
4.1.9 Epidemiología.	18
4.2 Etiología.	21
4.2.1 Morfología y fisiología	21
4.2.2 Estructura	24
4.3 Diagnóstico.	26
4.3.1 Prueba tuberculina.	28
4.3.2 Examen radiológico de tórax.	28
4.3.3 Baciloscopía.	29
4.3.4 Cultivo.	29
4.3.5 Métodos de tinción.	30
4.3.6 Baciloscopía directa.	31
4.3.7 Baciloscopía por concentración.	36

4.3.7.1	Agentes descontaminantes.	37
	Fosfato Trisodico – Zephiran	37
	Hidróxido de Sodio	37
	Hidróxido de Sodio – (N – acetil-cisteína)	38
	Hipoclorito de Sodio 5.25%.	39
4.3.7.2	Velocidad de centrifugación.	40
4.4	Tipificación de <i>M. tuberculosis</i> .	43
4.5	Tratamiento.	44
5.	Objetivos.	47
6.	Hipótesis.	47
7.	Diseño del estudio.	48
8.	Material y equipo.	49
9.	Procedimiento.	53
10.	Diseño estadístico.	61
11.	Resultados y análisis.	68
12.	Discusión de resultados.	78
13.	Conclusiones.	82
14.	Anexos.	85
14.1	Anexo I	86
14.2	Anexo II	89
14.3	Anexo III	92
14.4	Anexo IV	95
14.5	Anexo V	96
15.	Bibliografía.	110

RESUMEN

La presente investigación se fundamenta en un estudio prospectivo, longitudinal, comparativo y experimental.

Para realizarla se trabajó con 300 muestras de esputo de pacientes internos y externos con sintomatología clínica presuntiva de tuberculosis pulmonar que fueron remitidas al Laboratorio de Neumología del Hospital General de México, bajo los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

- Analizar las muestras enviadas al laboratorio de los pacientes que presenten el diagnóstico presuntivo de tuberculosis pulmonar y que no hayan iniciado o recibido tratamiento antituberculosis.

El estudio consistió en evaluar la presencia o ausencia de bacilos ácido-alcohol resistentes en cada una de las muestras de esputo tratadas mediante tres métodos diferentes; baciloscopías directas y por concentración tratadas con hidróxido de sodio al 4 % y con hipoclorito de sodio al 5.25 %.

Los resultados se graficaron y analizaron en conjunto con el fin de determinar y comparar la sensibilidad, especificidad y valor predictivo de cada uno de los procedimientos, frente a un método estándar: el cultivo en el medio de Löwestein-Jensen y su grado de concordancia con éste.

El resultado final fue el siguiente:

El método de concentración con hipoclorito de sodio presentó una sensibilidad del 95 %, especificidad del 100 %, valor predictivo del 99% y concordancia del 97% con el estándar utilizado.

Con lo que se concluye que el método por concentración tratado con hipoclorito de sodio tiene una alta Confiabilidad Diagnóstica, superior a la de los métodos tradicionalmente utilizados en el país; y muy parecida a la del método estándar, lo cual sugiere que puede utilizarse como un método equivalente al cultivo, cuando no se pueden utilizar técnicas tan sensibles y específicas como este último en el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar activa.

INTRODUCCIÓN

Para establecer el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar activa, en México generalmente se realizan varias pruebas, entre éstas se utilizan principalmente en el país:¹⁷

- La baciloscopia 73 %.
- El cultivo 1.56 %.
- El estudio histopatológico 3.9 %.
- Otros métodos 19.9 %.

Siendo la baciloscopia una de las técnicas más utilizadas para realizar el diagnóstico; debido a su bajo costo, rapidez y facilidad para efectuarse; a pesar de que su sensibilidad es baja del 25 a 80 %, cuando se realizan por concentración³⁶, y del 25 a 50 %, cuando se trata de baciloscopias directas.

En los países con alta prevalencia como México (17.3 a 22.8 %)⁴⁷ el rápido diagnóstico y control de los pacientes con tuberculosis son esenciales para reducir el riesgo de transmisión; donde las baciloscopias directas o por concentración juegan un papel relevante, porque los resultados que aportan proveen información preliminar muy importante; pero también escapan al diagnóstico por estos métodos un considerable porcentaje de casos. Por tal motivo se ha buscado la implementación de nuevas técnicas económicas y más sensibles; así en Bolivia y Estados Unidos²⁵ se probó un método por concentración tratado con hipoclorito de sodio al 5.25 %, con el cual se obtienen muy buenos resultados y es seguro, ya que no predispone al operador a adquirir la infección; pero no indican que tan sensible y específico es.

Una de las inquietudes comunes en el campo de la medicina y micobacteriología es la evaluación de las pruebas de laboratorio utilizadas para el realizar el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar activa; ya que para el médico es indispensable conocer que importancia debe dar al resultado de cada examen de laboratorio, misma que varía en función de la calidad de la prueba.

Así al aplicar un análisis con elevada Confiabilidad Diagnóstica, el médico basará sus conclusiones en el resultado del laboratorio; pero si utiliza uno con fallas frecuentes, sólo empleará los resultados como una indicación más del estado del paciente y no como base de su diagnóstico final; lo cual no resulta conveniente para los laboratorios de primer nivel y sobre todo para los ubicados en zonas con alta prevalencia de tuberculosis pulmonar.

Por tal motivo en el presente estudio se determinó la Confiabilidad Diagnóstica del método de concentración con hipoclorito de sodio al 5.25 % (sensibilidad, especificidad, valor predictivo, y grado de concordancia) y a su vez se comparó con la de las pruebas tradicionalmente utilizadas en México (baciloscopías directas y por concentración con NaOH al 4 %) y con el método del cultivo en el medio de Löwestein-Jensen utilizado como estándar de oro en el estudio.

Encontrándose que tiene una elevada Confiabilidad Diagnóstica, lo cual indica que puede ser utilizado como un método alternativo, altamente sensible y específico en el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar activa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México son pocos los laboratorios que pueden utilizar técnicas de vanguardia para el diagnóstico de **tuberculosis pulmonar**, por lo que se tiene que recurrir a la búsqueda de métodos sensibles, rápidos y de bajo costo; con el propósito de que estén al alcance de toda la población, sobre todo la rural y de escasos recursos que es la que presenta mayor incidencia de tuberculosis.

En Estados Unidos en 1993, Saceanu AC, y en Bolivia en 1997 Callisaya y colaboradores, realizaron estudios con el método de concentración tratado con hipoclorito de sodio, para el rápido diagnóstico de tuberculosis pulmonar, frente al método tradicional (baciloscopías directas), y método de concentración con hidróxido de sodio, en los cuales se encontró que el método en estudio detecta más casos positivos que las técnicas antes mencionadas; pero aún no se conoce su sensibilidad, especificidad, ni valor predictivo, ya que no fue comparado con un método estandarizado como el cultivo en el medio de Löwestein-Jensen para su determinación; por lo que el propósito del presente estudio fue determinar su confiabilidad diagnóstica, en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa, y a su vez compararla con la de las técnicas más utilizadas en México como las baciloscopías directas y el método de concentración con hidróxido de sodio.

MARCO TEÓRICO

DEFINICIÓN DE TUBERCULOSIS PULMONAR:

Con este nombre se designa a la enfermedad infecciosa causada por organismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. africanum*), y por otras especies de micobacterias oportunistas potencialmente patógenas para el hombre; que se transmite del enfermo al sujeto sano por inhalación del material infectante.^{1,2}

HISTORIA:

La Tuberculosis es tan vieja como la historia del hombre; entre los casos más antiguos reportados se encuentra el de un hombre Neolítico que habitaba cerca de Hildelberg en Alemania cerca del año 5,000 a. C. En el año 4,000 a. C. se mencionó en la India y en China su existencia aunque causada por influencias sobrenaturales. Las momias egipcias posteriores al periodo de la dinastía de 3,400 a. C. muestran lesiones tuberculosas en el esqueleto.³ Posteriormente Hipócrates en el año 400 a. C. la consideró como una enfermedad hereditaria. Galeno en el año 150 a. C. habló del contagio de la misma y notificó la necesidad de aislar al paciente.⁴ Más recientemente la evidencia del DNA, lustros antes del descubrimiento de América por Colón, fue encontrada en momias peruanas.³

La enfermedad ha tenido muchos nombres, incluyendo tisis, consunción, y el elocuente “Xoy Hindú” (luna menguante).³ El término tuberculosis fue utilizado primero por Franciscus Sylvius (1679) para describir los característicos nódulos del pulmón (del latín, tubercula, pequeños nodos); también fue descrita como “plaga blanca” por Oliver Wendell Holmes (1861); siendo la principal causa de muerte en personas jóvenes por todo el mundo.^{3,4}

La naturaleza del contagio fue disputada durante diecisiete centurias por médicos como Benjamin Martin y Richard Morton. En 1157 en España se promulgó el edicto de que los médicos declararan los casos de tisis para que a la

muerte de éstos todas sus pertenencias se incineraran. Pedro José Desault (1738-1795) señaló que a través del esputo se propaga la enfermedad tuberculosa, pero fue Juan Antonio Villemin quien demostró la posibilidad del contagio por medio de la inoculación de esputo a los animales de laboratorio, desechando definitivamente la teoría de la herencia.⁴ Esto fue casi 20 años antes de que el patólogo alemán Roberto Koch:

- ◆ encontrara al bacilo asociado constantemente con la enfermedad,
- ◆ lo aislara en un cultivo puro,
- ◆ reprodujera la enfermedad en conejos y cobayos con el cultivo y,
- ◆ recuperara al bacilo en un cultivo puro a partir de los animales infectados.

Principios que deben cumplirse para que determinado microorganismo pueda aceptarse como la causa de la enfermedad infecciosa específica, y que ahora, en honor al gran patólogo se conocen como los postulados de Koch.^{3,5}

Por lo tanto la culminación del descubrimiento del agente infeccioso causal de la tuberculosis se realizó en 1882, por el Doctor Roberto Koch; así en agosto del mismo año se publicó su descubrimiento; es decir que la tuberculosis aparecía como una consecuencia de la infección por una bacteria.^{3,4}

La extensa historia de la enfermedad ha sido enormemente influenciada por la urbanización colonización y masas migratorias durante varias guerras.³ Su frecuencia aumentó a causa de las implicaciones sociales de la Revolución Industrial. Sin embargo fue necesario llegar al siglo XIX para que sus diversas manifestaciones, tales como lesiones cavitarias en los pulmones y los pequeños nódulos grises localizados en diferentes órganos, fueran reconocidos por Laennec como partes de un mismo proceso.⁶

Con el aislamiento del agente causal de la tuberculosis, se dieron una gran cantidad de medidas para su control, las cuales fueron desde el calcio, y cobre como medicamentos, hasta la resección pulmonar, siendo éstas sólo medidas paliativas.⁴

En 1945 se inició el descubrimiento de los antibióticos, impactando notablemente en el comportamiento epidemiológico con 80 muertes por cada 100,000 habitantes (México 1922) y letalidad cerca al 80 % en sus formas graves,

pasó a ser una enfermedad curable en casi el 100 % de los casos.⁴ Sin embargo hoy en día, a pesar de los grandes adelantos en su tratamiento y control, es aún un problema importante en los países en desarrollo como México.⁷

FACTORES PREDISPONENTES:

La tuberculosis es una enfermedad que se relaciona con el confinamiento y la sobrepoblación, situaciones en las que las oportunidades de transmisión son mucho mayores. El hombre presenta poca resistencia a la infección, aunque el desarrollo a la respuesta inmune es muy eficaz para contener la infección.⁸ Por lo tanto la tendencia a desarrollar una enfermedad clínicamente está relacionada con factores que dificultan el desarrollo de la respuesta inmune celular, entre estos factores se encuentran:

- ◆ Malnutrición, especialmente por la deficiencia de proteínas.⁸
- ◆ Infecciones recurrentes.⁸
- ◆ Exposición.⁸
- ◆ Inmigración de personas que provienen de poblaciones con alta prevalencia de tuberculosis.⁸
- ◆ Concentración de grupos humanos.⁹
- ◆ Habitación antihigiénica.⁹
- ◆ Inmunosupresión.⁹

Por lo tanto los grupos de alto riesgo son individuos con la infección de VIH, pacientes con insuficiencia renal, silicosis y diabetes mellitus, pacientes a los que se administran drogoimmunosupresores como los corticosteroides, niños menores de 5 años en contacto con pacientes infectados, y personal de salud que trabaja con dichos pacientes y analiza sus muestras.^{9, 10}

Otro factor importante en los países subdesarrollados como México es la falta de educación para luchar contra el mal, y la ausencia de información sobre el mecanismo de contagio.⁹

TRANSMISIÓN Y VÍAS DE INFECCIÓN:

El bacilo de la tuberculosis puede penetrar en el cuerpo a través de sistema respiratorio, el tubo digestivo, el sistema genitourinario, la conjuntiva o la piel, también puede ser adquirida por la manipulación de lesiones, procesamiento de tejidos contaminados, o secreciones en hospitales y laboratorios.¹⁰ Pero el sistema respiratorio es la vía de infección más frecuente e importante; el contagio se produce habitualmente por vía aerógena a partir de pacientes bacilíferos con lesiones pulmonares “abiertas”, es decir, conectadas con el exterior por un bronquio de drenaje. Al toser, estornudar, hablar o cantar genera aerosoles de pequeñas partículas líquidas (gotas de Flugge), en cuyo interior encierran 1 o 2 bacilos. Al evaporarse queda tan sólo el núcleo de bacilos, que permanece flotando en el medio ambiente y se desplaza con las corrientes de aire, pudiendo ser aspirado por otras personas. Las partículas de tamaño superior a 10 μm , quedan retenidas en la barrera mucosa de las vías respiratorias superiores, y son eliminadas por el sistema defensivo mucociliar, pero las de menor tamaño (1-5 μm) tienen la capacidad de llegar hasta los alvéolos y desencadenar la primoinfección.^{10, 11}

En la mayoría de las ocasiones, los escasos bacilos que llegan hasta los alvéolos son fagocitados y destruidos por los macrófagos; sólo un pequeño porcentaje de personas llegará a desarrollar la enfermedad, la mitad de ellas precozmente, a los pocos meses de la infección, mientras que otro 5 % necesitará un largo intervalo, a veces de varias décadas, para que se produzca la reactivación endógena de las lesiones aparentemente curadas que albergan en su interior micobacterias en condiciones metabólicas adversas, pero potencialmente viables.^{2, 10, 11}

Tiempo después de la infección inicial puede ocurrir la efusión pleural, comúnmente causada por la liberación en forma inaparente de una pequeña cantidad de tuberculoproteínas del pulmón hacia el espacio pleural, originando en torno una reacción inflamatoria y la acumulación de un fluido rico en proteínas y claro. Durante la infección inicial los nódulos linfáticos regional, hilar y mediastinal, son siempre invadidos con bacilos. La infección en estos nódulos puede progresar directamente a la enfermedad clínica, activarse después de muchos años o nunca aparecer.¹⁰

De acuerdo al curso natural de la tuberculosis no tratada y a su localización, ha sido clasificada de la siguiente manera, ¹ como:

- ♦ tuberculosis pulmonar
- ♦ tuberculosis pleural
- ♦ tuberculosis laríngea
- ♦ tuberculosis linfática
- ♦ tuberculosis meníngea
- ♦ tuberculosis de huesos y articulaciones
- ♦ tuberculosis genitourinaria
- ♦ tuberculosis peritoneal
- ♦ tuberculosis miliar

Las otras posibles vías de contagio han dejado de tener importancia epidemiológica. La transmisión digestiva, por la leche y vacas enfermas (*M. bovis*), está controlada gracias al procedimiento de la pasteurización de la leche para consumo, (pero aún así no hay que descartar la posibilidad de que pueda presentarse, sobre todo en zonas rurales). Por tanto, el reservorio más relevante de *M. tuberculosis*, causante del mantenimiento de la pandemia, es el ser humano.¹¹

SIGNOS Y SÍNTOMAS:

El principio de la enfermedad suele ser insidioso, catarral, hemoptoico o agudo.⁷

En el primer caso los signos más importantes pueden ser; aparición gradual de fatiga, anorexia, pérdida de peso, y otras molestias vagas. Después aparece tos, fiebre intermitente y poco intensa, por lo común ocurre junto con la sudoración excesiva durante la noche. El aumento de la temperatura tiende a presentarse al finalizar la tarde. El inicio catarral se caracteriza por ser cada vez más productivo y presentar estrías sanguíneas ocasionales en esputo. En la variedad hemoptoica, el síntoma más presente es hemoptisis, con alguno de los demás síntomas o con ninguno. El dolor pleurítico puede ser la molestia presente, a menudo sin líquido pleural, pero a veces anuncia la aparición de derrame. Algunos sujetos recuerdan

síntomas menores como ligera pleuresía, sudoración nocturna o cansancio, pero niegan todos los signos premonitorios a pesar de haber una enfermedad avanzada.^{7, 10}

Los datos clínicos no suelen ser de gran ayuda: en las formas de comienzo agudo en el hemograma suele observarse leucocitosis con neutrofilia; en los demás casos lo habitual es una moderada anemia y linfocitosis.¹¹

DESCRIPCIÓN CLÍNICA:

La tuberculosis puede afectar cualquier aparato o sistema, pero el pulmón es el sitio más ordinario de la lesión primaria y el principal órgano afectado. Sin embargo en cerca de la mitad de los pacientes con enfermedad extrapulmonar las lesiones pulmonares originales no se pueden discernir clínicamente o por radiografía.^{7, 10}

De acuerdo a su curso natural la tuberculosis se clasifica de la siguiente forma:

Tuberculosis primaria; es la enfermedad en una persona que no había sido infectada antes con una micobacteria virulenta del complejo de la tuberculosis. Esta definición excluye a las personas que se han vacunado con BCG, o que han sufrido infección por otras micobacterias. Estas infecciones de tipo primario sólo son comprobadas con una conversión de la prueba a la tuberculina.⁷

Tuberculosis primaria manifiesta; la enfermedad se conoce con este nombre cuando se acompaña de síntomas, datos radiográficos o ambas cosas.^{6, 7}

Tuberculosis de reactivación; se refiere a la enfermedad en adultos; se debe a reactivación de focos inactivos en las posiciones posteriores de los lóbulos superiores que fueron sembrados a partir del torrente sanguíneo durante la infección primaria temprana.^{6, 7}

Reinfección exógena: Cuando la enfermedad del adulto es consecuencia de un nuevo inoculo de bacilos tuberculosos en una persona ya sensibilizada por infección previa.⁷

HISTOPATOLOGÍA:

La infección inicial en un individuo tuberculinonegativo puede producir a menudo una lesión autolimitada, pero en ocasiones la enfermedad progresa tal vez a causa de la baja resistencia o de un gran inóculo.⁶

La lesión primaria o foco de Ghon: en el sujeto no sensibilizado, consiste en una zona de neumonitis inespecífica en las zonas pulmonares media, e inferior, en el sitio de depósito de la gotita inhalada. La reacción inflamatoria consiste sobre todo en fibrina, edema y leucocitos polimorfonucleares; y los bacilos tuberculosos se localizan principalmente en el interior de los macrófagos en los que se multiplican. La extensión de esta reacción exudativa primaria varía según el número, virulencia de bacilos inhalados, y la resistencia natural del huésped a emparedar la lesión y detener la extensión linfohematógena.^{7, 10}

Lesión secundaria: Consiste en una lesión tuberculosa que se difunde, en un individuo tuberculososensible, a través del progreso de la reactivación de la lesión primaria, o a través de la reinfección, su centro sufre una necrosis caseosa (del latín *caseus*, queso) característica, en la que el tejido necrótico permanece semisólido con la consistencia del queso. En tales áreas, las enzimas que habitualmente licuefican las células muertas son inhibidas o escasas. Con el tiempo el tejido caseoso se vuelve fibroso o se calcifica (especialmente en niños pequeños), y da una imagen característica a los rayos X, o bien se reblandece la masa caseosa, lo que conduce a la cavitación.

El ablandamiento y licuefacción del foco caseoso conduce a mayores problemas; ya que proporciona un medio favorable para la multiplicación rápida de las micobacterias. Originando el tubérculo que reside en un foco más o menos discreto de inflamación granulomatosa, que consiste en linfocitos, células epiteloides, macrófagos y células gigantes.

Los macrófagos adquieren grandes modificaciones en contacto con el bacilo tuberculoso o con sus productos, y se disponen concéntricamente en forma de células epiteloideas alargadas, para formar los tubérculos característicos de la enfermedad, en el centro del tubérculo algunas de estas células pueden fusionarse para formar una o más células gigantes conocidas como células de Langhans con docenas de núcleos dispuestos en su periferia y con bacilos vivos, que a veces son invisibles en el citoplasma; en estas lesiones necróticas los organismos se pueden ver localizados especialmente en la periferia; su escaso crecimiento en el interior del material caseoso puede deberse a la deficiencia en oxígeno o a la falta de aporte nutritivo. Alrededor de las múltiples capas epiteloideas hay una cubierta de leucocitos y fibroblastos proliferando, lo cual conduce eventualmente a una fibrosis extensa.^{6,7}

INMUNOPATOLOGÍA:

Defensa pulmonar (preinmune innata).

Una vez que las micobacterias han sido inhaladas en aerosoles, y pasan la barrera mecánica protectora en el tracto respiratorio superior, llegan a alvéolos donde la infección inicial se presenta. Las micobacterias, entonces sufren fagocitosis por los macrófagos alveolares. La fagocitosis puede facilitarse por la apoproteína A surfactante. La interacción inicial entre el macrófago alveolar y la micobacteria lleva a la destrucción del microorganismo o persistencia y replicación del mismo dentro del macrófago. El mecanismo intracelular responsable de la destrucción del microorganismo en los macrófagos alveolares humanos es incierto, pero puede incluir oxígeno reactivo y nitrógeno intermediario,¹³ el medio ácido del compartimento específico lisosomal y enzimas hidrolíticas dentro del fagolisosoma, pero las micobacterias han desarrollado métodos de protección para cada mecanismo bactericida, consecuentemente, algunos bacilos pueden persistir y replicarse dentro del macrófago alveolar, y como el número de bacilos se incrementa la diseminación a través del cuerpo por vía linfática y a través del torrente sanguíneo crea nuevos focos de infección en otros tejidos.^{10, 12}

Para la fagocitosis y muerte micobacteriana, los macrófagos también elaboran citocinas. El factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interleucina-12 (IL-12) y múltiples citocinas quimiotácticas (quimiocinas), son elaboradas en respuesta a la micobacteria y estos componentes actúan juntos para ayudar a contener la infección. El TNF- α , es importante para contener la infección inicial y desarrollo de la respuesta granulomatosa normal, además de contribuir en algunos síntomas patológicos vistos en la tuberculosis avanzada, como pérdida de peso y fiebres persistentes.^{7, 10, 12}

Las quimiocinas liberadas por los macrófagos actúan para reclutar neutrófilos, monocitos y linfocitos; la IL-12, TNF- α , y quizá IL-5, facilitan la producción de interferón- γ por las células de muerte natural y por las células T⁸.¹²

Así la respuesta primaria pulmonar para la infección, limita la replicación inicial y extensión de la enfermedad. La extensión varía con la virulencia y número de organismos infectantes, pero múltiples evidencias sugieren que esta fase de la respuesta del huésped es raramente suficiente para eliminar todas las micobacterias

(ver figura 1). Aunque la migración de algunos macrófagos infectados y células dendríticas a todos los nodos linfáticos regionales contribuyen a la iniciación de la respuesta antígeno-específico del huésped.^{8, 12}

RESPUESTA PREINMUNE PRIMARIA

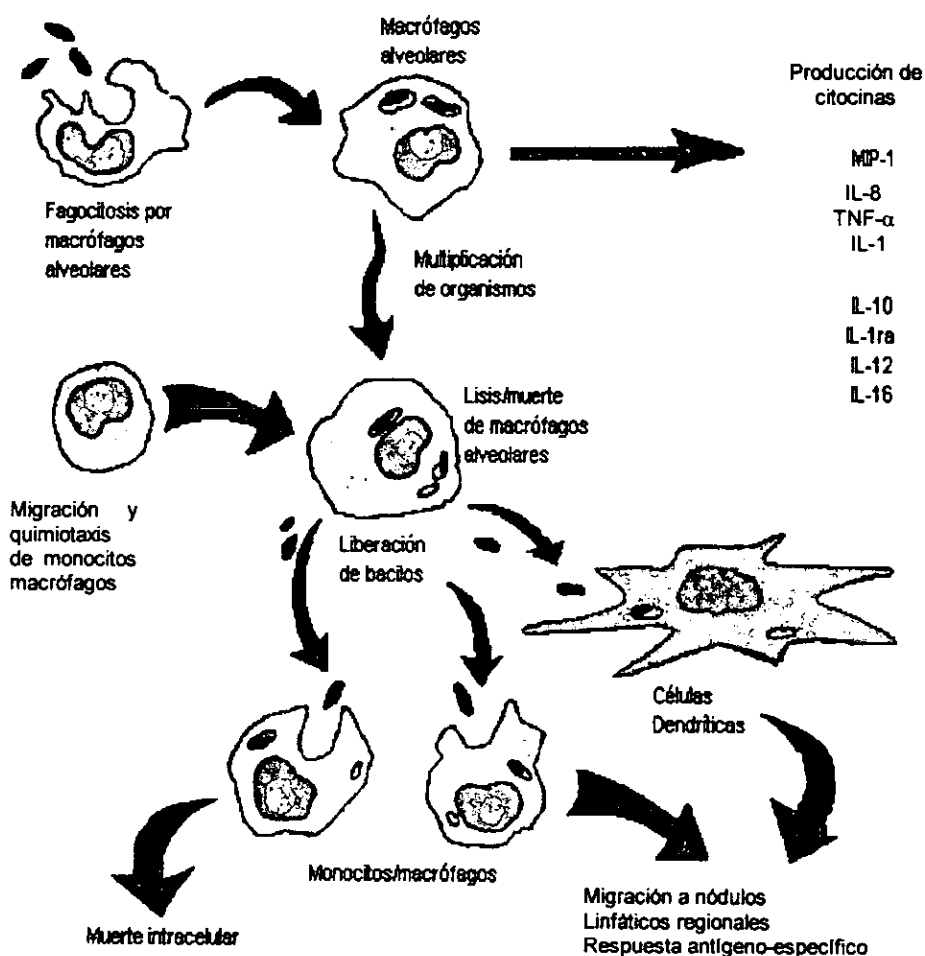


Figura 1.
Fuente: Referencia 12

Respuesta inmune antígeno-específico:

Presentación de antígeno. El desarrollo de esta respuesta depende de la coordinación de células T, macrófagos, y otras células presentadoras de antígeno especializadas particularmente las células dendríticas. Muchas de estas interacciones ocurren en los nódulos linfáticos regionales.¹²

Las células dendríticas son particularmente, eficientes células presentadoras de antígeno (APCs), que reflejan una superficie robusta de moléculas del MHC y de otras moléculas (B7 y molécula-1 de adhesión intracelular), las cuales proveen señales coestimuladoras para la activación de células T. La aparición de células dendríticas juega un papel crítico en la iniciación de la respuesta primaria del huésped para la patogénesis, porque éstas son células más eficientes para la presentación de antígeno a las células T ingenuas; esto puede ser particularmente cierto en el pulmón, porque los macrófagos alveolares parecen ser células presentadoras de antígeno ineficientes, y sólo sirven para inhibir la activación de células T.^{7, 12}

Como se indicó previamente las micobacterias pueden sobrevivir y replicarse dentro de la vacuola fagocítica en un macrófago no activado y ser secuestradas en el compartimento citoplásmico. De esta manera, la micobacteria puede escapar al reconocimiento por la respuesta inmune celular del huésped mediada por las moléculas clase I del MHC y continuar proliferando. Así la capacidad de las APCs para presentar antígenos del compartimento extracitólico en asociación con las moléculas clase I del MHC son particularmente importantes en el control de la infección micobacteriana.^{8, 10, 11, 12}

Linfocitos:

El desarrollo de la protección inmune para o contra la infección micobacteriana es críticamente dependiente de células-T $\alpha\beta$ CD4⁺ y CD8⁺, ya que al comienzo de la infección hay un gran número de estas células en la periferia de los granulomas, lo cual es indicativo de una respuesta efectiva del huésped.¹²

Citocinas:

Estimuladas por las micobacterias, las células T, junto con los macrófagos y células NK; elaboran citocinas que conducen al reclutamiento y activación de monocitos y macrófagos incrementando así la actividad microbicida. La elaboración de citocinas que activan a los macrófagos refleja una compleja interacción de linfocitos y macrófagos.^{8, 12}

RESPUESTA INMUNE CELULAR

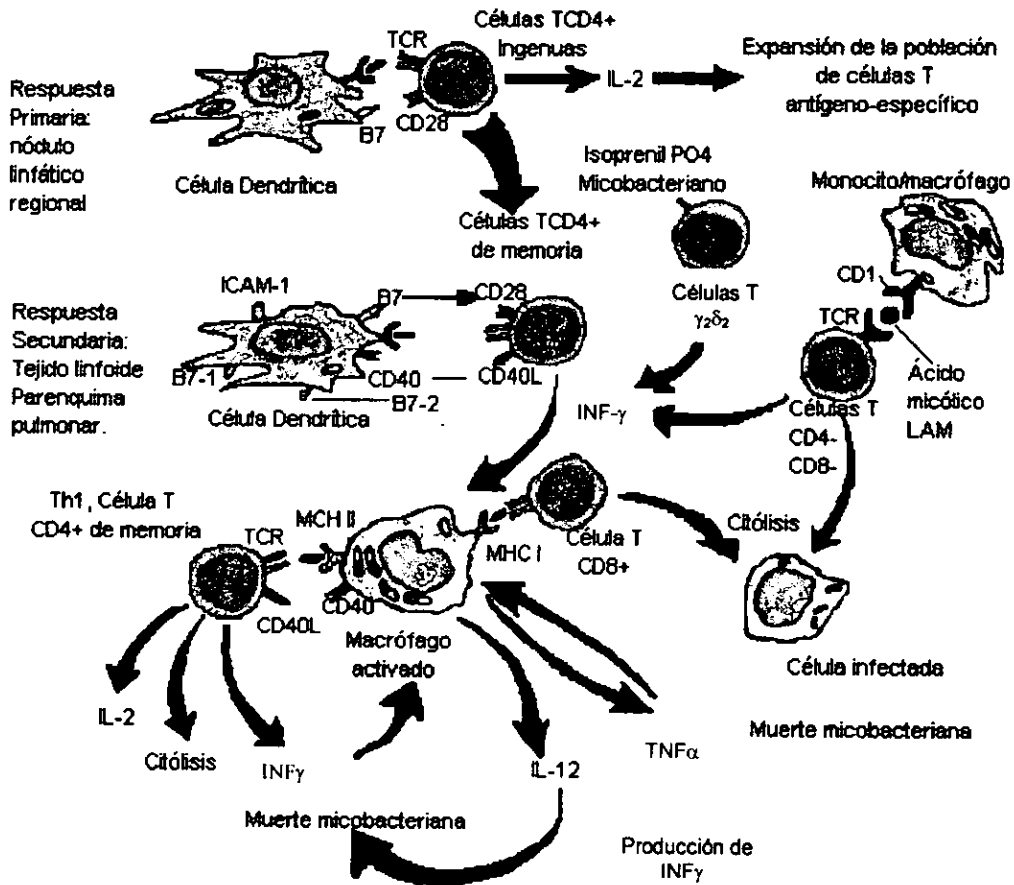


Figura 2.

Fuente: Referencia 12.

La elaboración de citocinas por las células T citotóxicas y células NK pueden contribuir al control de la infección. Las células T- $\alpha\beta$ CD8⁺ son mediadores convencionales de citotoxicidad, pero ambas células T CD4⁺ y CD8⁺ son directamente citolíticas para las células infectadas con micobacterias. La actividad citotóxica ayuda en el control de la infección mediante la lisis de células incapaces de matar a los microorganismos, las cuales son engullidas por monocitos microbicidas y macrófagos activados (ver figura 2).¹²

Contención de la infección:

En las áreas de infección localizada se presenta la acumulación de linfocitos T activados y monocitos. En el pulmón, estos monocitos reclutados son más capaces de fagocitar y matar a las micobacterias que los macrófagos alveolares reclutados, y por lo tanto tienen la capacidad de contener la infección más efectivamente.^{8, 12}

Las micobacterias liberadas del área inicial de infección pueden infectar otras células o ser englobadas y destruidas por monocitos sanguíneos activados.^{10, 12}

En resumen la defensa del intrínseca del huésped al pulmón puede limitar la replicación inicial micobacteriana, pero el desarrollo de la respuesta antígeno específica por la inmunidad celular T, parece ser crítica para el control de la infección. La iniciación de la inmunidad antígeno específica sigue a la migración de APCs, particularmente células dendríticas, del nódulo linfático regional del pulmón. Estas células elaboran citocinas y presentan antígenos micobacterianos eficientes a las células T CD4⁺, $\alpha\beta$ ⁺. Recientemente se han descrito novedosos antígenos no proteicos y células T que responden a estos antígenos y pueden también contribuir a contener la infección, particularmente en la fase rápida de la respuesta del huésped. La respuesta de las células T a las micobacterias es actuar como llave efectora para la elaboración de citocinas (INF- γ y TNF- α). La eficiencia con la cual esta respuesta se desarrolla probablemente determina que tanto será limitada la infección activa o que tanto progresará a la enfermedad.¹²

EPIDEMIOLOGÍA:

Aunque la tuberculosis es una enfermedad prevenible y curable, sigue constituyendo una amenaza para la salud pública en la Región de las Américas. Pese a que desde hace varias décadas se conocen medicamentos y tratamientos eficaces, así como medidas y procedimientos para su control, actualmente se asiste un recrudecimiento de la frecuencia de la enfermedad en todo el mundo, por lo que en 1993 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró a la tuberculosis una "emergencia sanitaria mundial".¹⁴

Entre 1986 y 1996 el número de casos anuales notificados a la OPS fluctuó en general entre 230.000 y 250.000 con una tasa de incidencia de 31 a 35 por 100.000 habitantes. El hecho de que no haya una tendencia clara de la incidencia notificada a nivel regional se debe a diversos factores, pero sobre todo a problemas de calidad de los sistemas de registro e información en un número considerable de países.^{14, 15}

En México varios factores además de la pandemia del VIH y el crecimiento demográfico han creado condiciones propicias para el agravamiento del problema. En diciembre de 1994, la moneda nacional sufrió una fuerte devaluación, reflejándose sus consecuencias en la situación socioeconómica imperante, con una alta desproporción entre necesidades y recursos disponibles; acentuándose en 1995 las condiciones de pobreza traducidas en iniquidades en la presentación de servicios de salud a la población. Aumentando el crecimiento de la población marginal en las diferentes localidades del país, principalmente en Chiapas, Guerrero y Oaxaca, no descartando la intensificación de los movimientos migratorios en busca de mejor calidad de vida, como consecuencia de la situación mencionada; sumando a esto debilitamiento de los programas de control a causa de los reajustes económicos, determinando irregularidad en los tratamientos y provocando a su vez en muchos casos resistencia a los medicamentos antituberculosos.^{14, 15}

El cálculo de morbilidad tuberculosa es cada vez más difícil, porque los enfermos sobreviven y curan en mayor proporción y no hay regla uniforme para que no se sumen los casos nuevos a los curados. La declaración de casos nuevos nunca ha dado sin embargo números exactos. Prácticamente el único indicio de prevalencia de la tuberculosis, a pesar de no ser exacto es el número de defunciones por esa enfermedad.⁹

Actualmente la tuberculosis ocupa el lugar 18 entre los casos generales de muerte. En 1995 la tasa de mortalidad fue del 5%; produjo 4.648 muertes, de las cuales la tuberculosis pulmonar fue responsable del 87%, la meníngea del 4% y otras formas del restante 9%.^{15,16}

La tasa de morbilidad por tuberculosis varió de 17,3 por 100.000 habitantes a 22,2 en 1996. Predominando la forma pulmonar con 87% de los casos, y las formas meníngeas sólo representaron el 1% de los casos en 1996, 85% de los casos ocurrieron en mayores de 15 años; 531 enfermos presentaron resistencia a medicamentos (45% de ellos con polifarmacoresistencia), 76% se curaron, y el 1% abandonaron el tratamiento.¹⁵

Hasta septiembre del 2000 los estados con mayor riesgo de mortalidad fueron los considerados con deficiencias económicas como Chiapas y Guerrero, y con un movimiento poblacional importante como Baja California, Nuevo León y Veracruz (ver figura 3).¹⁷



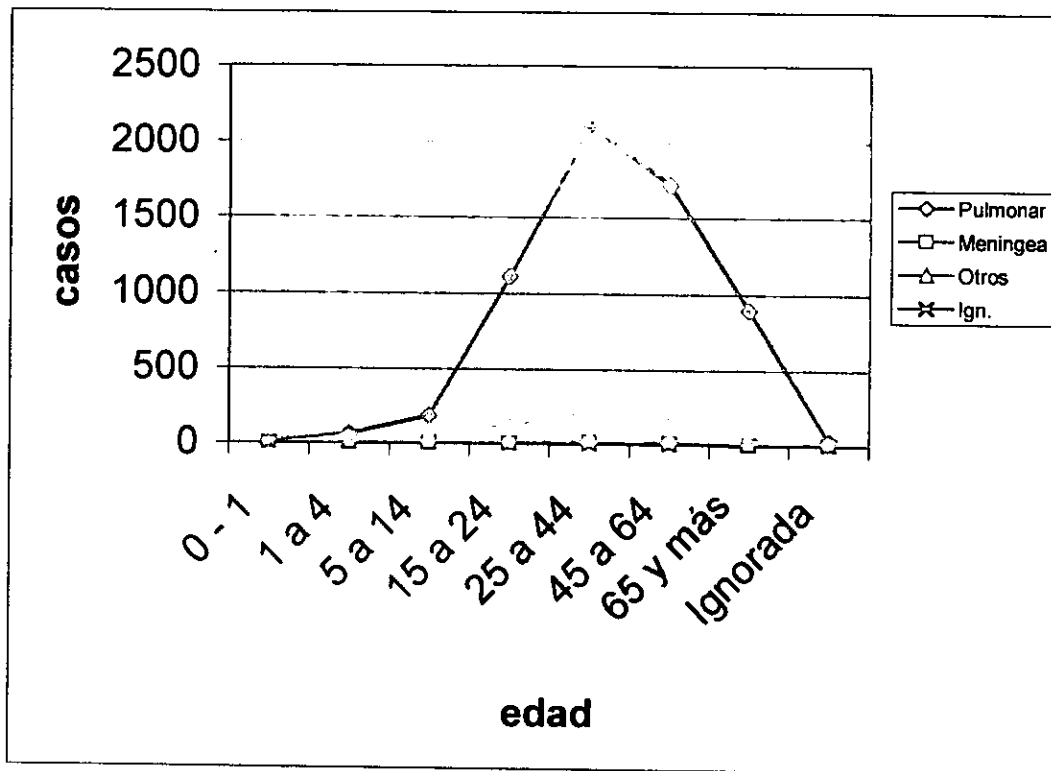
Figura 3.

Se estima que hay más de 100.000 primoinfecciones y alrededor de 30.000 casos nuevos cada año. La susceptibilidad de la tuberculosis por grupos de edad se representa en forma de “U” invertida afectando a la población económicamente activa (ver tabla y gráfica 1). Siendo la localización pulmonar la de mayor riesgo en la mayoría de la población.¹⁷

TUBERCULOSIS POR GRUPOS DE EDAD

Edad	Pulmonar	Meningea	Otros	Ign.
0 - 1	3	1	2	0
1 a 4	64	4	34	1
5 a 14	187	6	102	4
15 a 24	1110	9	123	4
25 a 44	2102	21	215	6
45 a 64	1716	17	139	8
65 y más	894	2	46	6

Tabla 1.
Fuente: Referencia 17



Gráfica 1.
Fuente: Referencia 17.

Así la tuberculosis continúa aún dejando huella con el paso de los años, y durante ellos, sólo se ha modificado su comportamiento cuando se realizan actividades de emergencia para su control.

ETIOLOGÍA:

MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA:

El microorganismo que causa la tuberculosis pertenece al género *Mycobacterium*, que se clasifica en la familia *Mycobacteriaceae* del orden *Actinomycetales*. Los taxonomistas no están de acuerdo sobre la clasificación adicional del género *Mycobacterium* pero un concepto útil es el del complejo de la tuberculosis, que incluye *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. africanum*.^{6,7}

Los bacilos de la tuberculosis son bastoncillos delgados, rectos o ligeramente curvos, que pueden medir de 0.2 a 0.6 μm de diámetro y de 1 a 10 μm de longitud. Aparecen como células aisladas, pero con frecuencia, se encuentran en grupos pequeños, y a veces en masas compactas en las que no se puede distinguir cada bacilo.

Cada célula tiene una estructura granular marcada. Con frecuencia aparecen con abundantes gránulos citoplásmicos, que pueden ser de glucógeno o cuerpos de polimetáfosfato (volutina) que incluso, pueden proporcionar a la célula un aspecto arrosariado.^{6,8} Producen ocasionalmente filamentos ramificados, pero estas formaciones se pueden alterar con facilidad.¹⁸

M. tuberculosis es un parásito intracelular obligado aerobio estricto, inmóvil y no esporulado, crece mejor a 37°C y su crecimiento es nulo por debajo de los 30°C o a temperaturas superiores a 42°C. Su crecimiento es relativamente lento debido a que su tiempo de generación es en promedio de 18 a 24 horas,^{8,19,20} y si se utiliza un medio sólido para su crecimiento, tardan en aparecer las colonias aproximadamente 34 días.²⁰

Para su aislamiento primario, se necesitan medios enriquecidos; los medios más complejos suelen contener huevo, harina de papa y glicerol, además de añadir verde de malaquita para inhibir el crecimiento de los microorganismos contaminantes,¹⁹ como ejemplo de algunos de estos medios se cita el siguiente cuadro:

MEDIOS DE AISLAMIENTO MICOBACTERIANOS NO SELECTIVOS		
Medio	Componentes	Agente inhibidor
Löwestein-Jensen	Huevos enteros coagulados, sales definidas, glicerol, harina de papa.	Verde de malaquita 0,025 g/100 mL
Petragnani	Huevos enteros coagulados, yemas de huevo, leche entera, papas, harina de papa, glicerol.	Verde de malaquita 0,052 g/ 100 mL
Medio American Thoracic Society	Yema de huevos frescos coagulados, harina de papa, glicerol.	Verde de malaquita 0,02 g/ 100 mL
Middelbrook 7 H10	Sales definidas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa, glicerol, dextrosa y vitaminas.	Verde de malaquita 0,0025 g/ 100 mL
Middlebrook 7 H11	Sales definidas, vitaminas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa, glicerol, 0.1% de hidrolizado de caseína.	Verde de malaquita 0,0025 g/ 100 mL

Cuadro 1.
Fuente: Referencia 19

En este tipo de medios de cultivo, el crecimiento de las micobacterias es muy abundante por ello se le llama a sus cultivos, cultivos “eugónicos”.⁸

Uno de los medios más conocidos y utilizado es el medio de Löwestein-Jensen, el crecimiento de las micobacterias en este medio sólido se caracteriza porque se desarrollan como colonias secas, granulares, con áreas nodulares, amontonadas de color crema o amarillentas.⁸

También pueden crecer en medios sintéticos simples después del primoaislamiento, con glicerol u otros compuestos como única fuente de carbono y sales amónicas como fuente de nitrógeno, en general asparagina o mezclas de aminoácidos para estimular el inicio del crecimiento e incrementar su velocidad.⁶ La presencia de algunos agentes tensoactivos como el Tween 80, derivado del monolato de sorbitanol, que actúa como agente dispersante facilita el crecimiento que se produce entonces de una manera difusa y no como masas compactas.⁸

Los bacilos se desarrollan en un pH de 6.0 a 7.6. El pH óptimo para el mantenimiento de la virulencia es de 6.8; los cultivos de las variedades humana y bovina desarrollados a pH 6.0 se atenúan rápidamente.^{5,6}

ESTRUCTURA:

Las micobacterias poseen una pared celular compleja. El fundamento estructural consiste en un esqueleto peptidoglicano con moléculas de arabinogalactano-micolato unidas por fuerzas covalentes, y está cubierto por una capa de lípidos libres y polipéptidos (ver figura 4 y 5).¹⁸

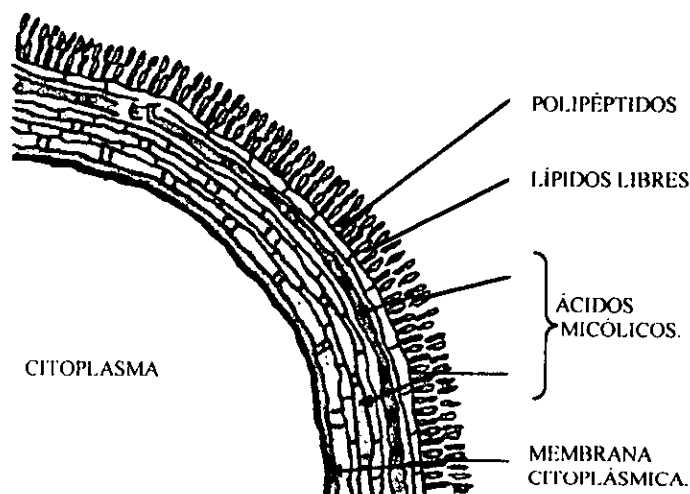


Figura 4.
Fuente: Referencia 18.

Los glucolípidos superficiales, entre los que se incluyen micósidos específicos de especie (peptidoglucolípidos, oligopolisacáridos) y glucolípidos fenólicos son antigénicos. Constituyen el 25 % del peso seco de la pared celular y contribuyen a las propiedades hidrofóbicas de las micobacterias. Otro lípido de pared celular, el factor cordón (6'6 dimicolato de trehalosa) es responsable de la alineación paralela de hileras de bacilos (formación de cordones); una característica de las cepas virulentas de *M. tuberculosis*.^{8, 18}

Las cadenas peptídicas de la capa externa comprenden el 15 % de peso seco de la pared celular y son antígenos importantes desde el punto de vista biológico, porque estimulan la respuesta de la inmunidad celular frente a la infección.¹⁸

El esqueleto peptidoglicano es relativamente uniforme en todas las especies micobacterianas, y representa el componente principal de la pared celular, los puentes peptídicos entre las cadenas de peptidoglicano transforman el esqueleto en una estructura rígida. Los ácidos micólicos unidos a D-arabinosa y D-galactosa están conectados a estas cadenas mediante enlaces covalentes, y son los lípidos principales en la pared celular micobacteriana.¹⁸

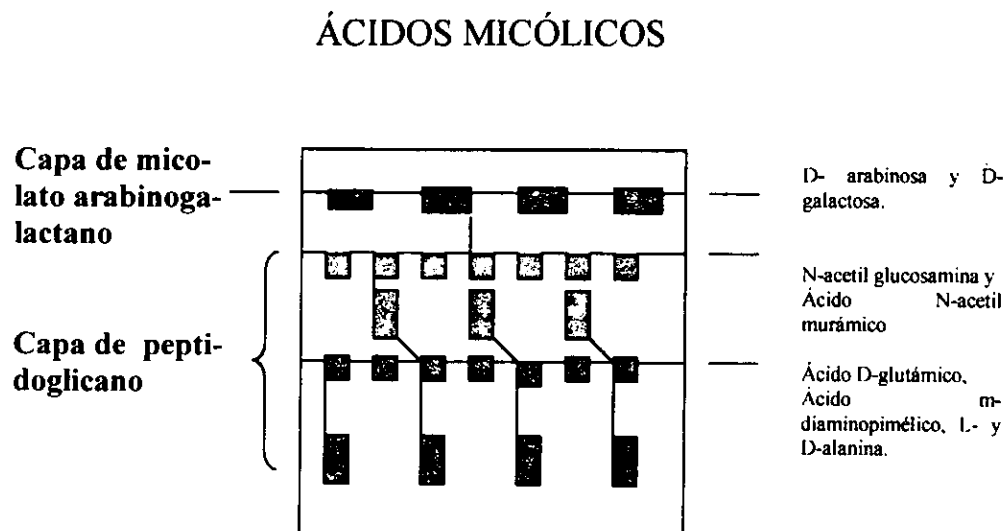


Figura 5.
Fuente: referencia 18.

Debido a su alto contenido lipídico, las paredes celulares de las micobacterias tienen la capacidad única de ligarse a la fucsina, no siendo decoloradas por el alcohol ácido, y son hidrofóbicas. Además de su relativa impermeabilidad a los colorantes, son responsables de la resistencia a la acción letal de los ácidos, álcalis y la acción bactericida de los macrófagos, junto con el complemento; y también contribuyen a la lentitud del crecimiento de las micobacterias, tanto al dificultar el paso de las sustancias nutritivas al interior de la célula, como al consumir gran parte de la capacidad biosintética de ésta.⁸

Es importante también mencionar que los bacilos de la tuberculosis son relativamente resistentes a la desecación, los desinfectantes químicos y a otros factores ambientales. De manera que en los esputos bacilíferos expuestos al sol, los

bacilos pierden la capacidad de crecimiento después de dos a cinco horas de exposición, que se atribuye a la radiación ultravioleta.^{8,9}

El bacilo en lugares oscuros sobrevive muchos días. El sol es el enemigo más valioso contra él, lo que tiene gran importancia para nulificar el material infectante. Los bacilos pueden permanecer viables en los medios de cultivo durante dos a ocho meses. Los organismos de los cultivos mueren en dos horas cuando se exponen a la luz directa del sol.^{8,9}

Pueden permanecer viables en esputo durante semanas o meses, si se desecan completamente de manera que sean capaces de flotar como polvo en el aire, pueden ser infecciosos durante 8-10 días, en estas condiciones pueden sobrevivir a 100°C durante una hora, pero se destruyen con calor húmedo de la manera habitual.^{8,9}

DIAGNÓSTICO:

El diagnóstico presuntivo de la enfermedad micobacteriana, lo realiza el médico basándose en la sintomatología del paciente; confirmándolo mediante la prueba de la tuberculina y radiografía de tórax, pero el diagnóstico definitivo requiere del aislamiento e identificación del organismo infectante por el laboratorio.²⁰

La contribución del laboratorio clínico al diagnóstico de las enfermedades micobacterianas consiste principalmente en:

- ♦ Detección y aislamiento de la micobacteria,
- ♦ identificación y
- ♦ determinación de su sensibilidad.^{10, 20, 21}

Estudios que sólo pueden ser realizados por laboratorios correctamente equipados, con áreas especiales y con personal capacitado para trabajar la micobacteriología; tomando en cuenta estos puntos y como consecuencia de acuerdo a sus servicios,^{10, 20, 21} se han dividido en tres niveles:

- ♦ **Nivel I:** Se encarga de recolectar y transportar muestras, además de preparar y examinar frotis para detectar bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR).^{20,21}
- ♦ **Nivel II:** Realiza los procedimientos del Laboratorio de Nivel I, más aislamiento e identificación de *M. tuberculosis* (opcional).^{20,21}
- ♦ **Nivel III:** Realiza todos los procedimientos del Laboratorio de Nivel II, más la identificación de las micobacterias que no son *M. tuberculosis* y drosensibilidad.^{20, 21}

De los cuales en nuestro país hay una red de 589 laboratorios que realizan baciloscopías, 28 que hacen cultivos y tres más que practican estudios de susceptibilidad antimicrobiana, registrados ante Salubridad²² y que obligatoriamente deben conocer y practicar las medidas de seguridad necesarias para trabajar en el área de micobacteriología, de las cuales se habla en el anexo I.

Se sabe que la rápida identificación, tratamiento y por lo tanto control de pacientes con tuberculosis es de extrema importancia para minimizar el riesgo de futuras extensiones epidémicas.²⁵

En los programas de salud pública se emplea el término “detección de casos” de preferencia al término “diagnóstico”. Desde luego es cierto que no puede haber detección de casos sin el proceso adecuado de diagnóstico, pero en realidad la detección de casos se extiende más allá de éste último, puesto que implica una búsqueda organizada y sistemática de casos en la comunidad cuya finalidad es controlar ésta y no identificar simplemente que ocurre en los individuos.²⁶

Sin embargo es importante saber qué métodos y técnicas permitirán descubrirlos en gran número, con rapidez razonable y costo mínimo.

A continuación se hablará de los métodos para detección de casos utilizados en el país, bajo dos encabezados, instrumentos diagnósticos y aplicabilidad de los mismos.²⁶

Los instrumentos diagnósticos se pueden comparar basándose en la sensibilidad, especificidad y costo. La sensibilidad mide la capacidad de un instrumento para captar los casos verdaderos entre las personas examinadas; cuanto mayor es la sensibilidad, menor es el número de casos que pasarán inadvertidos (falsos negativos). La especificidad mide la capacidad para evitar la identificación

de las personas como “casos” sin serlo: cuanto mayor es la especificidad, menos “casos” falsos se incluirán.^{26, 27, 29, 30}

El costo refleja el gasto total de dinero que se requiere para cubrir aspectos como salarios, asignaciones, equipo, materiales diversos y transporte, en relación con el número de casos verdaderos descubiertos.^{26, 28}

Debido a que las estimaciones de los costos varían a veces en las distintas partes del país, sólo sirven como guías generales para la selección de los instrumentos diagnósticos.²⁶

PRUEBA DE LA TUBERCULINA:

La prueba de la tuberculina identifica la infección y no la enfermedad; por lo tanto tiene utilidad potencial sólo para la investigación masiva.^{10, 11, 26, 31}

Desde luego se aplica sólo a las personas no vacunadas y, al estar en operación actualmente los programas de vacunación BCG en la mayor parte de los países; su potencial de acción se reduce sólo a los estudios epidemiológicos.²⁶

El método para efectuar la técnica de la prueba tuberculínica, la lectura de induración después de 48 a 72 horas y la interpretación de los resultados se describen en el anexo II.^{10, 11, 26}

EXAMEN RADIOLÓGICO DE TÓRAX:

El examen radiológico de tórax es de alta sensibilidad, relativamente baja especificidad y costo elevado. El costo es casi prohibitivo cuando el procedimiento se aplica a una investigación epidemiológica, y menor cuando lo emplean instituciones de salud entre los sujetos sintomáticos, relativamente menos numerosos. La especificidad de la interpretación de las radiografías de tórax puede ser muy baja si los intérpretes no tienen experiencia suficiente, lo que suele ser el caso bajo las condiciones del programa.^{26, 32}

La principal desventaja del examen radiológico consiste en que sólo puede ofrecerse en centros urbanos con gran asistencia de pacientes y no es adecuada para las instituciones de salud rurales y sencillas. No es solución muy satisfactoria enviar a los pacientes de los poblados pequeños hacia los centros urbanos para los

exámenes radiológicos: muchos de ellos no irán o no podrán pagar el costo del viaje.²⁶

MICROSCOPIA DEL FROTIS DE ESPUTO (BACILOSCOPIA):

La microscopía del frotis es comúnmente conocida con el nombre de "baciloscopía", que se refiere a la técnica fundamental mediante el examen microscópico realizado en toda investigación bacteriológica, en casos sospechosos de tuberculosis, donde se hace la búsqueda de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) en muestras de pacientes sospechosos, tanto para diagnóstico en un caso como éste, o para control de tratamiento en el caso de pacientes confirmados.^{21, 24}

La microscopía del frotis de esputo es de sensibilidad y especificidad suficientes y costo bajo cuando se aplica a los sujetos sintomáticos respiratorios. El cultivo del esputo identifica 20 a 25 % más casos entre los sintomáticos en las áreas de gran prevalencia que el examen simple de frotis, pero la ejecución del frotis mediante exámenes repetidos a cada paciente, vuelve la sensibilidad de la microscopía del frotis de esputo muy parecida a la de un solo cultivo, cuando se realizan correctamente y son leídas debidamente.^{20, 26}

CULTIVO:

El cultivo de esputo tiene sensibilidad, especificidad y costos elevados. Es un instrumento diagnóstico complejo y especializado que requiere gran pericia para su instalación y operación, y no es práctico para el empleo general.^{26, 34}

La situación de detección de casos comprende:³²

1. Valores culturales, alfabetización, aspiraciones sociales y conducta de las personas.
2. El terreno, ya sea urbano o rural, distancias y posibilidades de transporte.
3. Estructura del sistema de atención de salud, recursos disponibles, naturaleza de los medios existentes, posibilidad de capacitar a los trabajadores de salud para que operen en el método de detección de casos seleccionados, medios y conocimientos para la conservación del equipo.

De manera que la microscopía del frotis de esputo es preferentemente utilizada para la detección de casos en las instituciones rurales y en los dispensarios

y centros de salud urbanos.

Todas las muestras clínicas que deban ser analizadas para la determinación de una posible infección micobacteriana, deben ser examinadas mediante la observación de acidorresistencia de los bacilos. La acidorresistencia de las micobacterias convierte a la observación en el microscopio, en la investigación primordial en el laboratorio. Ya que la información microscópica es el criterio fundamental para detectar a los pacientes con tuberculosis.^{20, 21} La cual puede realizarse mediante diferentes técnicas de tinción.

MÉTODOS DE TINCIÓN:

Método de Truant (Microscopía de fluorescencia):

Está basado en la tinción con auramina-rodamina, la mayor ventaja de este método estriba en la facilidad de observación, rápida y completa. Pueden utilizarse los objetivos de bajo aumento, permitiendo la lectura de grandes áreas en poco tiempo. Además de que hay un mejor contraste, visualización de microorganismos aislados con facilidad, por tanto es poco importante la agudeza visual de cada observador.^{20, 21}

Entre sus desventajas, resulta inespecífica porque algunas *pseudomonas* pueden dar resultados positivos, por lo tanto siempre se tiene que realizar a la par con la tinción de Ziehl-Neelsen para comprobar que realmente se trata de micobacterias cuando se tenga un resultado positivo. (Elorriega G. Apoyo microbiológico para diagnóstico de tuberculosis. Presentado en: IV curso de actualización en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis en el niño y el adulto, mayo 10, 2000, México, D.F).

También se requiere de un microscopio con un sistema de iluminación de cuarzo-halógeno con una adecuada combinación de filtros primarios y secundarios.²¹

Tinción de Ziehl-Neelsen:

Es la tinción convencional de acidorresistencia donde se utiliza carbolfucsina con un colorante de contraste (azul de metileno), que debe ser observada a inmersión, donde las micobacterias destacan como bacilos rojos sobre un fondo azulado o verdoso dependiendo del contraste usado; cuya técnica se realiza en caliente.^{20, 21}

Tinción de Kinyoun:

Es un método de tinción en frío, cuyos pasos en la tinción son similares a los del método anterior, pero existe el riesgo de que otras estructuras den la coloración positiva.²¹

La fluorescencia en la tinción de Truant es equivalente a la acidorresistencia; y estos métodos son los que se utilizan en la realización de las baciloscopías.

BACILOSCOPIA DIRECTA:

Se le conoce con el nombre de "baciloscopía directa", al frotis realizado para la búsqueda de BAAR en una muestra de esputo no tratada.²⁴

En el país el método de diagnóstico preliminar de tuberculosis pulmonar más frecuentemente utilizado es la baciloscopía directa de tres muestras de expectoración teñidos por la técnica de Ziehl-Neelsen.²²

La especificidad, simplicidad y rapidez de las baciloscopías han hecho del método una técnica popular para la rápida detección de tuberculosis pulmonar activa.^{25, 30} Aunque la sensibilidad de la técnica está influenciada por varios factores:

- a) *El número de bacilos que se pueden encontrar en una muestra positiva.*^{20, 21, 32}

Para ello es importante considerar que la cantidad de esputo en un portaobjeto es de aproximadamente 0.01 mL. Este esputo se extiende sobre un área de 200 mm² (ver figura 6). Si se examina 100 campos microscópicos, sólo se habrá observado el 1% del frotis.³²

Portaobjeto utilizado en la preparación de frotis de esputos.

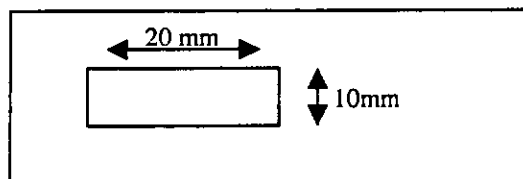


Figura 6.
Fuente: Referencia 32.

Así, si una muestra de esputo contiene unos 5000 bacilos por mL. todo el frotis (si se preparó según lo indicado) contendrá unos 50 bacilos. Si éstos estuvieran distribuidos regularmente en los 10,000 campos microscópicos del frotis habrá un bacilo por cada 200 campos. Examinando 100 campos hay una probabilidad del 50% de encontrar ese bacilo. Para encontrar un bacilo por campo, tendría que haber 10^6 bacilos por mL. de esputo.³²

<i>Cálculo de la cantidad de bacilos acidorresistentes en las muestras de esputo y número probable de bacilos en los frotis (valores mínimos calculados).</i>		
No. de campos de inmersión en aceite por bacilo.	No. de bacilos por frotis	No. de bacilos por mL. de muestra
100	100	10,000
10	1,000	100,000
1	10,000	1,000,000

Cuadro 2.
Fuente: Referencia 32.

Estos cálculos han sido realizados suponiendo que los bacilos están distribuidos homogéneamente en toda la muestra; sin embargo, se sabe, que los bacilos no se distribuyen en forma homogénea en toda la muestra; si no que con frecuencia se presentan en grupos, situación que explica la variabilidad en el número de bacilos encontrados en diversas muestras de esputo de una misma persona.³²

Por lo tanto la probabilidad de encontrar los bacilos en un frotis aumenta de acuerdo con la concentración de los mismos en la muestra, de tal forma que se ha encontrado que:

Cantidades de bacilos que se observaron en los frotis, concentraciones de bacilos cultivados en muestras de esputo y probabilidad de resultados positivos.

No. de bacilos observados.	Cálculo de concentración de bacilos por mL de muestra.	Probabilidad de un resultado positivo.
0 en 100 o más campos	Menos de 1,000	Menos de 10 %
1-2 en 300 campos	5,000-10,000	50%
1-9 en 100 campos	Unos 30,000	80%
1-9 en 10 campos	Unos 50,000	90%
1-9 por campo	Unos 100,000	96.2%
10 o más por campo	Unos 500,000	99.95 %

Cuadro 3.

Fuente: Referencia 32

b) Las causas por las cuales un frotis resulta falsamente positivo:

Cuando encontramos partículas ácido-alcohol resistentes que no son bacilos puede tratarse de:

- *Partículas de alimento:* por ejemplo ceras y aceites. Para eliminarlas el paciente debe enjuagarse la boca con agua pura y limpiarse los dientes (sin usar dentífricos, o desinfectantes), antes de obtener la muestra de esputo. Es por ello que se recomienda obtenerla antes de que el paciente desayune o cuando tenga el estómago vacío.
- *Colorantes precipitados:* obstaculizan la lectura y en algunas ocasiones, pueden confundir al observador poco experimentado.
- *Bacilos saprófitos ácido alcohol-resistentes:* se encuentran en el suelo o agua corriente.

- *Fibras y pólenes:* Las fibras de lana, algodón, papel de filtro y bambú, se presentan aislados, con mucha frecuencia sólo en un campo microscópico. El polen de ciertas coníferas se ve en forma de cortos bastoncillos cocoides y rara vez se presentan en las muestras.
- *Rasguños en el portaobjetos:* Los rasguños retienen el colorante rojo y confunden a los principiantes, se ven filas paralelas y en general son ondulados y más largos que los bacilos.
- *Contaminación por transferencia de bacilos de un frotis a otro:* Cuando varios portaobjetos se encuentran simultáneamente en los tanques de coloración o decoloración. También se pueden transferir accidentalmente cuando la varilla de vidrio o el cuentagotas que se usa para colocar el aceite de inmersión sobre el portaobjetos positivo arrastra algo del material. Puede suceder lo mismo cuando se usa papel secante para secar consecutivamente varios frotis teñidos.^{21, 32}

c) Las causas por las cuales un frotis de esputo resulta falsamente negativo:

Comúnmente se debe a deficiencias en la preparación del frotis, en la coloración y en la observación. La toma adecuada de la muestra y la siguiente selección de las partículas de esputo son esenciales para la preparación de un frotis y merecen especial atención, los factores que influyen son:^{21,32}

- *Toma inadecuada del esputo.*
- *Conservación inadecuada de las muestras de esputo y de los frotis teñidos:* Los bacilos pueden perder su ácido-resistencia como resultado de la exposición de la muestra a la luz solar directa, radiaciones, calor excesivo, o por permanecer más de una semana en un ambiente cálido y seco. Los frotis teñidos con la coloración de Ziehl-Neelsen que tienen que conservarse para ser examinados nuevamente, se deben tratar con xileno para eliminar el aceite de inmersión.
- *Selección de partículas para la preparación de los frotis:* Los bacilos de la tuberculosis se encuentran sobre todo en pequeños glóbulos (“lentejas”) de sustancia amarillenta o gris verdosa, de consistencia

espesa, cremosa. Por ello se debe separar cuidadosamente esos glóbulos del resto del esputo, y transferirlos a un portaobjeto.

- *Preparación incorrecta del frotis o coloración inadecuada:*
 - a) Cuando se ha esparcido muy poco material en el portaobjeto, de tal modo que el frotis es demasiado delgado.
 - b) El frotis es demasiado grueso y no pasa suficiente luz.
 - c) No se ha fijado suficientemente el frotis y parte del material se ha desteñado.
 - d) El proceso de coloración con carbolfucsina fue demasiado breve o se excedió con la ebullición.
 - e) La coloración ha sido demasiado prolongada.
 - f) La coloración de contraste fue demasiado intensa y los bacilos acidorresistentes no quedaron suficientemente claros.

- *Examen inadecuado del frotis:* si la observación se realiza sin orden, o demasiado brevemente, o si la iluminación es inadecuada puede ser que el número de campos observados sean insuficientes.^{21,32}

Las discrepancias en los resultados de microscopía se deben con mayor frecuencia a la deficiente toma de muestras de esputo (ver anexo III), y a la preparación inadecuada de los frotis, lo que lleva a errores de interpretación.

BACILOSCOPIÁS POR CONCENTRACIÓN:

Por muchos años la técnica de la baciloscopía directa fue y continúa siendo necesaria (debido a la falta de recursos de muchos laboratorios del país) para el diagnóstico preliminar de la tuberculosis pulmonar, a pesar de estar sujeta a diversos factores que conducen a errores como se indicó antes, y a la dificultad de su lectura, debido a la gran cantidad de células, bacterias de la flora y otras estructuras que obstruyen la observación de los BAAR. Motivos que hacen necesario recurrir a los métodos que implican el tratamiento de esputo con un agente descontaminante.

Recordemos que el primer progreso real en lo que se refiere a estos métodos fue el de Petroff en 1915; cuando reportó que *M. tuberculosis* sobrevivía a la exposición con NaOH al 4% por 24 horas, mientras que las bacterias contaminantes de la misma muestra morían. Debido al alto contenido lipídico de la pared celular de las micobacterias que las torna más resistentes a la destrucción por soluciones ácidas y alcalinas fuertes que otras bacterias que pueden estar presentes en el esputo. Así por años la digestión con hidróxido de sodio ha sido el método estándar en la micobacteriología.³⁵

Dando paso al surgimiento de las técnicas de concentración de esputo tratadas con un agente digestor, útiles para aislar a las micobacterias, cultivarlas, y realizar la búsqueda microscópica inmediata de BAAR en las muestras tratadas bajo el procedimiento mencionado.

De manera que se le da el nombre de **baciloscopía por concentración**, a la búsqueda de BAAR mediante la observación microscópica, en un frotis realizado a partir de una muestra tratada con un agente descontaminante (ácido o álcali) por un periodo cuidadosamente controlado, y neutralizada, una vez centrifugada la muestra a alta velocidad para concentrar las micobacterias.¹⁹

Sin embargo la sensibilidad de las baciloscopías preparadas por descontaminación utilizando los métodos tradicionales, varía del 25 al 80 %³⁶ ya que su sensibilidad se encuentra influenciada por factores como:³⁷

- Calidad de la muestra.
- Agente digestor y descontaminante.
- Velocidad de centrifugación.

- Artefactos de tinción.

Ya antes se mencionó la importancia de la calidad de la muestra, así como los posibles artefactos de tinción que podemos encontrar, y las diferentes forma de evitarlos; a continuación se discutirá sobre la importancia de los agentes descontaminantes y la manera en que pueden influir en el resultado de una baciloscopia.

AGENTES DESCONTAMINANTES:

Apoyándonos en la resistencia natural de las micobacterias a soluciones ácidas fuertes y alcalinas; los especímenes con posibilidad de contener flora bacteriana mixta (como esputos, orinas, etc.), son tratados con un agente descontaminante para reducir el crecimiento bacteriano indeseable y licuar el moco (en el caso de esputos) al mismo tiempo.¹⁹

Desafortunadamente todos los métodos frecuentemente empleados para descontaminar las muestras, causan también la muerte de las micobacterias. La diferencia significativa entre estos métodos es la variación en la proporción de bacilos muertos que resultan al ser sometidos a estos procedimientos.^{19, 35,38,39}

Entre los agentes descontaminantes más utilizados se encuentran:

➤ Fosfato trisódico-Zephiran:

La función del fosfato trisódico es licuar el moco, pero requiere de una prolongada exposición cuando se utiliza solo; combinado con el Zephiran o cloruro de benzalconio (TSP-Z) acorta el periodo de exposición, ya que destruye selectivamente muchos contaminantes y tiene una menor acción bactericida sobre el bacilo de la tuberculosis.^{19, 21,35,40}

➤ Hidróxido de sodio:

Es el digestor más comúnmente utilizado, pero igual que algunos ácidos y otros digestores, es tan sólo un poco menos perjudicial que los propios contaminantes para el bacilo; ya que cuanto más fuerte es el álcali, mayor es su temperatura y, especialmente, cuanto más se deja actuar mayor es su acción nociva sobre los contaminantes y las micobacterias; por lo que un tratamiento durante 60

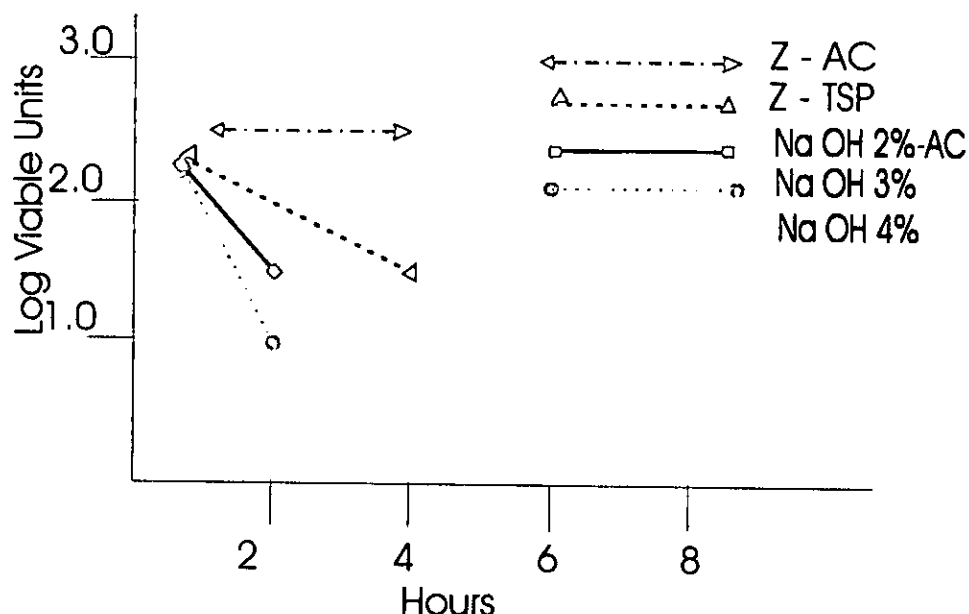
minutos a 37° C con NaOH al 4 % matará probablemente a la mayoría de los bacilos.^{19,35}

Así el hidróxido de sodio al 4% y 3% actúa como digestor y descontaminante; es tan fuerte que puede matar o afectar a las micobacterias en el espécimen, de modo que pueden crecer lentamente si es que lo hacen; por ello la exposición de las muestras a este agente en sus diferentes concentraciones debe ser cuidadosamente controlada para prevenir un daño químico excesivo.^{21,39}

➤ Hidróxido de sodio-(N-acetil-cisteína):

El N-acetil-cisteína actúa como agente mucolítico sin actividad antibacteriana, que licúa el moco por ruptura de los puentes disulfuro; y el hidróxido de sodio como agente descontaminante.

En muchos laboratorios las muestras son tratadas por este método, que aunque es menos letal que el hidróxido de sodio sólo al 3 y 4%, tiene un efecto letal proporcional a la concentración (ver la gráfica 2).^{20,35}



Gráfica 2.
Fuente: Referencia 35

La declinación de la pendiente muestra el enorme efecto perjudicial que puede ocasionar una breve demora en la neutralización de la preparación. Lo que estima el posible error inherente en los procedimientos de digestión-descontaminación en función del tiempo total de exposición al agente tóxico.^{21, 35}

Por ello se recomienda que las muestras tratadas con hidróxido de sodio sólo, deben estar en contacto con el agente descontaminante un periodo de 15 minutos a 37°C, ser centrifugadas inmediatamente por otros 15 minutos, y enseguida neutralizadas previamente decantado el sobrenadante para reducir el efecto letal al máximo, con el hidróxido de sodio.²⁴

Así mismo es importante, no olvidar que la acidoresistencia de los bacilos puede perderse cuando la integridad de la pared celular de éstos se encuentra dañada por un tratamiento drástico, y podría llevar a resultados falsos-negativos en las baciloscopías por concentración.^{5, 6}

Así un severo e inadecuado procedimiento de descontaminación de una muestra positiva, ocasiona la inactivación, o muerte del bacilo, y puede aportar resultados "falsamente positivos" en una baciloscopía por concentración, debido a un resultado "falso negativo" del cultivo; errando así un resultado verdaderamente positivo para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa, sobre todo en los casos de baja población bacilar.

❖ **Hipoclorito de sodio:**

El hipoclorito de sodio fue utilizado comercialmente primero en Estados Unidos como blanqueador textil en 1785. Sin embargo, no fue sino hasta la primera mitad del siglo XIX que su capacidad desinfectante fue clínicamente demostrada por Koch, quien encontró que puede destruir cultivos puros de bacterias.⁴²

El hipoclorito de sodio en solución (5.25 – 6%) se haya en todos los almacenes con el nombre comercial de Cloro o Clorox. Se considera como un desinfectante de actividad intermedia (el propósito de asignar categorías al nivel de actividad de los desinfectantes, se basa en los diferentes niveles de resistencia innata de los microorganismos expuestos a un espectro de diferentes agentes químicos y físicos.).^{40,43,44}

A dichas concentraciones es irritante para la piel y mucosas, excelente bactericida; ya que actúa principalmente formando compuestos de proteína-halógeno (a modo de sales) en las células vivas, provocando su muerte rápidamente, destruyendo células y bacterias vegetativas; pero no las esporas bacterianas, ni el bacilo tuberculoso, éstos últimos mueren pero no son destruidos tan rápido como las células vegetativas.^{5, 44}

Así algunos investigadores basándose en sus propiedades como desinfectante, lo utilizaron como agente descontaminante para realizar las baciloscopías por concentración, sobre todo por la seguridad que provee el agente descontaminante que tiene la capacidad de inactivar el bacilo en 15 minutos; características que hacen posible trabajar el método por concentración aunque no se cuente con gabinete de seguridad, obteniéndose muy buenos resultados.^{20, 25, 35}

VELOCIDAD DE CENTRIFUGACIÓN:

La concentración y recuperación de los bacilos ácido-alcohol resistentes en muestras clínicas es un importante paso para el diagnóstico de la tuberculosis y otras enfermedades micobacterianas.

La eficacia de la centrifugación en concentrar los microorganismos depende de una buena homogeneización de la muestra, de la reducción de su viscosidad y del peso específico de los bacilos en el líquido de suspensión, también depende de la fuerza centrífuga empleada y del tiempo de centrifugación. La concentración debe efectuarse a alta velocidad y por largo tiempo dentro de los límites de exposición al digestor.^{21, 40}

Por lo tanto la proporción de recuperación de las micobacterias viables de muestras clínicas depende del método de digestión y de la tolerancia a los ácidos y álcalis de las diferentes cepas micobacterianas, donde será importante controlar el tiempo de exposición a éstos y la velocidad de centrifugación; ya que la centrifugación a alta velocidad provoca la generación de calor, que combinado con el calor y acción del agente digestor, puede dañar o matar a los bacilos, por ello es

que se recomienda el uso de centrifugas refrigeradas, ya que cuentan con un equipo de refrigeración interno que mantiene la temperatura a un intervalo de -15°C a 25°C durante la centrifugación. Esto permite centrifugar a mayores velocidades y proteger a las muestras de la temperatura desarrollada por el rotor.^{40, 45, 46}

La velocidad de una centrífuga es expresada en revoluciones por minuto (r.p.m.), y la fuerza se expresa como fuerza centrífuga relativa (fcr). El número de revoluciones por minuto se relaciona con la fuerza centrífuga relativa, por medio de la siguiente fórmula:

$$fcr = 1,12 \times 10^{-5} \times r \times (\text{rpm})$$

Donde r, es el radio de la centrífuga expresado en centímetros y es igual a la distancia del centro del cabezal de la centrífuga al fondo del portatubos. El siguiente diagrama sirve para determinar la fcr a partir del r.p.m. y del radio (ver figura 7).⁴⁶

Es por ello que la centrifugación merece especial atención cuando se desea concentrar micobacterias y se usa un método de descontaminación, sobre todo porque puede influir notablemente en los resultados de las baciloscopías o cultivos, cuando existe una baja concentración de bacilos en la muestra analizada.

Normograma para relacionar la fuerza centrífuga relativa (fcr) con revoluciones por minuto.

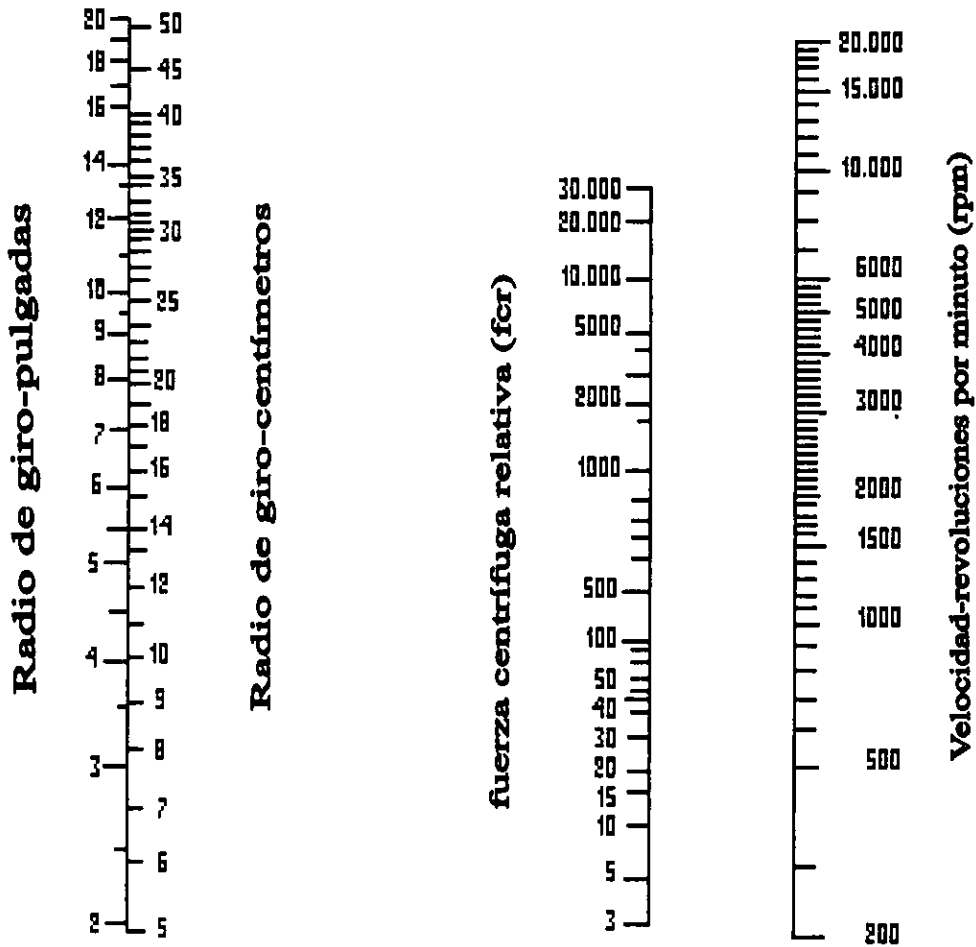


Figura 7.
Fuente: referencia 46.

TIPIFICACIÓN DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*:

De acuerdo con los métodos tradicionales las micobacterias son usualmente identificadas por la velocidad de crecimiento, morfología colonial, pigmentación y perfil bioquímico. La identificación deberá basarse en las observaciones antes mencionadas, y entonces seleccionar prudentemente las pruebas bioquímicas necesarias para la especie sospechosa.²¹

Considerando que *Mycobacterium tuberculosis* es la causa más común de la enfermedad micobacteriana en el hombre (tuberculosis pulmonar) a continuación se citarán las pruebas que pueden realizarse para su identificación; por lo cual se deben controlar los siguiente parámetros:

Temperatura óptima para el aislamiento y promedio de crecimiento:

Como se indicó antes *M. tuberculosis* crece de forma óptima a 37°C, y el tiempo de recuperación promedio en el medio de Löwestein-Jensen es de 30 días.^{19, 21,40}

Producción de pigmento:

M. tuberculosis no produce pigmento, excepto por un color ante claro, aún después de la exposición a la luz brillante.^{19, 21}

Acumulación de niacina:

No convierte la niacina libre en el ribonucleótido de niacina. Por lo tanto la acumulación de niacina soluble en agua en un medio de cultivo sobre la base de huevo es una característica diferencial valiosa para identificarlo.^{19, 21,40}

Reducción de nitratos a nitritos:

Tiene la capacidad de producir la enzima nitrorreductasa que cataliza la reducción de nitrato a nitrito. El desarrollo de un color rojo ante el agregado de los reactivos indica la presencia de nitrito y un resultado de la prueba positivo.^{19, 21,40}

Actividad catalasa:

La mayor parte de las micobacterias producen catalasa; sin embargo, existen diferentes formas, algunas de las cuales pueden ser inactivadas si se calienta el cultivo a 68°C durante 20 minutos. Por lo tanto, la medición de la cantidad de catalasa producida por una cepa dada de *Mycobacterium* antes y después del calentamiento constituye una prueba diferencial útil, en particular para identificar cepas de *M. tuberculosis* resistentes a la isoniacida. Estos microorganismos no producen catalasa. La actividad catalasa puede evaluarse semicuantitativamente, midiendo la columna de burbujas que se produce por el agregado de peróxido de hidrógeno a un tubo de cultivo, o cualitativamente, agregando este reactivo, a una colonia que crece en una placa de cultivo.⁴⁰

Inhibición del crecimiento por la hidracida del ácido carboxílico-2-tiofeno (T₂H):

La hidracida del ácido carboxílico-2-tiofeno inhibe selectivamente el crecimiento de *M. bovis*, mientras que la mayor parte de las otras bacterias pueden crecer en un medio que contenga este compuesto. Esta característica es particularmente útil para diferenciar *M. tuberculosis* de algunas cepas de *M. bovis* que pueden tener otras características similares.^{19, 40}

TRATAMIENTO:

La meta del control de la tuberculosis es la reducción de la incidencia anual de la enfermedad en el mundo entero a menos de un caso por millón en la población. La principal estrategia planteada actualmente para llegar a dicha meta es la detección de personas con tuberculosis activa y su cura por medio de un periodo corto de quimioterapia.⁴⁷

En México, desde la década de 1970, las recomendaciones de la Campaña Nacional contra la Tuberculosis incluían la administración vigilada del medicamento por el personal de salud. En 1995 la evaluación del programa demostró que la curación se alcanzaba en menos de 70% de los casos con tasas de abandono del 12%. Por lo anterior a finales de 1995 se decidió establecer la estrategia TAES: Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado, para asegurar

el tratamiento completo por medio de la supervisión de la ingestión del medicamento, y en los últimos años se demostró su utilidad, alcanzando tasa de curación por arriba de 58%.⁴⁸

En México, se inició la implantación de la estrategia con la coordinación del Sector Salud, para que el enfermo pudiera recibir el tratamiento en cualquier institución independientemente de si es derecho habiente o no.⁴⁸

El tratamiento se distingue en primario acortado, primario reforzado, y retratamiento, y se emplea en cualquier localización de la enfermedad.

Los medicamentos que se utilizan en el tratamiento de la tuberculosis son: isoniacida (H), rifampicina (R), pirazinamida (Z), estreptomycin (S) y etambutol (E), cuyas presentaciones, dosis y reacciones adversas, se señalan a continuación:

Medicamentos Antituberculosis.

Medicamentos	Clave	Presentación	Dosis Diaria		Dosis Máxima/día	Dosis Intermitentes (a)		Reacciones Adversas.
			Niños mg/Kg. Peso	Adultos mg/Kg. peso		Niños mg/kg	Adultos Dosis total máxima	
Isoniacida (H)	2404	Comp. 100 mg.	10 - 15 mg	10 - 15 mg	300 mg	10 - 15	600-800mg	Neuropatía periódica. Hepatitis.
Rifampicina (R)	2409 2410	Cáp. 300 mg. Jarabe 100mg/5 mL	10mg	15mg	600 mg	15 - 20	600 mg.	Hepatitis. Hipersensibilidad. Interacciones medicamentosas.
Pirazinamida (Z)	2413	Comp. 500 mg.	20 - 30 mg	25 - 30 mg	1.5 - 2 g	25	50 mg.	Gota Hepatitis
Estreptomycin (S). (b) (c)	2403	Fco. Ámp. 1g.	15mg	20-30 mg	1 g.	18	1 g.	Vértigo Hipoacusia Dermatosis
Etambutol (E) (d).	2505	Comp. 400 mg.	15-25 mg	20-30 mg	1200 mg	50	2400 mg	Alteración de la visión.

Cuadro 4.
Fuente : Referencia 49

- (a) 3 veces por semana según la tabla de referencia.
- (b) Enfermos con menos de 50 Kg de peso y mayores de 50 años, mitad de la dosis.
- (c) No utilizar durante el embarazo.
- (d) No usarse en niños menores de 8 años.

La dosis en niños diaria e intermitente no deberá exceder a la del adulto.

El tratamiento primario acortado, estrictamente supervisado (TAES), de la tuberculosis incluye los siguientes medicamentos: isoniacida (H), rifampicina (R) y pirazinamida (Z) y se incluye a todo caso nuevo que nunca ha recibido tratamiento, y al que lo reanuda por un abandono o por primera recaída.⁴⁹

El esquema de tratamiento primario acortado se aplicará durante 25 semanas o hasta completar 105 dosis, dividido en dos etapas: fase intensiva, 60 dosis (diario de lunes a sábado con HRZ); y fase de sostén, 45 dosis (intermitente, 3 veces a la semana, con HR), a través de medicamentos en combinación fija o separados si el paciente pesa menos de 50 Kg.

El tratamiento primario reforzado de la tuberculosis, es el que se instituye a:

Todos los pacientes que hayan abandonado, hubieren recaído por segunda ocasión o que se asocien con inmunodepresión (infección por VIH, SIDA, diabéticos, sujetos a tratamiento inmunodepresor, etc.), y deberá ser administrado en forma supervisada, durante 9 meses aproximadamente o hasta completar 144 dosis.

Los enfermos que hayan fracasado en un tratamiento primario acortado, en el primario acortado estrictamente supervisado, los multitratados con persistencia de baciloscopía positiva después del tercer mes de tratamiento regular, o con dos baciloscopías positivas con dos meses consecutivos después de un periodo de negativización deberá confirmarse por cultivo, realizarse estudios de sensibilidad a medicamentos y referirse al especialista, quién instituirá el esquema de tratamiento.

En la actualidad cada estado tiene un área TAES; seis son áreas demostrativas que han alcanzado resultados alentadores, con ingreso a tratamiento de 99.7% de los casos diagnosticados con tuberculosis pulmonar, con baciloscopía positiva, tasa de curación de 87.3% y abandono de 46% en comparación con 83.1, 76.5, y 11.2, respectivamente en las áreas no TAES.⁴⁸

OBJETIVOS

- Determinar y comparar la *sensibilidad* del método de concentración con hipoclorito de sodio con la de las baciloscopías directas y método de concentración tratado con hidróxido de sodio en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, utilizando como estándar de oro el cultivo en el medio de Löwestein-Jensen, en el laboratorio del servicio de Neumología del Hospital General de México.
- Determinar y comparar la *especificidad* del método de concentración con hipoclorito de sodio con las baciloscopías directas y método de concentración tratado con hidróxido de sodio en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, utilizado como estándar de oro el cultivo en medio de Löwestein-Jensen, en el laboratorio del servicio de Neumología del Hospital General de México.
- Determinar y comparar el *valor predictivo* del método de concentración con hipoclorito de sodio con las baciloscopías directas y método de concentración tratado con hidróxido de sodio en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, utilizando como estándar de oro el cultivo en medio de Löwestein-jensen, en el laboratorio del servicio de Neumología del Hospital General de México.

HIPÓTESIS

Considerando que el método de concentración tratado con hipoclorito de sodio como agente descontaminante, detecta más casos positivos que las técnicas tradicionalmente utilizadas en México; se espera que supere en sensibilidad, especificidad y valor predictivo al método de baciloscopías directas y de concentración tratado con hidróxido de sodio y por tanto que tenga una alta concordancia con los resultados del cultivo en el medio de Lowestein-Jensen, resultando de gran utilidad para el diagnóstico preliminar de tuberculosis pulmonar.

OBJETIVOS

- Determinar y comparar la *sensibilidad* del método de concentración con hipoclorito de sodio con la de las baciloscopías directas y método de concentración tratado con hidróxido de sodio en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, utilizando como estándar de oro el cultivo en el medio de Löwestein-Jensen, en el laboratorio del servicio de Neumología del Hospital General de México.
- Determinar y comparar la *especificidad* del método de concentración con hipoclorito de sodio con las baciloscopías directas y método de concentración tratado con hidróxido de sodio en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, utilizado como estándar de oro el cultivo en medio de Löwestein-Jensen, en el laboratorio del servicio de Neumología del Hospital General de México.
- Determinar y comparar el *valor predictivo* del método de concentración con hipoclorito de sodio con las baciloscopías directas y método de concentración tratado con hidróxido de sodio en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, utilizando como estándar de oro el cultivo en medio de Löwestein-jensen, en el laboratorio del servicio de Neumología del Hospital General de México.

HIPÓTESIS

Considerando que el método de concentración tratado con hipoclorito de sodio como agente descontaminante, detecta más casos positivos que las técnicas tradicionalmente utilizadas en México; se espera que supere en sensibilidad, especificidad y valor predictivo al método de baciloscopías directas y de concentración tratado con hidróxido de sodio y por tanto que tenga una alta concordancia con los resultados del cultivo en el medio de Lowestein-Jensen, resultando de gran utilidad para el diagnóstico preliminar de tuberculosis pulmonar.

DISEÑO DE ESTUDIO

1. **TIPO DE ESTUDIO:** Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, comparativo y experimental.

2. **UNIVERSO DE TRABAJO:** 300 muestras de esputo de pacientes internos y externos con sintomatología clínica presuntiva de tuberculosis pulmonar que son remitidas al Laboratorio del Servicio de Neumología del Hospital General de México.

3. **DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES:**
 - a) **Según la metodología:** por el tipo de estudio, las variables son de tipo categórico y dicotómicas.

4. **Criterios de selección:**

Criterios de inclusión y exclusión:

- a) Se analizaron las muestras enviadas al Laboratorio del Servicio de Neumología del Hospital General de México de los pacientes que tuvieron el diagnóstico presuntivo de Tuberculosis Pulmonar y que no hubieran iniciado o recibido tratamiento antituberculosis.

- b) Se excluyeron del estudio todas aquellas muestras que pudieran experimentar algún percance en su proceso, y las muestras de los pacientes de control.

MATERIAL Y EQUIPO

MATERIAL

- Embudo de polietileno
- Gradilla para portaobjetos
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 500 mL
- Matraz Erlenmeyer 1000 mL
- Pipetas Pasteur de punta corta
- Portaobjetos 25x75 mm
- Tubos cónicos de polietileno con tapa de rosca 50 mL

MATERIAL DIVERSO:

- Aplicadores de madera
- Bata desechable
- Cubrebocas
- Frascos de cristal
- Gasas
- Guantes estériles
- Papel filtro

EQUIPO

- Balanza analítica
- Balanza granatariaria
- Campana de flujo laminar
- Centrífuga
- Estufa bacteriológica
- Microscopio óptico

ESPECIFICACIÓN

METTLER
OHAUS
VECO
JOUAN C 312
EL CONAP
REICHERT

REACTIVOS

- Aceite de inmersión
- Ácido clorhídrico
- Agua destilada
- Alcohol etílico 96°
- Azul de metileno
- Fenol cristales
- Fucsina básica
- Hidróxido de sodio
- Rojo de fenol

ESPECIFICACIÓN

MERCK
T.J. BAKER

PROTEC
SIGMA
PETROQUIFIN
HARMECO
MERCK
MERCK

SOLUCIONES

Agentes descontaminantes

- **Hipoclorito de sodio al 5.25%.**

Hipoclorito de sodio (solución madre 6 %)... 950 mL.
Agua destilada... 136 mL.

- **Hidróxido sodio.**

Hidróxido de sodio... 40.00 g
Rojo de fenol... 0.04 g
Agua destilada... 1000 mL.

En un matraz aforado agregar 500 mL de agua destilada adicionar el NaOH y disolver, agregar posteriormente más agua hasta llegar al aforo de 1000 mL; finalmente agregar el rojo de fenol y agitar hasta su completa disolución y homogeneización, esterilizar a 120°C por 15 minutos.

Fenol

Fenol.....	50 g
Agua destilada c.b.p.....	1000 mL.

Agregar el fenol a 500 mL de agua destilada, disolver y agregar el volumen restante de agua.

Colorantes para la tinción de Ziehl-Neelsen

Fucsina

Fucsina.....	3.0 g.
Alcohol de 96°.....	100 mL

Disolver en el envase original y agregar.

Fenol.....	50 g.
Agua destilada.....	950 mL.

Filtrar y guardar.

Alcohol ácido al 3 %

Ácido clorhídrico.....	30 mL.
Alcohol de 96°.....	970 mL.

El ácido debe ser agregado en forma lenta sobre el alcohol, al tiempo que se agita suavemente la solución.

Azul de metileno

Azul de metileno.....	3.0 g.
Agua destilada.....	1000 mL

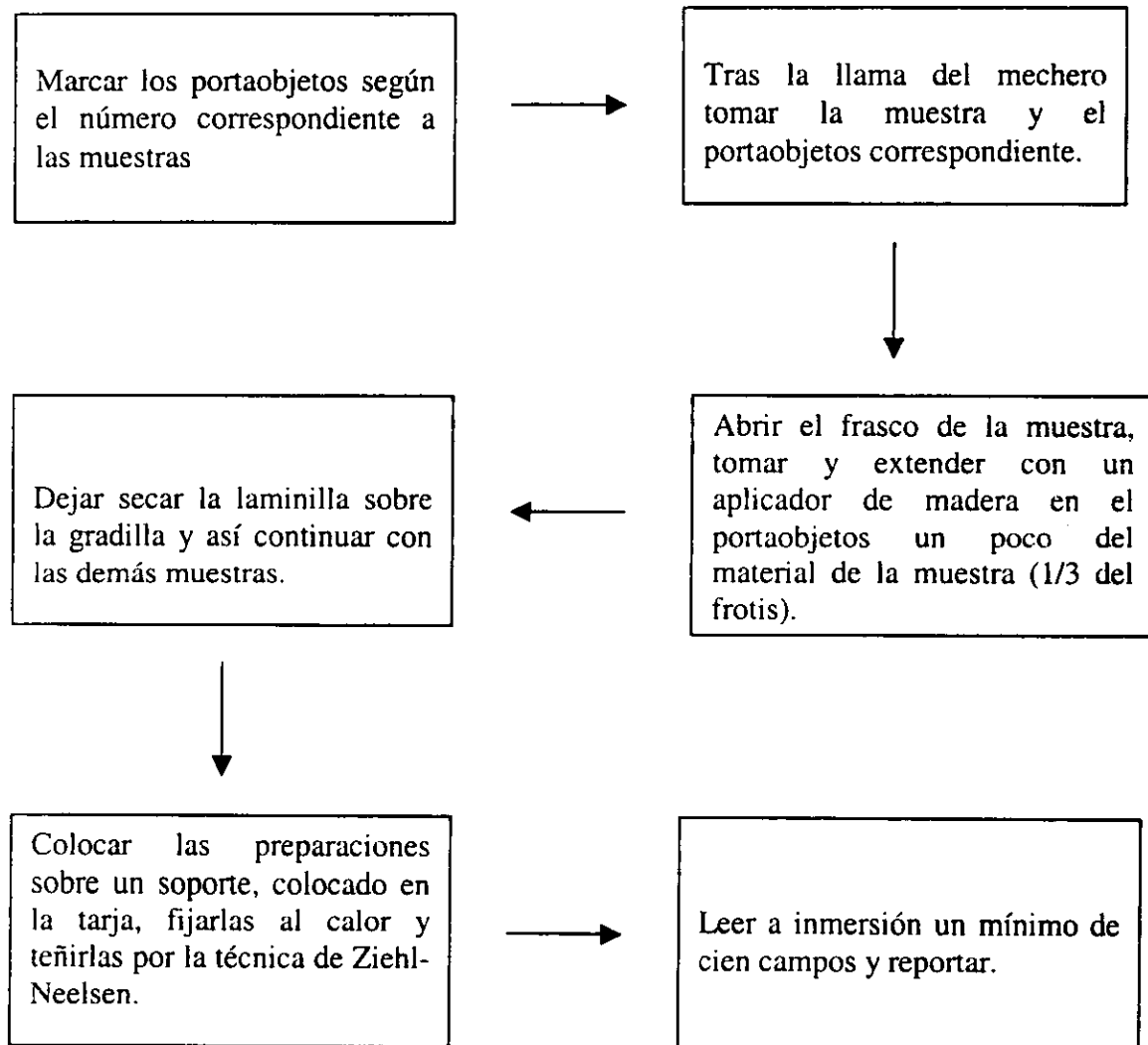
Diluir poco a poco el agua y agitar continuamente hasta homogeneizar la solución, filtrar y guardar el colorante.

Nota: Cada una de las muestras de esputo analizadas fue procesada mediante tres métodos diferentes para realizar las baciloscopías (por lo que las muestras de volumen considerable fueron las de mayor utilidad); tratando de analizar de manera seriada los especímenes de cada tosedor.

Los procedimientos utilizados para dicho fin se presentan a continuación a manera de diagramas de flujo.

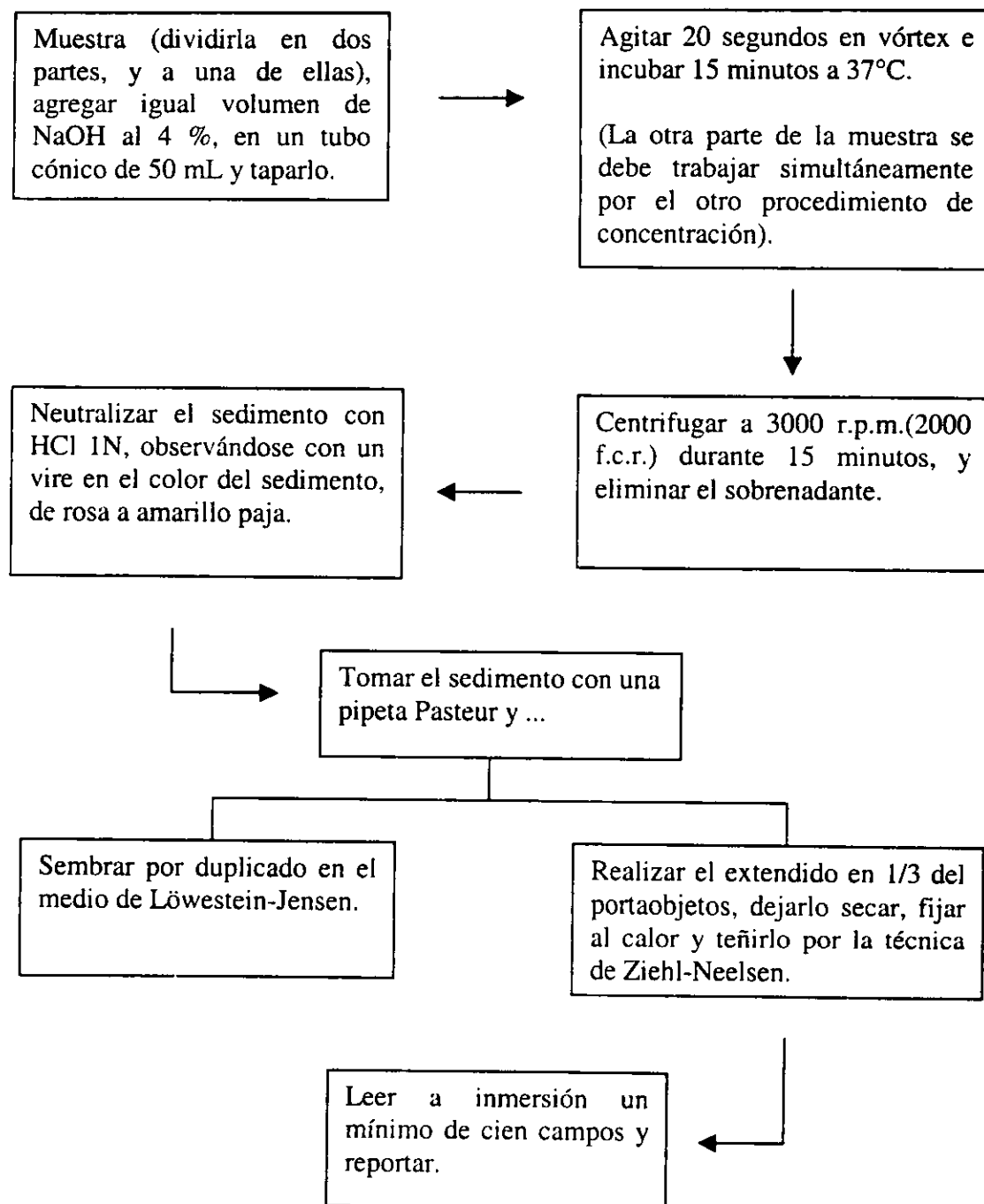
PROCEDIMIENTO

BACILOSCOPIÁS DIRECTAS



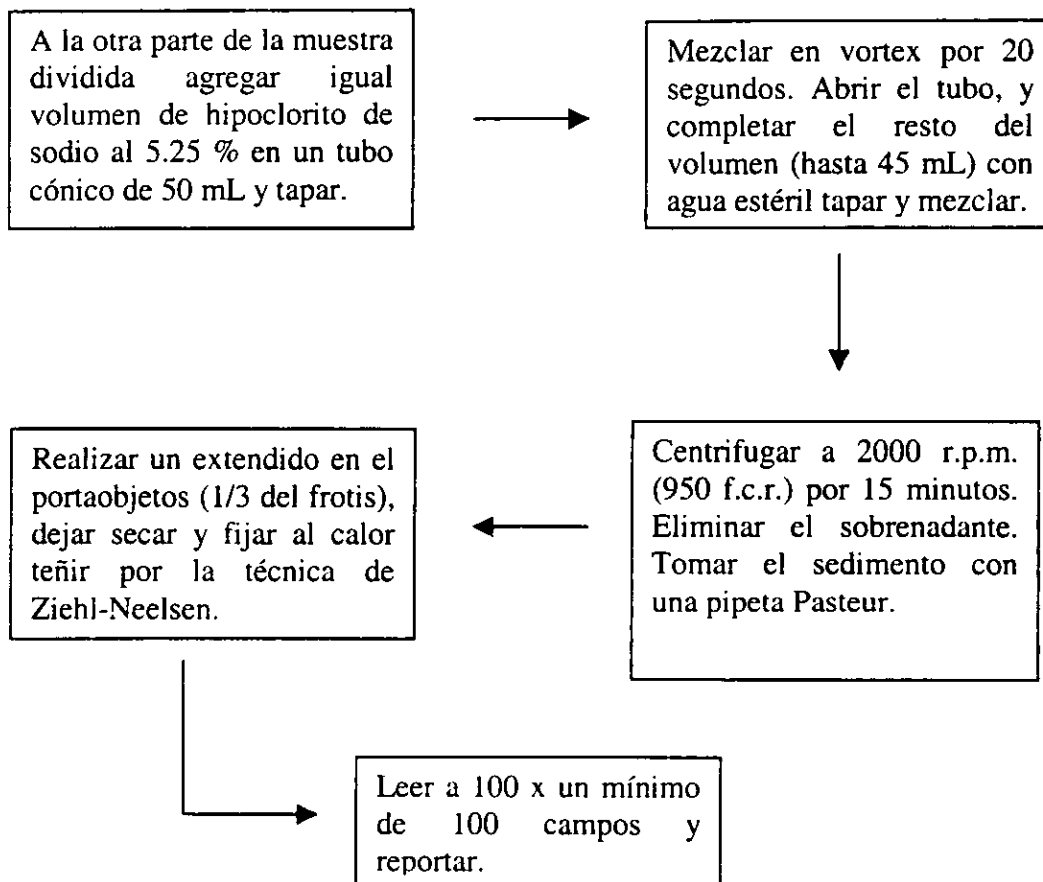
Nota: Se considera campo microscópico útil aquel en el que se observan (leucocitos, fibras y células ciliadas).

MÉTODO POR CONCENTRACIÓN TRATADO CON HIDRÓXIDO DE SODIO AL 4 %



Nota: Los tubos con el medio de cultivo se deben examinar a las 48 horas de su siembra, y cada semana; debiendo anotar e informar en cada revisión los tubos alcalinizados, acidificados, contaminados y los que presenten crecimiento (positivos al crecimiento micobacteriano).

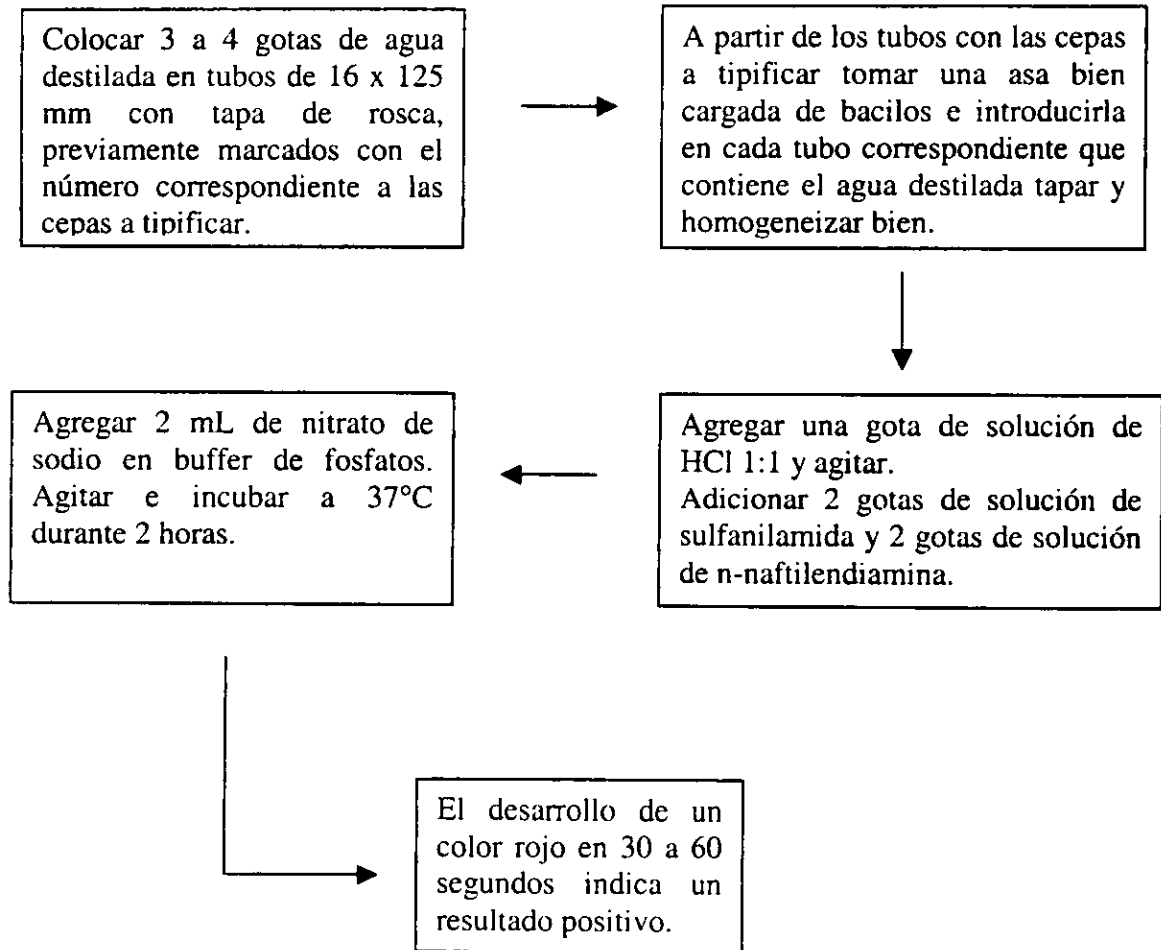
MÉTODO POR CONCENTRACIÓN TRATADO CON HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25 %



Nota: Los bacilos aparecen como bastoncillos delgados, ligeramente curvos, teñidos de rojo, generalmente con gránulos más coloreados en su interior, aislados, en parejas o en grupos, sobre el azul claro de la tinción de contraste, por los tres métodos.

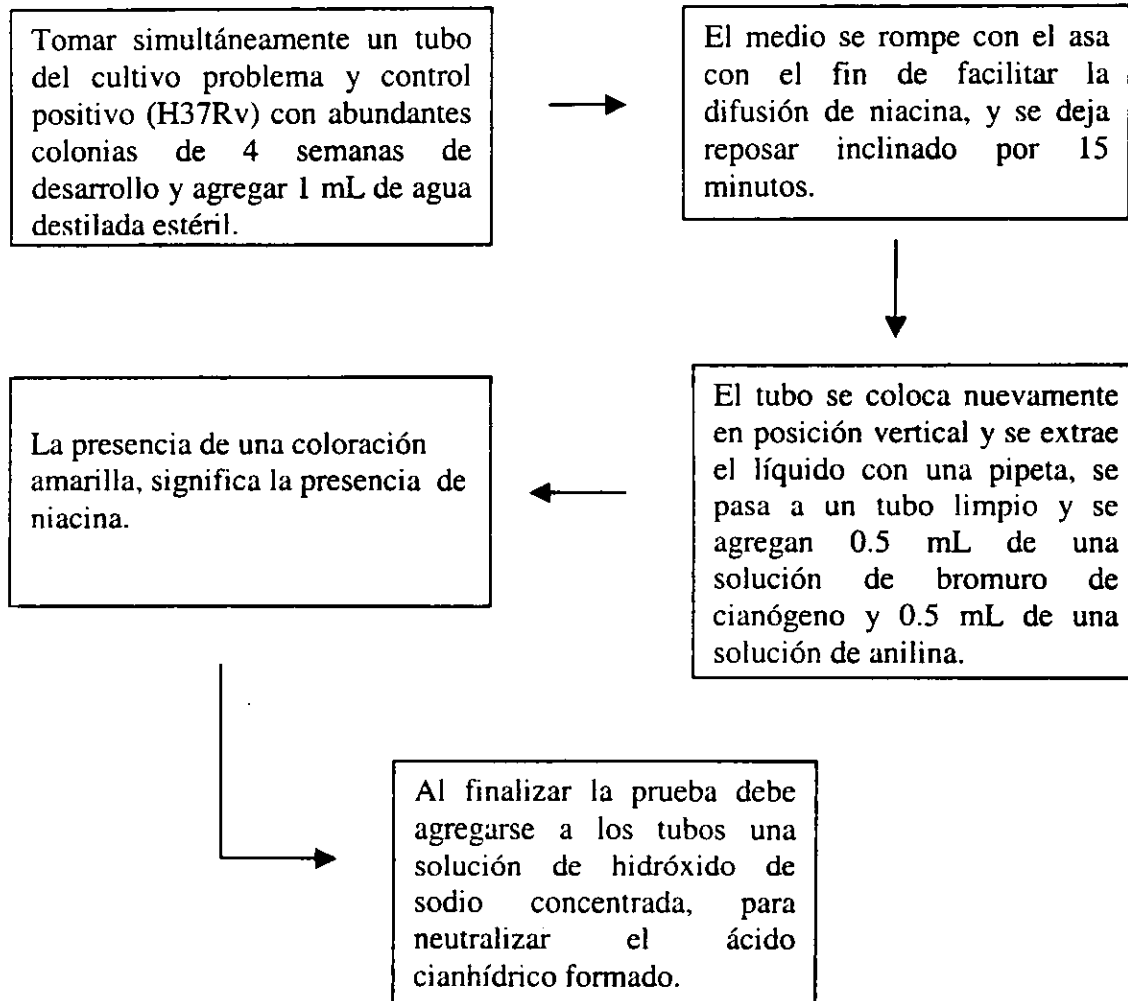
PRUEBAS DE TIPIFICACIÓN DE *M. TUBERCULOSIS*

REDUCCIÓN DE NITRATOS:



Nota: Para realizar la tipificación se trabajó simultáneamente con una cepa de referencia como control positivo (H37Rv).

ACUMULACIÓN DE NIACINA:



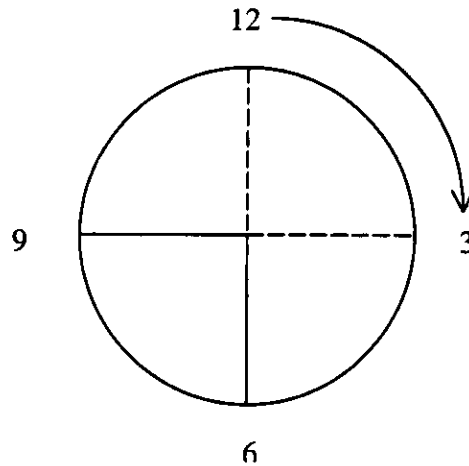
OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

Para la observación microscópica se emplea un microscopio equipado con un objetivo de inmersión y ocular de 10 x.

Con un cuentagotas colocar una gota de aceite de inmersión sobre el extremo más cercano a la numeración del extendido y sin tocar la superficie del portaobjetos.

Enfocar el microscopio acercando el objetivo de inmersión hasta tocar la superficie de la gota de aceite.

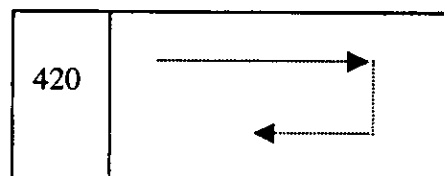
Cada campo debe dividirse mentalmente en cuatro cuadrantes como la esfera de un reloj. La lectura se inicia en el ángulo superior derecho y se continua con los otros en el sentido de las manecillas del reloj; observándose en superficie y profundidad, utilizando constantemente el tornillo micrométrico.



Dirección de la observación en cada campo microscópico.

Fuente: Referencia 24

Se debe seguir una pauta sistemática para la observación, leyendo de izquierda a derecha del extendido un mínimo de cien campos.



Recorrido para efectuar la lectura por 100 campos microscópicos

Fuente: Referencia 24

El informe de resultados deberá realizarse de la siguiente manera:

Negativo (-): No se encuentran bacilos ácido-alcohol resistentes en 100 campos observados.

Positivo (+): Menos de un bacilo por campo en promedio, en 100 campos observados.

Positivo (++): De uno a diez bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.

Positivo (+++): Más de diez bacilos ácido-alcohol resistentes por campo en 20 campos observados.

DISEÑO ESTADÍSTICO

Teniendo en cuenta que el principal objetivo del presente estudio fue determinar la confiabilidad diagnóstica del método por concentración con hipoclorito de sodio y compararla con las de otros métodos ya conocidos (baciloscopías directas, baciloscopías por concentración con hidróxido de sodio); y considerando que éstos varían según el laboratorio donde se realicen, se calcularon los siguientes parámetros de control de calidad (que en conjunto se conocen como confiabilidad diagnóstica de un método) para cada una de ellas:

- Sensibilidad.
- Especificidad.
- Valor predictivo.

Así como determinar si tiene una alta concordancia con los resultados aportados por el método estándar, de manera que el tratamiento de datos se realizó de la siguiente manera:

Como cada una de las pruebas diagnósticas sometida a estudio dio un resultado binomial; es decir sólo de tipo positivo o negativo, y estos se aplicaron a la determinación de la enfermedad²⁷ (tuberculosis pulmonar), dichas pruebas fueron valoradas construyendo una tabla de contingencias de 2x2 para cada una, ya que esta tabla es útil para los estudios en que se consideran sólo dos variables en cada individuo examinado (sano, enfermo), teniendo cada una de ellas sólo dos resultados posibles (positivo, negativo)²⁹ que se aplicaron a la determinación de la enfermedad, de tal forma que los resultados obtenidos se presentaron en tablas como la siguiente:

		TUBERCULOSIS PULMONAR		
		E	E ^C	TOTAL
RESULTADO DE LA PRUEBA	+	a	b	r ₀
	-	c	d	r ₁
TOTAL		c ₀	c ₁	N

Donde:

E = Presencia de la enfermedad.

E^C = Ausencia de la enfermedad.

Se valoró entonces en forma global la eficacia de cada una de las pruebas, empleando dos medidas específicas; *sensibilidad* y *especificidad*, (parámetros de control de calidad).

Para estimar dichos indicadores de la calidad general para cada una de las pruebas diagnósticas sometidas a estudio, se tomó como método de referencia el cultivo de micobacterias en el medio de Löwestein-Jensen.

En estas condiciones fue posible obtener los parámetros de control de calidad de las pruebas sometidas a estudio.

De manera que la *sensibilidad* se calcula mediante el cociente del número de casos que tienen realmente tuberculosis pulmonar, los cuales resulten positivos con el método de referencia, divididos entre el total de casos de quienes padecen la enfermedad²⁷; por lo tanto la sensibilidad se calcula por la fórmula:

$$SENSIBILIDAD = \frac{a}{a + c}$$

Es decir, señala la proporción de enfermos que fueron detectados por la prueba sometida a estudio; por lo tanto la más alta *sensibilidad* estará indicada por la unidad, en el caso de que todos los casos con tuberculosis pulmonar mostrarán la prueba positiva.

La *especificidad* se determina por el cociente que resulta del número de pruebas negativas que aparece en quienes no tienen tuberculosis pulmonar, entre el total de casos estudiados que no la tienen²⁷. Es decir la *especificidad* se calcula por:

$$ESPECIFICIDAD = \frac{d}{b + d}$$

...que representa la proporción de sanos para los que la prueba estudiada arroja un resultado negativo.

La especificidad máxima también estará representada por la unidad, o sea cuando todos los casos que no tienen tuberculosis dan el mismo resultado de la prueba negativa.

Como ambos estimadores son un caso especial de la estimación de porcentajes en una población; es decir la *sensibilidad* es la proporción de aciertos en una población de enfermos y la *especificidad* la tasa de aciertos entre los

sanos²⁹, se pueden calcular los intervalos de confianza correspondientes por las siguientes expresiones:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{a+c} \pm Z_{1-\alpha/2} \sqrt{\frac{(a/c_0)(c/c_0)}{c_0}}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{d}{b+d} \pm Z_{1-\alpha/2} \sqrt{\frac{(d/c_1)(b/c_1)}{c_1}}$$

Donde $Z_{1-\alpha/2}$ es 1.960 (de tablas) para una confianza $(1-\alpha)$ de 95 %²⁹.

Se sabe que para utilizar una prueba diagnóstica es muy importante conocer el valor de la predicción basado en la prueba, ya que nos informa que tan frecuentemente la prueba estudiada nos ofrece un resultado equivocado, motivo por el cual se realiza su cálculo.

Así, el *valor predictivo positivo* está dado por el número de casos con tuberculosis, que dieron la prueba positiva, dividido entre el total de pruebas positivas²⁷, o sea:

$$\text{VALOR PREDICTIVO POSITIVO} = \frac{a}{a+b}$$

...que representa la probabilidad de que el paciente tenga tuberculosis pulmonar al obtenerse un resultado positivo en la prueba.

El *valor predictivo negativo* se obtuvo dividiendo el número de casos que no tienen tuberculosis y que dieron la prueba negativa, entre el total de pruebas negativas²⁷, o sea:

$$\text{VALOR PREDICTIVO NEGATIVO} = \frac{d}{c+d}$$

El cual indica la probabilidad de que el sujeto no tenga tuberculosis pulmonar al obtenerse un resultado negativo en la prueba; es decir expresa la confiabilidad del resultado negativo de la prueba.

Una vez calculados ambos valores predictivos para cada prueba; el siguiente paso es valorar si estos métodos son útiles al aplicarlos a la población general, debido al gran efecto que ejerce la prevalencia poblacional para modificar las propiedades de cualquier método de diagnóstico. De manera que el valor predictivo poblacional se obtuvo directamente de los datos originales del estudio, utilizando el teorema de Bayes²⁸, el cual se expresa de la siguiente forma:

La probabilidad de encontrar tuberculosis pulmonar si se obtiene un resultado positivo en una prueba $P(E/+)$ está dada por:

$$P(E/+) = \frac{P(+/E) \cdot P(E)}{P(+/E) \cdot P(E) + P(+/E^c) \cdot P(E^c)}$$

Donde:

$P(E/+)$ = Probabilidad de obtener un resultado positivo si existe la enfermedad.

$P(E)$ = Probabilidad de que exista la enfermedad.

$P(+/E^c)$ = Probabilidad de obtener un resultado positivo dado que no existe la enfermedad.

$P(E^c)$ = Probabilidad de que no exista la enfermedad.

Del mismo modo se calculó la probabilidad de encontrar la enfermedad cuando se obtiene un resultado negativo de una de las pruebas $P(E/-)$.

$$P(E/-) = \frac{P(-/E) \cdot P(E)}{P(-/E) \cdot P(E) + P(-/E^c) \cdot P(E^c)}$$

Donde:

$P(-/E)$ = Probabilidad de obtener un resultado negativo dado que existe la enfermedad.

$P(E)$ = Probabilidad de que exista la enfermedad.

CONCORDANCIA ENTRE DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR				
		MÉTODO ESTANDAR		
		E	E ^c	TOTAL
RESULTADO DE LA PRUEBA	+			r ₀
	-			r ₁
	TOTAL	c ₀	c ₁	n

Cuando K es cero indica que la concordancia observada coincide con la que ocurriría por simple azar, los valores positivos señalan mayor concordancia que la esperada por azar, siendo uno (1) el valor asignado a la concordancia perfecta. Si K tomara un valor negativo señalaría discordancia, llegando hasta menos uno (-1) para señalar la discordancia total entre los dos métodos diagnósticos correspondientes. El cálculo de K en la tabla de 2×2 es²⁹:

$$K = \frac{N(a+d) - R}{N^2 - R}$$

Para calcular el intervalo de confianza para la concordancia es necesario estimar la desviación estándar correspondiente, que es el error estándar de K o la raíz cuadrada de la varianza de estimación:

$$S^2_K = \frac{R(N + R/N) - u(r_0 + c_0) - t(r_1 + c_1)}{R^2 + N^2(N^2 - 2R)}$$

Donde:

$$u = r_0 c_0$$

$$t = r_1 c_1$$

$$R = u + t$$

Para una confianza del 95%, el intervalo de confianza para K , está dado por:

$$K - 1.960 S_k; K + 1.960 S_k$$

Cuando los límites son amplios y el cero queda incluido en el intervalo se puede pensar que no existe alta concordancia entre los dos métodos, por el contrario si el cero no está incluido en el intervalo existe alta concordancia entre los métodos.

Una técnica alternativa al cálculo de los intervalos de confianza es la prueba del grado de concordancia.

PRUEBA PARA GRADO DE CONCORDANCIA:

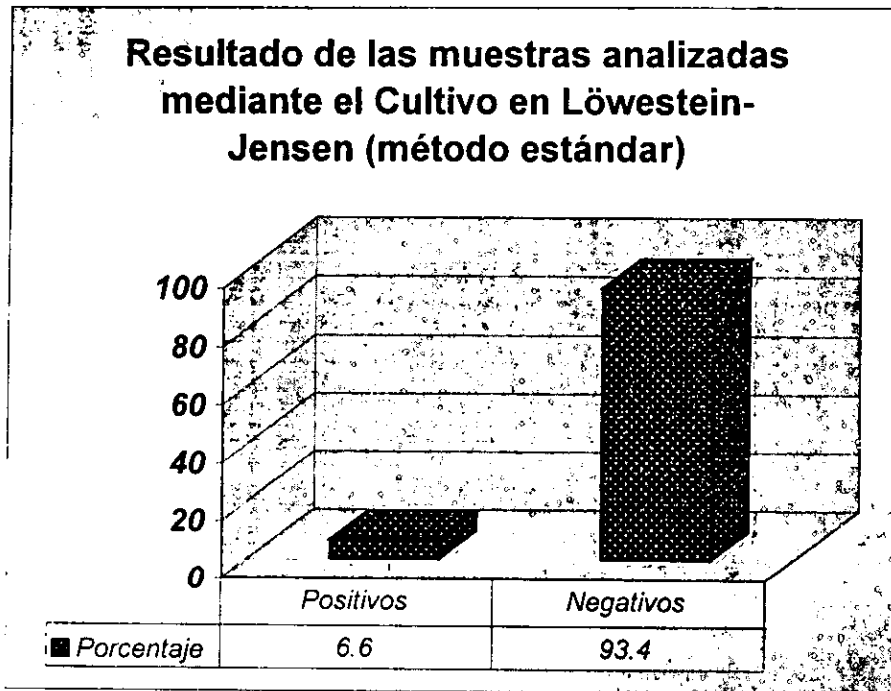
Esta prueba es útil para saber si los datos muestran una diferencia significativa con respecto a la concordancia que se esperaría por azar, o bien si sólo se tiene una concordancia similar a la que ocurriría de manera aleatoria²⁹.

Para realizar la prueba se tiene el estimador de Kappa de Cohen y la varianza de estimación conforme lo que se señala anteriormente, y se calcula CO , que se compara con la distribución de X^2 con un grado de libertad y el nivel de α correspondiente²⁹.

$$CO = \frac{K^2}{S^2(K)}$$

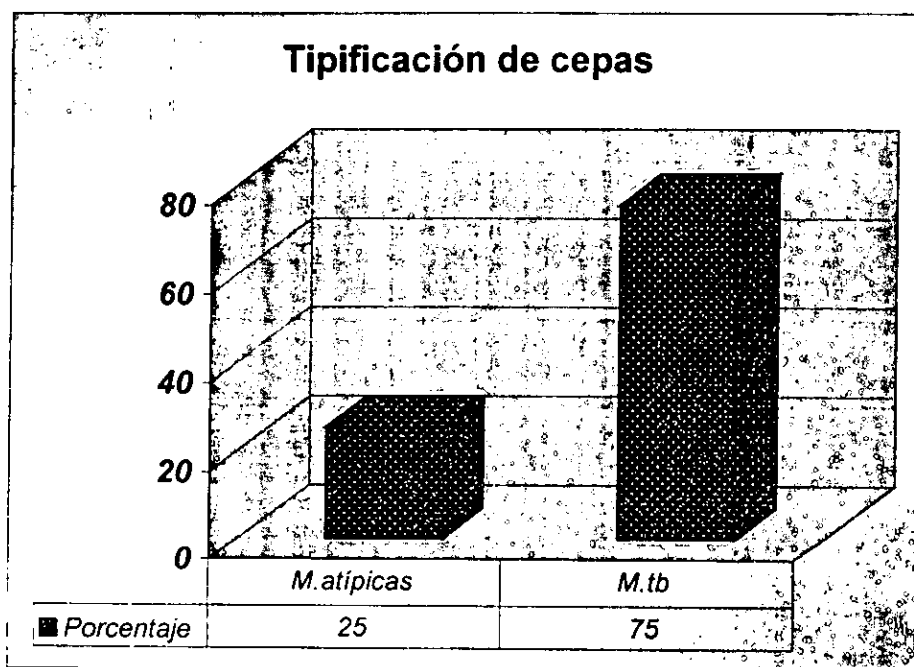
Así cuando CO es significativamente mayor que 3.84 para $\alpha = 0.05$, señala que la concordancia o la discordancia, según fue el signo de K se aleja significativamente de cero, lo cual indica que el acuerdo o el desacuerdo entre los dos métodos de diagnóstico es mayor que lo que se esperaría por azar y se puede afirmar, con una probabilidad $\alpha=0.05$, que existe una concordancia real entre ambos métodos²⁹.

Resultados y análisis



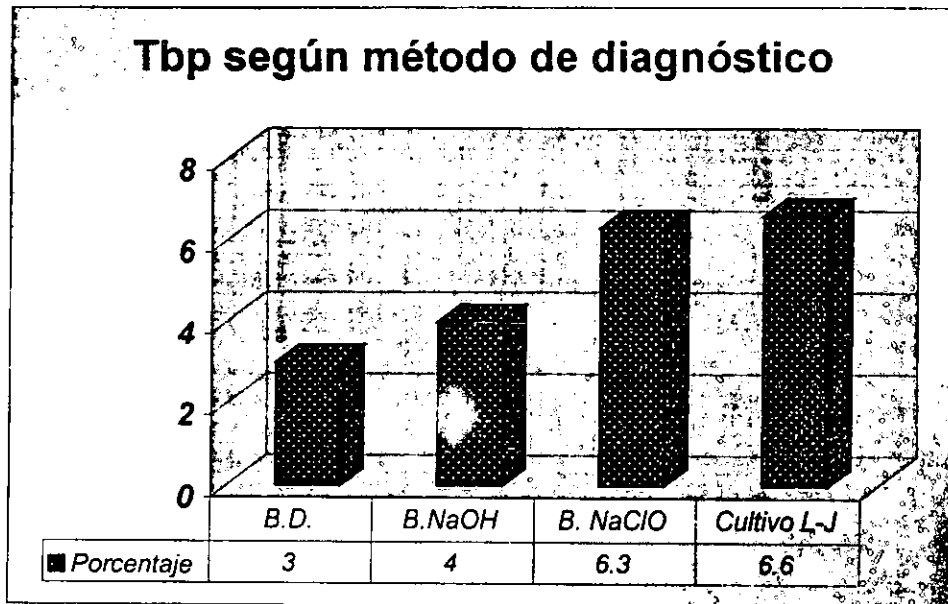
Gráfica 3.

De las 300 muestras de esputo analizadas, se encontraron con micobacterias sólo el 6.6 %, un porcentaje bajo considerando la cantidad de muestras analizadas; e inferior al que pudiera esperarse, si tomamos en cuenta que la tasa de morbilidad es de 17.3 a 22.8 %, ⁴⁷ y el 80% de ésta corresponde a tuberculosis pulmonar (ver gráfica 3).



Gráfica 4.

De las cepas tipificadas encontramos que el 75 % corresponde a M. tuberculosis y el restante 25 % a micobacterias atípicas, confirmando que la tuberculosis es principalmente causada por dicho agente etiológico.



Gráfica 5.

Al observar la gráfica es evidente que el método menos sensible para el diagnóstico de la tuberculosis es la baciloscopía directa, seguido en orden creciente por los procedimientos de concentración tratados con hidróxido de sodio al 4 %, y con hipoclorito de sodio al 5.25 %; siendo éste último capaz de detectar casi la misma proporción de casos (6.3%) que el método estándar(6.6%); lo cual es acorde con la bibliografía internacional.²⁵

Como se sabe la confiabilidad de un método diagnóstico depende de varios factores: precisión, exactitud, validez (sensibilidad y especificidad), y valor predictivo los cuales se expresan en la tabla siguiente:

TABLA COMPARATIVA

MÉTODO Parámetro de calidad	Baciloscopías directas	Baciloscopías por concentración tratadas con NaOH 4%.	Baciloscopías por concentración tratadas con NaClO al 5.25 %.
Sensibilidad	50 %	60 %	95 %
Especificidad	100 %	100 %	100 %
V.P.P muestral	100 %	100 %	100 %
V.P.P poblacional	100 %	100 %	100 %
V.P.N muestral	94 %	95 %	99 %
V.P.N poblacional	91 %	93 %	99 %
Grado de concordancia con el método std.	65% Límites de confianza (54-76 %)	73 % Límites de confianza (63-83 %)	97 % Límites de confianza (85-100 %)
Grado de concordancia con el método por concentración con NaClO 5.25 %	67 % Límites de confianza (56-78 %)	76 % Límites de confianza (65-87 %)	-----

Tabla 2.

La precisión está expresada como el grado de concordancia de los métodos entre sí y la exactitud como el grado de concordancia con el método estándar (Ver detalle de datos y cálculos correspondientes en anexos IV y V).

Es evidente en la tabla que la sensibilidad del método por concentración con hipoclorito de sodio supera bastante a las correspondientes a los métodos de baciloscopías directas y por concentración con hidróxido de sodio; lo que indica que el procedimiento es capaz de detectar la tuberculosis en una persona con una sensibilidad del 95 % (ver tabla 2).

Su especificidad es excelente ya que es del 100 %; lo que significa que todas las personas que realmente no tengan la enfermedad obtendrán un resultado negativo; es decir no se obtuvieron resultados falsos positivos, y esta misma situación que se aprecia para los otros métodos.

La elevada especificidad de los métodos se debe a dos factores principalmente:

1. El control de calidad del laboratorio.
2. La nula posibilidad que tenga el laboratorio de encontrar bacilos ácido-alcohol resistentes diferentes a las micobacterias que causen una patología similar a la tuberculosis pulmonar.

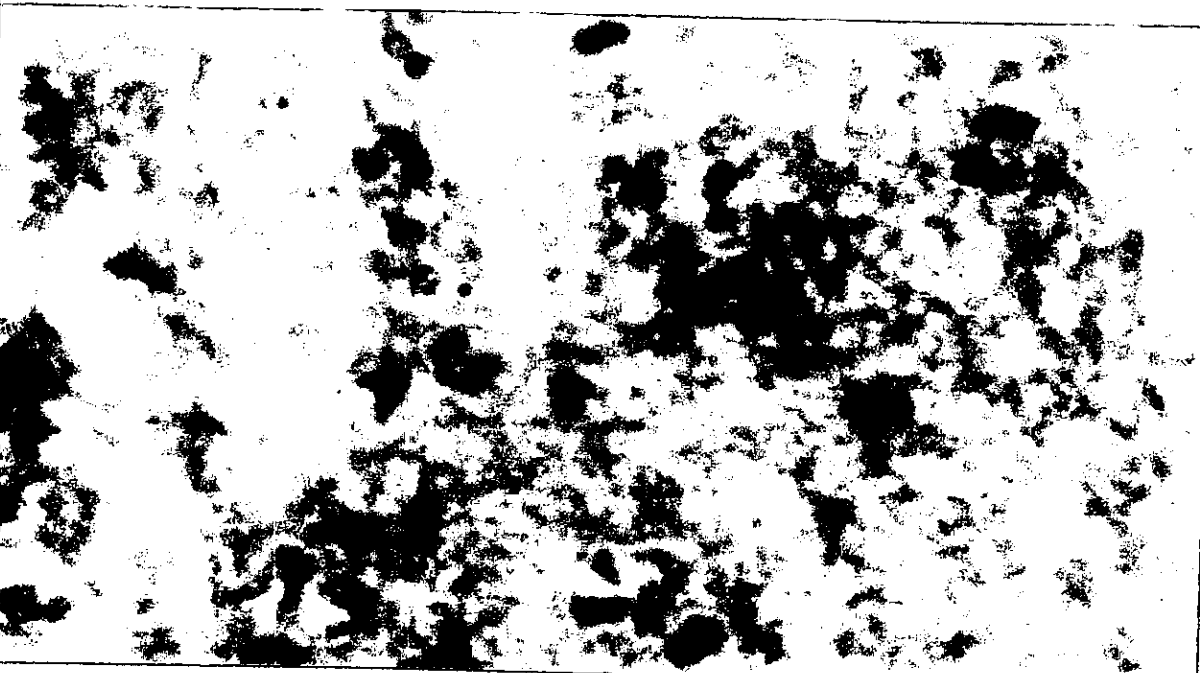
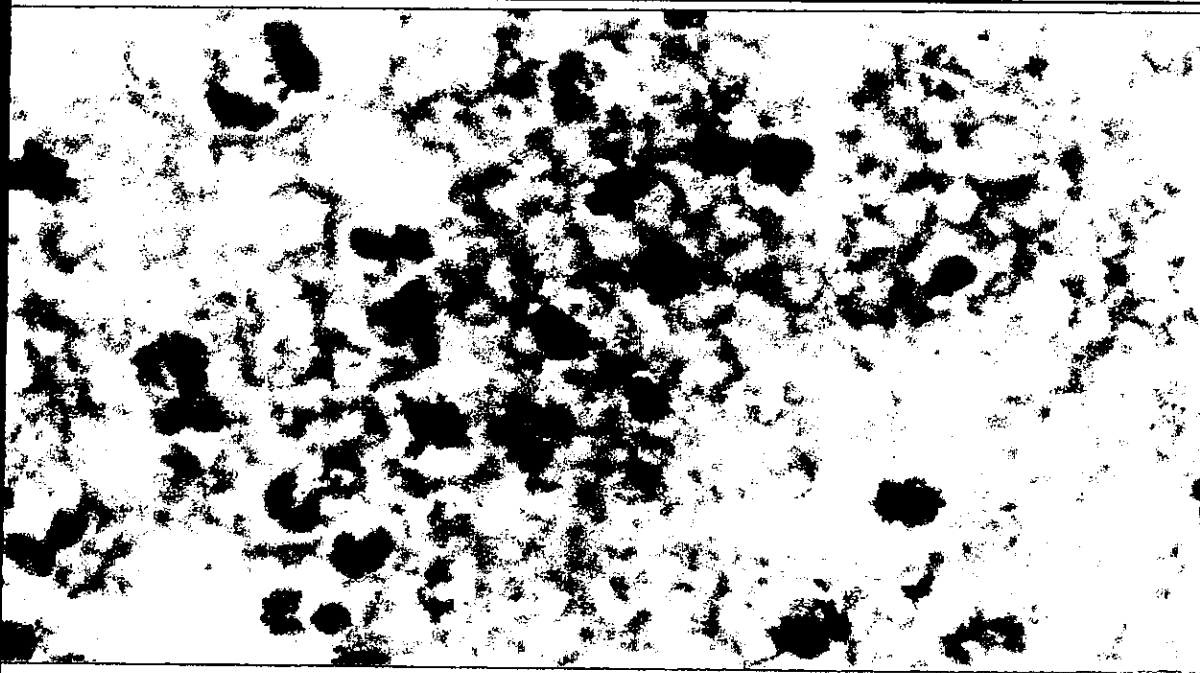
De igual forma el valor de predicción positivo es excelente para los tres métodos, ya que es del 100 %, lo que significa que al obtenerse un resultado positivo en la prueba, asegura que la probabilidad de que el paciente realmente tenga tuberculosis pulmonar es del 100 %; y lo mismo sucede al ser aplicada estadísticamente a la población en general (ver gráfica 6).

Sin embargo el valor predictivo negativo, no es el mismo para los tres métodos, aunque es notable que es alto para todos, el correspondiente al procedimiento de concentración tratado con hipoclorito de sodio sigue siendo el más elevado, lo que indica que la probabilidad de que el sujeto no tenga la enfermedad al obtenerse un resultado negativo es del 99 %, conservándose constante al ser aplicado a la población en general, en cambio este mismo disminuye un poco para las otras pruebas de diagnóstico; debido al efecto que ejerce la prevalencia de la enfermedad en la población en general, modificándose dicho parámetro; pero a pesar de que resultó elevado para los métodos tradicionales (ver tabla 2), aún así escapan al diagnóstico un considerable número de casos en comparación con la técnica estudiada.

En cuanto a la concordancia de las diferentes pruebas de diagnóstico, con el método estándar (el cultivo en el medio de Löwestein-Jensen), encontramos que la más significativa es para el procedimiento de concentración tratado con hipoclorito de sodio al 5.25 %, ya que fue del 97 %, con $p < 0.05$; es decir, ambos métodos detectan una proporción muy similar de los mismos casos, por ello podrían tomarse como métodos equivalentes y considerarlos como opciones alternativas, altamente sensibles para realizar el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Coincidiendo con lo reportado por Callisaya y cols. y Saceanu CA.²⁵, quienes establecen que dicha técnica aporta mejores resultados que la de baciloscopía directa y por concentración tratadas con hidróxido de sodio al 4%, aunque desafortunadamente no reportan datos más precisos para poder compararlos con los resultados obtenidos; en cambio la concordancia de las técnicas de baciloscopías directas y por concentración con hidróxido de sodio al 4 %, es del 65 y 73 % respectivamente, por lo que se considera su concordancia con el estándar pobre y por ello deben aplicarse como métodos complementarios con el estándar, ya que cada uno detecta sólo una parte de los casos; esto mismo sucede al compararlos con el método en estudio, donde también se observa concordancia pobre (ver tabla 2).

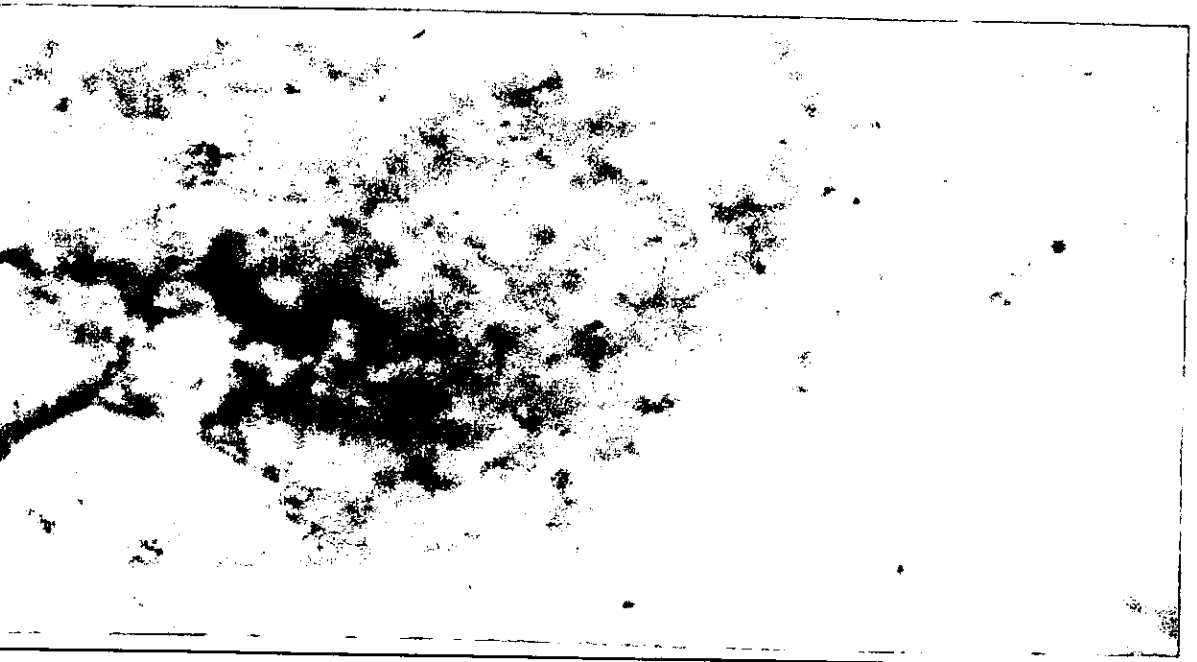
Con la finalidad de explicar lo anterior de manera visual, enseguida se presentan las fotografías de una misma muestra procesada por los tres métodos.

BACILOSCOPIA DIRECTA



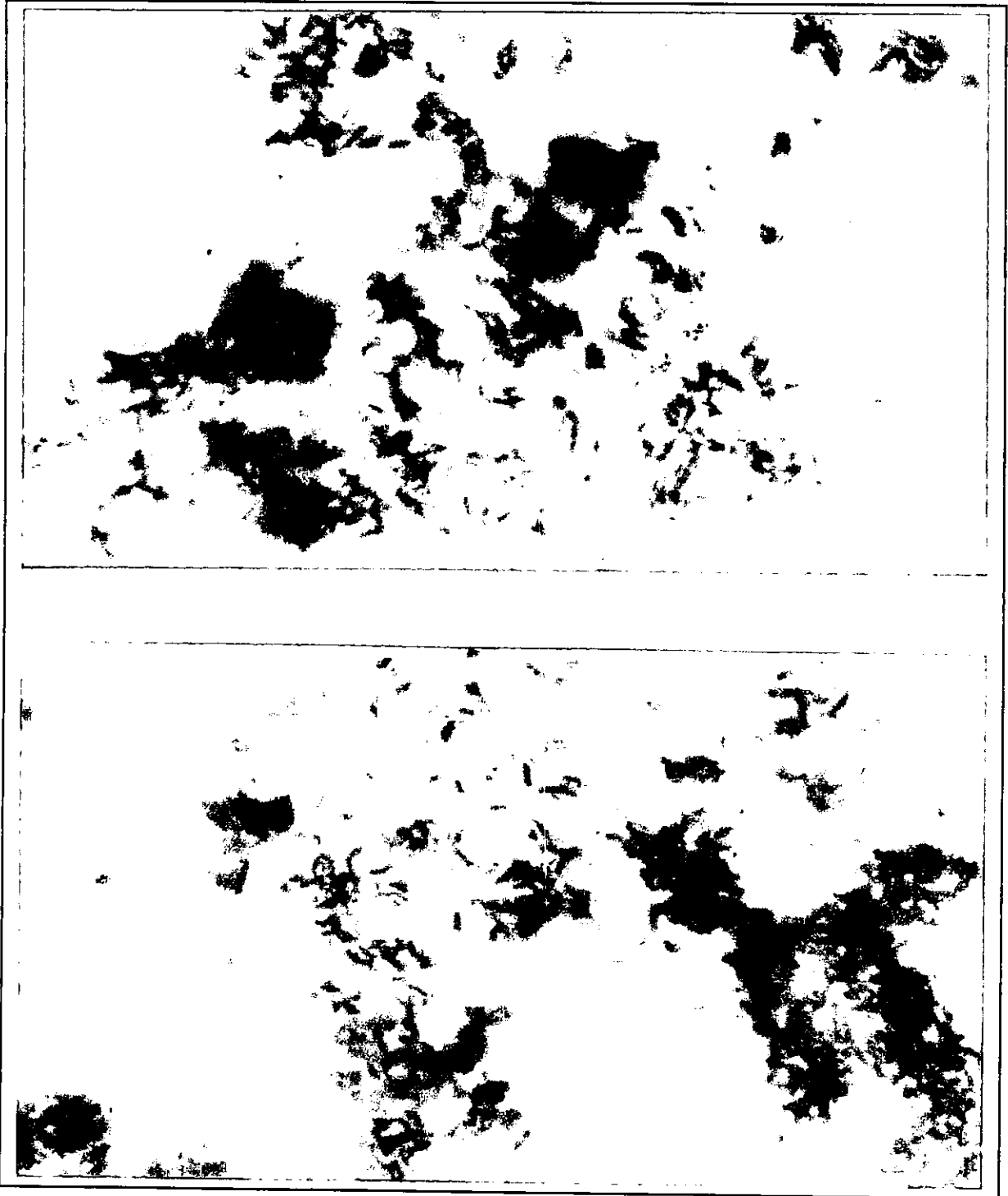
Observación directa a 100 x de una muestra de esputo.

**BACILOSCOPIA POR CONCENTRACIÓN TRATADA CON NaOH
4 %.**



Observación a 100 x de una muestra de esputo tratada por concentración.

BACILOSCOPIA POR CONCENTRACIÓN TRATADA CON NaClO 5.25 %



Observación directa a 100x de una muestra de esputo tratada por concentración.

Discusión de resultados

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio el porcentaje de muestras positivas (con micobacterias) fue bajo, como se indica en el análisis de resultados, probablemente este resultado se vio afectado por los siguientes factores:

1. Se trabajó únicamente con muestras de adultos, ya que la mayoría de los tosedores con sintomatología presuntiva de tuberculosis pulmonar que acudieron al Hospital General de México son adultos; por lo tanto es lógico observar que el porcentaje de muestras positivas obtenido (6.6%) no tiene similitud con el índice de prevalencia reportado (17.3 a 22.8%)⁴⁷.
2. Hay que considerar que los datos estadísticos proporcionados por todas las instituciones de salud, no son muy confiables, ya que no tienen una tendencia clara de la prevalencia notificada, debido a diversos factores, sobre todo a problemas de calidad en los sistemas de registro e información en un número considerable de instituciones, y a que no existe una regla que impida que los casos nuevos se sumen a los curados^{9, 14}.

Por otra parte al observar las fotografías comparativas de cada una de las pruebas diagnósticas, se aprecia en las correspondientes a las baciloscopías por concentración con hidróxido de sodio, que este agente descontaminante a pesar de encontrarse en una concentración elevada (4%), no llega en muchas ocasiones (cuando la muestra de esputo es muy purulenta) a digerir completamente el moco, células e incluso bacterias presentes en la muestra, lo que lleva a cometer errores en la lectura, ya que puede ser que los BAAR que están presentes en las muestras queden ocultos bajo dichos elementos mal digeridos, reportándose entonces un resultado falso negativo, disminuyendo así la sensibilidad de la técnica. Es por ello que siempre que se realice una baciloscopía por este procedimiento deberá complementarse el estudio con el cultivo.

Por el contrario el hipoclorito de sodio al 5.25% actúa mucho más rápido y deja limpia la preparación en cuanto a dichos elementos, quedando sólo los bacilos ácido-alcohol resistentes a la vista, siendo éstos fácilmente detectables en el frotis, cuando hay bacilos presentes en la muestra, no importando que sea escasa la población bacilar.

Es importante también mencionar que a pesar de que se trabajó a diferentes velocidades de centrifugación, 3000r.p.m. =2000 fcr para la técnica tratada con hidróxido de sodio, y 2000 r.p.m.=950 fcr para la técnica tratada con hipoclorito de sodio al 5.25%, esto no mostró tener efecto en la recuperación de micobacterias, ya que a pesar de que con el hipoclorito de sodio se centrifugó a menor velocidad, hubo una excelente recuperación, lo cual no concuerda con lo reportado por Ratman y cols⁴⁴; quienes establecen que más del 75% de micobacterias pueden recuperarse con un fcr de 3000 a 4000 x g., por 15 a 20 minutos.

Esto seguramente se debe a que durante el proceso de digestión y descontaminación de la muestra, el hipoclorito de sodio, demostró tener una acción importante como agente descontaminante contribuyendo favorablemente en la recuperación de los microorganismos. Por lo tanto el agente descontaminante es un factor determinante que influye en la sensibilidad de las baciloscopías realizadas por concentración; siendo la velocidad de centrifugación sólo un factor secundario que podría afectar la sensibilidad de dicha técnica, lo cual concuerda con lo mencionado por Lennette y Rickman.^{21,40}

Así al determinar los diferentes parámetros de control de calidad para cada una de las pruebas utilizadas comúnmente en México (baciloscopías directas y por concentración tratadas con NaOH al 4%), y para el método por concentración tratado con NaClO al 5.25% útiles para realizar el diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa, se encontró que dichos valores proporcionados por los procedimientos diagnósticos son directamente proporcionales a la Confiabilidad Diagnóstica de cada uno de ellos.

De manera que de acuerdo con los resultados obtenidos el método en estudio es superior en sensibilidad y valor predictivo que los métodos tradicionales, además de tener un alto grado de concordancia con el método estándar, lo cual significa que el método es altamente confiable.

Por tanto como se mencionó antes, en caso de no contar con el equipo y las instalaciones para realizar el diagnóstico de tuberculosis mediante una técnica como el cultivo; como sucede frecuentemente en instituciones rurales de salud, dispensarios, centros de salud urbanos simples²⁶ y en los laboratorios de hospitales particulares que no cuentan con las instalaciones adecuadas para realizar un análisis micobacteriológico, el método por concentración con NaClO

al 5.25% es ideal para emplearse en dichas situaciones, por ser económico, seguro (ya que el agente descontaminante inactiva al bacilo en 15 minutos, reduciendo el riesgo de contaminación por aerosoles)^{10,37}, rápido y fácil de realizar, sobre todo altamente confiable, por lo que se podrían reducir los dos meses de espera para iniciar el tratamiento de la enfermedad³⁰ en los casos positivos.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El método por concentración tratado con hipoclorito de sodio al 5.25 %, ofrece varias ventajas:

- ◆ Resultados rápidos, en 40 minutos después de recibir la muestra.
- ◆ Facilita la detección de bacilos ácido-alcohol resistentes en casos de baja población bacilar.
- ◆ Evita equivocaciones en personal poco experimentado al identificar los bacilos.
- ◆ Seguro, ya que inactiva al bacilo en 15 minutos.
- ◆ Económico.
- ◆ Altamente sensible (95 %), específico (100 %), con excelente valor predictivo negativo (99 %) y alto grado concordancia con el método estándar (97%), que comprueba estadísticamente la hipótesis planteada con $p < 0.05$.
- ◆ Debido a su alta Confiabilidad Diagnóstica puede utilizarse como un método opcional en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa, cuando no es posible realizarlo con una técnica tan sensible como el cultivo y sustituye al procedimiento tradicional de las baciloscopías directas cuya sensibilidad es del 50 %.
- ◆ Por lo anterior se sugiere como un método diagnóstico de calidad que puede ser utilizado en las zonas con alta prevalencia de tuberculosis en el país.
- ◆ Cuando se consideran factores epidemiológicos, los pacientes con frotis positivos pueden ser tratados inmediatamente.

Sin embargo tiene las siguientes limitantes:

- ◆ Debe procesarse el método en el tiempo estipulado estrictamente, ya que el exponer a los bacilos por un periodo mayor a 15 minutos con el hipoclorito de sodio provocará su desintegración.
- ◆ No se puede realizar cultivos a partir de las muestras tratadas por éste método, ya que no conserva viables a las micobacterias.

ANEXOS

ANEXO I

MEDIDAS DE SEGURIDAD

Aunque sólo 10 % de muestras recibidas para determinar la presencia de *M.tuberculosis* contienen micobacterias patógenas, todos los especímenes se deben procesar como si fueran positivos. Las micobacterias potencialmente patógenas representan un alto riesgo infectocontagioso; y como la tuberculosis se trasmite principalmente por vía aérea se deben seguir las siguientes medidas de seguridad, donde el objetivo principal será la protección del trabajador para evitar el contagio de la infección tuberculosa.^{20, 21}

Siempre que sea posible los laboratorios deberán contar con:

- ❖ Laboratorio de nivel I: áreas separadas para sus diferentes actividades incluyendo un espacio para registros y manipulación de resultados, citas, etc.^{2, 10,20}
- ❖ Laboratorios de nivel II: además de los espacios del laboratorio de nivel I deberá contar con un espacio para preparar material, manejar muestras y cultivos.^{10, 20,21}
- ❖ El laboratorio de nivel III contará con los espacios del de nivel I y II, además de un área para el gabinete de seguridad y centrífuga.^{20,21}
- ❖ Sus paredes y superficies de trabajo deben ser lisas y lavables.²¹
- ❖ El laboratorio de nivel II y III, deberán tener flujo de aire direccional (con baja presión de aire en el laboratorio y doble puerta con trampa de aire, para evitar el regreso del flujo del mismo).^{20,21}
- ❖ Los laboratorios de nivel III deben tener filtros de alta eficiencia para retener las partículas de aire.²⁰
- ❖ Cada laboratorio debe contar con un sistema de grifos con un germicida efectivo (como alcohol isopropílico al 70 %) en las zonas de trabajo; y deben poseer pedales para no tocarlos con las manos.²¹

Las áreas contaminadas:

- ❖ Deberán tener entrada restringida al personal que labora en dichas áreas.^{10, 20, 21}
- ❖ El área de cultivo debe estar alejada de la entrada.²⁰
- ❖ Las bitácoras de trabajo no deben salir de las áreas contaminadas.²¹

En cuanto al equipo:

- ❖ El equipo debe estar en un ambiente amplio y ventilado, ya que puede dañarse al producirse y encerrarse el calor dentro de la habitación.^{10, 20}
- ❖ Las centrífugas nunca se abrirán mientras no se hayan detenido completamente.^{19, 20, 21}
- ❖ La agitación y centrifugación de muestras deberá realizarse en tubos cónicos de polipropileno con capacidad de 50 mL. y con tapa de rosca, para evitar la liberación de aerosoles.^{19, 20, 21}

Debido a que los instrumentos de trabajo colocados en el gabinete de seguridad pueden interrumpir el flujo laminar y reflejar el aire contaminado fuera de él, y además puede contaminarse la ropa del operador en cualquier área de trabajo; todo trabajador deberá utilizar:

- ❖ Sobre la bata de trabajo, bata desechable,^{10, 20, 21}
- ❖ Cubrir nariz y boca con mascarillas protectoras, idealmente N95 (que reduce el riesgo de infección por vía aérea hasta en un 99.5 %).²³
- ❖ Guantes, gorros e incluso protectores de zapatos, sobre todo cuando se trabaje en el gabinete de bioseguridad.^{10, 20, 21}
- ❖ La ropa de calle no debe usarse dentro del laboratorio, porque puede quedar contaminada.^{10, 20, 21}
- ❖ Hay que quitarse el equipo de vestir, (como batas, gorros y guantes) con el que se ha trabajado, antes de entrar en áreas no contaminadas.^{20, 21}
- ❖ Finalmente la ropa utilizada para protegerse deberá guardarse en una bolsa para esterilizarse en autoclave; cuando el trabajo se haya concluido.^{20, 21}

Las medidas de seguridad en cuanto a material contaminado y residuos biológico infecciosos son:

- ❖ Los líquidos contaminados nunca deberán desecharse en el sistema general de desechos sin someterlos a esterilización en autoclave.²⁰
- ❖ Deberán utilizarse toallas con solución fenólica germicida (fenol al 5%) porque son útiles para limpiar las zonas de trabajo, y limpiar derrames fortuitos.^{20, 24}
- ❖ En la zona de trabajo siempre se deberá contar con un dispositivo a prueba de salpicaduras que contenga fenol al 5%, para desechar fluidos biológicos contaminados.²⁰
- ❖ El material punzocortante y de cristal contaminado como portaobjetos pipetas Pasteur o agujas contaminadas, deberán desecharse en los contenedores de residuos biológicoinfecciosos de color rojo.^{20, 21}
- ❖ El material sucio y contaminado, deberá colocarse dentro de cubetas que contengan bolsas rojas.^{20, 21}
- ❖ Desinfectar las áreas de trabajo con fenol al 5% por 30 minutos antes e inmediatamente después de trabajar.²⁰
- ❖ Se debe evitar el contacto de la piel con superficies contaminadas. Toda persona que trabaje en un laboratorio de micobacteriología debe lavarse las manos sistemáticamente y con frecuencia. Mientras las tenga húmedas, mojarlas con alcohol isopropílico y dejarlas secar al aire.²⁰

En caso de ocurrir algún accidente y se sospeche de contaminación:

- ❖ Se deberá lavar la zona de inoculación con agua, jabón y una solución de hipoclorito de sodio 1:200.²⁰
- ❖ Dirigirse con un médico que tenga conocimientos del tratamiento indicado.
- ❖ Seguir el tratamiento.

Cada empleado es responsable de cuidar su salud y la de los demás. El laboratorio deberá de mantener un programa de inspección anual para todos los empleados para la prueba de la tuberculina, incluyendo el personal de

oficina, para detectar la conversión de la tuberculina positiva, y observación con rayos X para los tuberculinos positivos, y así detectar posibles casos de infección adquiridas en el laboratorio.^{20, 21}

(Balandrano CS. Medidas de bioseguridad en el laboratorio. Presentado en: IV Curso de actualización en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis en el niño y en el adulto, mayo 10, 2000, México, D.F).

ANEXO II

PRUEBA DE LA TUBERCULINA

La prueba de la tuberculina es un método tradicional para demostrar infección con *M. tuberculosis* produce cierta sensibilidad a ciertos componentes antigénicos del organismo, que están contenidos en extractos de cultivos llamados "tuberculinas".^{10,11}

En nuestro medio así como en países menos industrializados se cuenta con el derivado proteico purificado (PPD, RD-23) de 2 U, a diferencia de los países industrializados; de baja endemicidad donde el PPD es de 5 U.³¹

El PPD es aplicado comúnmente por la técnica de Mantoux, que consiste en administrarlo en la parte anterior del antebrazo, con el bisel de la aguja orientado hacia arriba, se debe producir una pequeña elevación de la piel de 6 a 10 mm de diámetro; si la prueba está bien aplicada, la lectura debe realizarse a las 48 a 72 horas, expresada siempre en milímetros de diámetro transverso de la induración.^{10, 11,31}

Interpretación del resultado:

- a) El resultado se interpreta cuando hay una induración de 10 mm, o más, lo que indica reactor al PPD en la población en general.
- b) En el recién nacido, en el desnutrido, en personas infectadas por VIH y en otras condiciones de inmunosupresión se considera reactor, al que

oficina, para detectar la conversión de la tuberculina positiva, y observación con rayos X para los tuberculinopositivos, y así detectar posibles casos de infección adquiridas en el laboratorio.^{20, 21}

(Balandrano CS. Medidas de bioseguridad en el laboratorio. Presentado en: IV Curso de actualización en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis en el niño y en el adulto, mayo 10, 2000, México, D.F).

ANEXO II

PRUEBA DE LA TUBERCULINA

La prueba de la tuberculina es un método tradicional para demostrar infección con *M. tuberculosis* produce cierta sensibilidad a ciertos componentes antigénicos del organismo, que están contenidos en extractos de cultivos llamados "tuberculinas".^{10,11}

En nuestro medio así como en países menos industrializados se cuenta con el derivado proteico purificado (PPD, RD-23) de 2 U, a diferencia de los países industrializados; de baja endemicidad donde el PPD es de 5 U.³¹

El PPD es aplicado comúnmente por la técnica de Mantoux, que consiste en administrarlo en la parte anterior del antebrazo, con el bisel de la aguja orientado hacia arriba, se debe producir una pequeña elevación de la piel de 6 a 10 mm de diámetro; si la prueba está bien aplicada, la lectura debe realizarse a las 48 a 72 horas, expresada siempre en milímetros de diámetro transversal de la induración.^{10, 11,31}

Interpretación del resultado:

- a) El resultado se interpreta cuando hay una induración de 10 mm, o más, lo que indica reactor al PPD en la población en general.
- b) En el recién nacido, en el desnutrido, en personas infectadas por VIH y en otras condiciones de inmunosupresión se considera reactor, al que

presenta una induración de 5 o más milímetros de diámetro.

- c) No reactor cuando es de 0 a 5 mm.
- d) Reacción inespecífica, de 6 a 9 mm en población en general, se interpreta como primoinfección, debida a micobacterias no tuberculosas (atípicas); (Olvera R. Criterios diagnósticos de la tuberculosis. Presentado en: IV Curso de actualización en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis en el niño y el adulto, mayo 10, 2000, México, D.F).

En determinadas circunstancias la reacción puede ser falsamente negativa:

1. Por defecto de la técnica; la luz solar y el calor ocasionan pérdida del efecto del reactivo. Por tal motivo, los frascos han de protegerse y guardarse en el frigorífico. No conviene demorar el tiempo de la administración, una vez introducida la tuberculina en la jeringuilla, por la tendencia del principio activo a adherirse a las superficies de plástico vidrio.^{10, 11}
2. Errores en la lectura: Incluso personas experimentadas pueden interpretar resultados distintos frente a una misma reacción.^{10, 11}
3. Alteración de la inmunidad: La sensibilidad a la tuberculina tarda en manifestarse entre 2 y 8 semanas tras la primoinfección. Ante esta sospecha es necesario repetir la prueba al cabo de 8 a 10 semanas.^{10, 11}
4. Anergia: Una serie de circunstancias generadoras de anergia, por depresión de los mecanismos inmunitarios, deben tenerse en consideración: enfermedades víricas recientes (sarampión, varicela, mononucleosis) vacunaciones antivíricas, administración de fármacos inmunosupresores, y, por último, enfermedades que depriman la inmunidad celular (sarcoidosis, linfomas, leucemias, SIDA).^{10, 11}
5. Disminución de la hipersensibilidad tuberculínica: Algunas personas que han tenido un resultado positivo en la prueba de la tuberculina experimentan con el paso del tiempo cierto grado de disminución de hipersensibilidad tuberculínica, de manera que la reacción aparezca falsamente negativa. Sin embargo la misma tuberculina ejerce a veces un efecto reactivador de la respuesta (efecto booster o de aumento) que se pone de manifiesto en la positividad de una segunda prueba practicada tras un intervalo de 7 días. Este efecto ha de tenerse en cuenta en personas

de edad, antes de catalogarlas como conversoras ante un viraje reciente de la tuberculina.^{10, 11}

Indicaciones de PPD

- Contacto con enfermos tuberculosos.
- Alteraciones de la radiografía de tórax sugestivas de tuberculosis.
- Cuadro clínico sugestivo de tuberculosis.
- Pacientes inmunocomprometidos (VIH, linfoma, desnutrición, tratamiento esteroideo, insuficiencia renal crónica, enfermedad de Hoodking, diabetes mellitus, etc.).^{11,31.}

Quimioprofilaxis:

Isoniacida a dosis de 10 mg/kg/día con dosis máxima de 300 mg. al día Durante 6 a 12 meses en adultos; 9 meses en niños menores de 15 años; en pacientes con VIH la administración debe ser de por lo menos 12 meses.³¹

Indicaciones de quimioprofilaxia:

- Contactos intradomiciliarios.
- Conversión a reacción positiva a la tuberculina, en un periodo de un año.
- Paciente inmunocomprometido con PPD positivo.³¹

ANEXO III

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Para que el laboratorio pueda tener un resultado confiable y útil, no sólo es preciso que ejecute las técnicas en forma correcta si no que disponga de una buena muestra cuyas características son: ²⁴

- ❖ Provenir del sitio de la lesión a investigar.
- ❖ Ser en cantidad suficiente.
- ❖ Estar colocada en el envase adecuado.
- ❖ Correctamente identificada.
- ❖ Conservarse y transportarse adecuadamente.

El diagnóstico de la tuberculosis pulmonar se establece mediante la identificación del agente causal en una muestra clínica obtenida del sujeto en estudio la cual preferentemente debe ser expectoración (o en su defecto en el caso de los pacientes que no expectoran, el lavado bronquial); ya que se considera la muestra de mayor rendimiento donde se puede hacer la búsqueda bacilosκόpica, puesto que ninguna otra supera sus resultados. ^{24, 32}

El esputo debe obtenerse poco después de que el paciente despierta por la mañana porque mejora la recuperación de micobacterias y presenta menor contaminación. ¹⁹

Deberá colectarse por 3-6 días sucesivos y obtenerse en un área aislada, después de que el paciente se ha enjuagado la boca con agua hervida. ²⁰

La ulceración irregular y liberación de bacilos ácido-alcohol resistentes de focos bronquiales subepiteliales de infección tuberculosa, pueden producir un patrón, de recuperación variable. Por esta razón debe recolectarse un mínimo de tres a cuatro muestras de los pacientes sospechosos de tener tuberculosis pulmonar, por la mañana. ¹⁹

Para la toma de la muestra se debe proceder de la siguiente manera: ^{24,32}

- ❖ Entregar al paciente un envase etiquetado donde se va a recoger la muestra, con la fecha de recolección nombre del paciente, y unidad de salud donde se

recolectó.

- ❖ Instruir al paciente con toda claridad para que produzca esputo bronquial de las “profundidades del pecho”, esto es, respirando profundamente, reteniendo el aire y lanzándolo violentamente, recogiendo el esputo en el frasco cuidando que no se vuelque en sus manos, o se derrame en las paredes externas del recipiente.
- ❖ La explicación debe ser sencilla y la persona encargada de darla debe utilizar un lenguaje común, que asegure que el paciente haya entendido.

El envase para la recolección de la muestra debe reunir las siguientes características:

- ❖ Boca ancha (aproximadamente de 6 cm de diámetro).
- ❖ Tapa de rosca. (para disminuir el riesgo de derramar la muestra durante el transporte, y producción de aerosoles al abrirlo en el laboratorio).
- ❖ Paredes lisas que permitan la correcta identificación del envase.
- ❖ Capacidad de 50 a 60 mL. y 3 cm. de profundidad para recolectar una muestra suficiente.
- ❖ Transparente para juzgar la calidad de la muestra sin abrir el envase.
- ❖ Desechable para favorecer su eliminación.

Conservación y transporte:

Debido a que la temperatura y el tiempo favorecen la multiplicación de la flora contaminante en una muestra de esputo, y que dicha flora es capaz de desnaturalizar las proteínas y destruir al bacilo; las muestras para baciloscopia y cultivo deben procesarse el mismo día de la recolección. Si es necesario conservarla, siempre debe ser en refrigeración (4-8°C) o en lugar fresco, protegido de la luz y por no más de siete días.^{10, 19,24}

Para el transporte de la muestra debe evitarse:

- ❖ Exposición al calor excesivo.
- ❖ Exposición a la luz solar directa.
- ❖ Derrame del contenido del envase (por ello se colocarán dentro de una bolsa de plástico).

De manera que las muestras deberán ser entregadas al laboratorio dentro de

los primeros 30 minutos de su recolección (idealmente), o dentro de las primeras 24 horas de la misma.²⁰

ANEXO IV

RELACIÓN DE MUESTRAS POSITIVAS

No. de identificación	B. Directas	B. NaOH	B. NaClO	Cultivo L-J	Tipificación
861-34			+	+	M. atípica
862-35			+	+	M. atípica
863-36			+	+	M. atípica
934-42				+	M. atípica
957-49			+	+	<i>M. tuberculosis</i>
958-50			+	+	<i>M. tuberculosis</i>
959-51			+	+	<i>M. tuberculosis</i>
968-55			++	+	M. atípica
989-64		+	+	+	<i>M. tuberculosis</i>
1072-82		+	++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1073-83	++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1075-85	++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1199-110	+++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1200-111	+++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1201-112	+++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1505-128	+	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1515-136	+++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
1941-296	+	++	++	+	<i>M. tuberculosis</i>
2318-293	++	+++	+++	+	<i>M. tuberculosis</i>
2448-340	+	++	++	+	<i>M. tuberculosis</i>
Total	10	12	19	20	

ANEXO V

CÁLCULOS

Cálculos de los parámetros de control de calidad para Baciloscopías Directas:

		TUBERCULOSIS PULMONAR		
		E	E ^c	TOTAL
RESULTADO DE B. DIRECTAS	+	10	0	10
	-	10	280	290
TOTAL		20	280	300

Donde:

$$SENSIBILIDAD = \frac{a}{a+c}$$

$$ESPECIFICIDAD = \frac{d}{b+d}$$

$$\text{Sensibilidad} = \frac{10}{10+10} = \frac{10}{20} = 0.50 \approx 50\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{280}{0+280} = \frac{280}{280} = 1 \approx 100\%$$

$$VPP = \frac{a}{a+b}$$

$$VPN = \frac{d}{c+d}$$

$$VPP = \frac{10}{10+0} = 1 \approx 100\%$$

$$VPN = \frac{280}{10+280} = 0.96 \approx 96\%$$

Para calcular el valor predictivo poblacional se utilizó el teorema de Bayes:

Considerando que la prevalencia de tuberculosis varía del 17.3-22.8% (valor medio 20.05%) y que el 80% de esta corresponde a tuberculosis pulmonar⁴⁷ ($0.8 \times 0.20 = 0.16$), estos datos fueron sustituidos en el teorema de Bayes.

$$P(E/+)=\frac{P(+/E)\cdot P(E)}{P(+/E)\cdot P(E)+P(+/E^c)\cdot P(E^c)}$$

Donde:

$$P(E) = 0.16 \text{ (con relación al valor teórico)}$$

$$P(E^c) = 0.84$$

$$P(+/E) = \frac{Pv}{Pv + NF} = \frac{10}{10 + 10} = \frac{10}{20} = 0.5$$

$$P(+/E^c) = \frac{Fp}{Nv + Fp} = \frac{0}{0 + 280} = 0$$

Substituyendo:

$$P(E/+) = \frac{(0.5)(0.16)}{(0.5)(0.16) + (0)(0.84)} = 1 \approx 100\%$$

$$P(E/-) = \frac{P(-/E)\cdot P(E)}{P(-/E)\cdot P(E)+P(-/E^c)\cdot P(E^c)}$$

Donde:

$$P(E) = 0.16$$

$$P(E^c) = 0.84$$

$$P(-/E) = \frac{NF}{Pv + NF} = \frac{10}{10 + 10} = \frac{10}{20} = 0.5$$

$$P(-/E^c) = \frac{Nv}{Nv + Fp} = \frac{280}{280 + 0} = 1$$

Substituyendo:

$$P(E/-) = \frac{(0.5)(0.16)}{(0.5)(0.16) + (1)(0.84)} = \frac{0.08}{0.92} = 0.0869 \approx 8.7\%$$

Cálculos de los parámetros de control de calidad para Baciloscopías por concentración con NaOH al 4 %.

		TUBERCULOSIS PULMONAR		
		E	E ^c	TOTAL
RESULTADO DE B. NaOH AL 4%	+	12	0	12
	-	8	280	288
	TOTAL	20	280	300

$$\text{Sensibilidad} = \frac{12}{12 + 8} = \frac{12}{20} = 0.60 \approx 60\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{280}{0 + 280} = \frac{280}{280} = 1.0 \approx 100\%$$

$$\text{VPP} = \frac{12}{12 + 0} = 1.0 \approx 100\%$$

$$\text{VPN} = \frac{280}{8 + 280} = \frac{280}{288} = 0.97 \approx 97\%$$

Para calcular el valor predictivo poblacional se utilizó el teorema de Bayes:

$$P(E/+) = \frac{P(+/E) \cdot P(E)}{P(+/E) \cdot P(E) + P(+/E^c) \cdot P(E^c)}$$

Donde:

$$P(E) = 0.16$$

$$P(E^c) = 0.84$$

$$P(+/E) = \frac{Pv}{Pv + NF} = \frac{12}{12 + 8} = \frac{12}{20} = 0.6$$

$$P(+/E^c) = \frac{Fp}{Nv + Fp} = \frac{0}{0 + 280} = 0$$

Substituyendo:

$$P(E/+) = \frac{(0.6)(0.16)}{(0.6)(0.16) + (0)(0.84)} = 1.0 = 100\%$$

$$P(E/-) = \frac{P(-/E) \cdot P(E)}{P(-/E) \cdot P(E) + P(-/E^c) \cdot P(E^c)}$$

Donde:

$$P(E) = 0.16$$

$$P(E^c) = 0.84$$

$$P(-/E) = \frac{NF}{Pv + NF} = \frac{8}{12 + 8} = \frac{8}{20} = 0.4$$

$$P(-/E^c) = \frac{Nv}{Nv + Fp} = \frac{280}{280 + 0} = 1$$

Substituyendo:

$$P(E/-) = \frac{(0.4)(0.16)}{(0.4)(0.16) + (1)(0.84)} = \frac{0.064}{0.904} = 0.0707 = 7.0\%$$

Cálculos de los parámetros de control de calidad para Baciloscopías por concentración con NaClO al 5.25 %.

		TUBERCULOSIS PULMONAR		
		E	E ^c	TOTAL
RESULTADO DE B. NaClO AL 5.25%	+	19	0	12
	-	1	280	290
TOTAL		20	280	300

$$\text{Sensibilidad} = \frac{19}{19+1} = \frac{19}{20} = 0.95 = 95\%$$

$$\text{Especificidad} = \frac{280}{0+280} = \frac{280}{280} = 1.0 = 100\%$$

$$\text{VPP} = \frac{19}{19+0} = 1.0 = 100\%$$

$$\text{VPN} = \frac{280}{1+280} = \frac{280}{281} = 0.99 = 99\%$$

Para calcular el valor predictivo poblacional se utilizó el teorema de Bayes:

$$P(E/+)=\frac{P(+/E)\cdot P(E)}{P(+/E)\cdot P(E)+P(+/E^c)\cdot P(E^c)}$$

Donde:

$$P(E) = 0.16$$

$$P(E^c) = 0.84$$

$$P(+/E) = \frac{Pv}{Pv + NF} = \frac{19}{19+1} = \frac{19}{20} = 0.95$$

$$P(+/E^c) = \frac{Fp}{Nv + Fp} = \frac{0}{0+280} = 0$$

Substituyendo:

$$P(E/+) = \frac{(0.95)(0.16)}{(0.95)(0.16) + (0)(0.84)} = 1.0 = 100\%$$

$$P(E/-) = \frac{P(-/E)\cdot P(E)}{P(-/E)\cdot P(E)+P(-/E^c)\cdot P(E^c)}$$

Donde:

$$P(E) = 0.16$$

$$P(E^c) = 0.84$$

$$P(-/E) = \frac{NF}{Pv + NF} = \frac{1}{19 + 1} = \frac{1}{20} = 0.05$$

$$P(-/E^c) = \frac{Nv}{Nv + Fp} = \frac{280}{280 + 0} = 1$$

Substituyendo:

$$P(E/-) = \frac{(0.05)(0.16)}{(0.05)(0.16) + (1)(0.84)} = \frac{0.008}{0.848} = 0.0094 \approx 0.94\%$$

CÁLCULOS PARA GRADO DE CONCORDANCIA

Para calcular el grado de concordancia entre los métodos entre sí se realizaron los siguientes cálculos:

Concordancia entre Baciloscopías Directas y Baciloscopías por el método de concentración con hipoclorito de sodio al 5.25 %.

CONCORDANCIA ENTRE DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR				
		B. DIRECTAS		
		E	E ^c	TOTAL
B. NaClO AL 5.25 %	+	10	9	19
	-	0	281	281
TOTAL		10	290	300

Para calcular la *K* de Cohen se utiliza:

$$k = \frac{N(a + d) - R}{N^2 - R}$$

Donde:

$$R = u + t$$

$$u = r_0c_0$$

$$t = r_1c_1$$

Por lo tanto:

$$u = (10)(19) = 190$$

$$t = (290)(281) = 81490$$

$$R = 190 + 81490 = 81680$$

$$k = \frac{300(10 + 281) - 81680}{300^2 - 81680} = \frac{87300 - 81680}{8320} = \frac{5620}{8320} = 0.6754$$

$$K = 0.6754$$

La estimación de la varianza de K es:

$$S^2_k = \frac{R(N + R/N) - u(r_0 + c_0) - t(r_1 + c_1)}{R^2 + N^2(N^2 - 2R)}$$

...y el error estándar se obtiene a partir de la raíz cuadrada de la varianza por lo tanto:

$$S_k = \sqrt{\frac{81680(300 + 81680/300) - 190(19 + 10) - 81490(281 + 290)}{81680^2 + 300^2 [300^2 - 2(81680)]}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{81680(300 + 272.2667) - [(190)(29)] - 81490(571)}{6671622400 + 90,000(90,000 - 163360)}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{81680(572.2667) - 5510 - 46530790}{6671622400 + (-660240000)}} = \sqrt{\frac{206441.3334}{69222400}} = \sqrt{0.002982} = 0.0546$$

$$S_k = 0.0546 \quad \text{y} \quad S^2_k = 0.002982$$

Los límites de confianza calculados para K son:

Al 95%; $K - 1.960 S_k$; $K + 1.960 S_k$

$$0.6754 - (1.960)(0.0546) = 0.6754 - 0.1070 = 0.5684 \text{ (límite inferior)}$$

$$0.6754 + (1.960)(0.546) = 0.6754 + 0.1070 = 0.7824 \text{ (límite superior)}$$

El intervalo de confianza al 95% para la concordancia es de 0.5684 a 0.7824

Por lo tanto existe una concordancia del 57 – 78 % con el 95% de confianza.

Concordancia entre Baciloscopías por concentración con NaOH al 4% y Baciloscopías por el método de concentración con hipoclorito de sodio al 5.25 %.

CONCORDANCIA ENTRE DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR				
		B. NaOH AL 4%		
		E	E ^c	TOTAL
B. NaClO AL 5.25 %	+	12	7	19
	-	0	281	281
	TOTAL	12	288	300

Para calcular la *K* de *Cohen* se utiliza:

$$k = \frac{N(a+d) - R}{N^2 - R}$$

Donde:

$$R = u + t$$

$$u = r_0 c_0$$

$$t = r_1 c_1$$

Por lo tanto:

$$u = (19)(12) = 228$$

$$t = (281)(288) = 80928$$

$$R = 228 + 80928 = 81156$$

$$k = \frac{300(12 + 281) - 81156}{300^2 - 81156} = \frac{300(293) - 81156}{90,000 - 81156} = \frac{87900 - 81156}{8844} = \frac{6744}{8844} = 0.7625$$

$$K = 0.7625$$

La estimación de la varianza calculado para *K* es:

$$S^2_k = \frac{R(N + R/N) - u(r_0 + c_0) - t(r_1 + c_1)}{R^2 + N^2(N^2 - 2R)}$$

...y el error estándar se obtiene a partir de la raíz cuadrada de la varianza por lo tanto:

$$S_k = \sqrt{\frac{81156(300 + 81156/300) - 228(19 + 12) - 80928(281 + 288)}{81156^2 + 300^2 [300^2 - 2(81156)]}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{81156(300 + 270.52) - [(228)(31)] - 80928(569)}{6586296336 + 90,000(90,000 - 162312)}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{81156(570.52) - 7068 - 46048032}{6586296336 + (-6508080000)}} = \sqrt{\frac{246021.12}{78216336}} = \sqrt{0.003145} = 0.0560$$

$$S_k = 0.0560 \quad S^2_k = 0.003145$$

Los límites de confianza calculados para K son:

Al 95%; $K - 1.960 S_k$; $K + 1.960 S_k$

$$0.7625 - (1.960)(0.0560) = 0.7625 - 0.1097 = 0.6528 \text{ (límite inferior)}$$

$$0.7625 + (1.960)(0.0560) = 0.7625 + 0.1097 = 0.8722 \text{ (límite superior)}$$

El intervalo de confianza al 95 % para la concordancia es de 0.6528 a 0.8722

Por lo tanto existe una **concordancia del 65 – 87 % con el 95% de confianza.**

Concordancia entre el método estándar (cultivo en el medio de Löwestein-Jensen) y Baciloscopías por el método de concentración con hipoclorito de sodio al 5.25 %.

CONCORDANCIA ENTRE DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR				
		Método estándar		
		E	E ^c	TOTAL
B. NaOCl AL 5.25 %	+	19	0	19
	-	1	280	281
TOTAL		20	280	300

Para calcular la *K* de *Cohen* se utiliza:

$$k = \frac{N(a+d) - R}{N^2 - R}$$

Donde:

$$R = u + t$$

$$u = r_0 c_0$$

$$t = r_1 c_1$$

Por lo tanto:

$$u = (19)(20) = 380$$

$$t = (281)(280) = 78680$$

$$R = 380 + 78680 = 79060$$

$$k = \frac{300(19 + 280) - 79060}{300^2 - 79060} = \frac{300(299) - 79060}{90,000 - 79060} = \frac{89700 - 79060}{10940} = \frac{10640}{10940} = 0.9725$$

$$K = 0.9725$$

La estimación de la varianza calculado para *K* es:

$$S^2_k = \frac{R(N + R/N) - u(r_0 + c_0) - t(r_1 + c_1)}{R^2 + N^2(N^2 - 2R)}$$

... y el error estándar se obtiene de la raíz cuadrada de la varianza:

$$S_k = \sqrt{\frac{79060(300 + 79060/300) - 380(19 + 20) - 78680(280 + 281)}{79060^2 + 300^2 [300^2 - 2(79060)]}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{79060(300 + 263.53) - [(380)(39)] - 78680(561)}{6250483600 + 90,000(90,000 - 158120)}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{79060(563.53) - 14820 - 44139480}{6250483600 + (-6130800000)}} = \sqrt{\frac{398381.8}{119683600}} = \sqrt{0.003328} = 0.0576$$

$S_k = 0.0576$ $S_k^2 = 0.003328$

Los límites de confianza calculados para K son:

Al 95%; $K - 1.960 S_k$; $K + 1.960 S_k$

$0.9725 - (1.960)(0.0576) = 0.9725 - 0.1128 = 0.8597$ (límite inferior)

$0.9725 + (1.960)(0.0576) = 0.9725 + 0.1128 = 1.0853$ (límite superior)

El intervalo de confianza al 95% para la concordancia es de 0.8597 a 1.0853

Por lo tanto existe una concordancia del 86 –108 % con el 95% de confianza.

Concordancia entre el método estándar (cultivo en el medio de Löwestein-Jensen y el método de Baciloscopías por concentración con NaOH al 4%

CONCORDANCIA ENTRE DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR				
		Método estándar		
		E	E ^c	TOTAL
B. NaOH AL 4%	+	12	0	12
	-	8	280	288
	TOTAL	20	280	300

Para calcular la K de *Cohen* se utiliza:

$$k = \frac{N(a+d) - R}{N^2 - R}$$

Donde:

$$R = u + t$$

$$u = r_0 c_0$$

$$t = r_1 c_1$$

Por lo tanto:

$$u = (12)(20) = 240$$

$$t = (288)(280) = 80640$$

$$R = 240 + 80640 = 80880$$

$$k = \frac{300(12 + 280) - 80880}{300^2 - 80880} = \frac{300(292) - 80880}{90,000 - 80880} = \frac{87600 - 80880}{9120} = \frac{6720}{9120} = 0.7368$$

$$K = 0.7368$$

La estimación de la varianza calculado para K es:

$$S^2_k = \frac{R(N + R/N) - u(r_0 + c_0) - t(r_1 + c_1)}{R^2 + N^2(N^2 - 2R)}$$

... y el error estándar se obtiene de la raíz cuadrada de la varianza:

$$S_k = \sqrt{\frac{80880(300 + 80880/300) - 240(12 + 20) - 80640(288 + 280)}{80880^2 + 300^2 [300^2 - 2(80880)]}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{80880(300 + 269.6) - [(240)(32)] - 80640(568)}{6541574400 + 90,000(90,000 - 161760)}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{80880(569.6) - 7680 - 45803520}{6541574400 + (-6458400000)}} = \sqrt{\frac{258048}{83174400}} = \sqrt{0.003102} = 0.0557$$

$$S_k = 0.0557$$

$$S^2_k = 0.003102$$

Los límites de confianza calculados para K son:

Al 95%; $K - 1.960 S_k$; $K + 1.960 S_k$

$0.7368 - (1.960)(0.0557) = 0.7368 - 0.1091 = 0.6277$ (límite inferior)

$0.7368 + (1.960)(0.0557) = 0.7368 + 0.1091 = 0.8459$ (límite superior)

El intervalo de confianza al 95% para la concordancia es de 0.6277 a 0.8459

Por lo tanto existe una concordancia del 63 –85 % con el 95% de confianza.

Concordancia entre el método estándar (cultivo en el medio de Löwestein-Jensen y el método de Baciloscopías Directas.

CONCORDANCIA ENTRE DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS PULMONAR				
		Método estándar		
		E	E ^c	TOTAL
B. DIRECTAS	+	10	0	10
	-	10	280	290
	TOTAL	20	280	300

Para calcular la *K* de *Cohen* se utiliza:

$$k = \frac{N(a + d) - R}{N^2 - R}$$

Donde:

$$R = u + t$$

$$u = r_0c_0$$

$$t = r_1c_1$$

Por lo tanto:

$$u = (10)(20) = 200$$

$$t = (290)(280) = 81200$$

$$R = 200 + 81200 = 81400$$

$$k = \frac{300(10 + 280) - 81400}{300^2 - 81400} = \frac{300(290) - 81400}{90,000 - 81400} = \frac{87000 - 81400}{8600} = \frac{5600}{8600} = 0.6511$$

$$K = 0.6511$$

La estimación de la varianza calculado para K es:

$$S^2_k = \frac{R(N + R/N) - u(r_0 + c_0) - t(r_1 + c_1)}{R^2 + N^2(N^2 - 2R)}$$

... y el error estándar se obtiene de la raíz cuadrada de la varianza:

$$S_k = \sqrt{\frac{81400(300 + 81400/300) - 200(10 + 20) - 91200(290 + 280)}{81400^2 + 300^2 [300^2 - 2(81400)]}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{81400(300 + 271.33) - [(200)(30)] - 81200(570)}{6625960000 + 90,000(90,000 - 162800)}} =$$

$$S_k = \sqrt{\frac{81400(571.33) - 6000 - 46284000}{6625960000 + (-6552000000)}} = \sqrt{\frac{216262}{73960000}} = \sqrt{0.002924} = 0.0540$$

$$S_k = 0.0540 \quad S^2_k = 0.002924$$

Los límites de confianza calculados para K son:

Al 95%; $K - 1.960 S_k$; $K + 1.960 S_k$

$$0.6511 - (1.960)(0.0540) = 0.6511 - 0.1058 = 0.5453 \text{ (límite inferior)}$$

$$0.6511 + (1.960)(0.0540) = 0.6511 + 0.1058 = 0.7669 \text{ (límite superior)}$$

El intervalo de confianza al 95% para la concordancia es de 0.5453 a 0.7669

Por lo tanto existe una **concordancia del 54 -77 % con el 95% de confianza.**

BIBLIOGRAFÍA

1. NOM-006-SSA 2-1993.
2. Tenover C F, Crawford T J, Huebner E R, Geiter J L, Hosburgh C R, and Good C R. The resurgence of tuberculosis is your laboratory ready?. *J. Microbiol Clin* 1993, 31:767-770.
3. Cremin B J Tuberculosis: the resurgence of our most lethal infectious disease a review. *Pediatr Radiol* 1995; 25:620-626.
4. S.S.A. Epidemiología. México 1993; 8: 97-112.
5. David T, Smith M D, Bacteriología de Zinsser. 2ª. ed. México: Hispanoamericana; 1964:391-402.
6. Davis B D. Tratado de microbiología. 2ª. ed. Barcelona: Salvat; 1978:868-884.
7. Cecil. Tratado de medicina interna. 18ª. ed. Vol II. México: Interamericana Mc Graw-Hill, 1991:1858-1862.
8. Freeman B A. Microbiología de Burrows. 22ª. ed. México: Mc Graw-Hill, 1989: 691-705.
9. Alarcón G. Enfermedades respiratorias. 2ª. ed. México Francisco Méndez Cervantes; 1990: 195-211, 673-676.
10. American Thoracic Society and Centers for Disease Control. Diagnostic standars and clasifcation of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 725-735.
11. Teixidor R J, Guardia M J. Medicina interna. Barcelona: Masson, S.A., 1997: 1141-1145.
12. Smith S, Jacobs R F, Wilson C B. Immunobiology of childhood tuberculosis: a window on the ontogeny of celular inmunity. *J Pediatr* 1997;131: 16-26.
13. Chan J, Xing Y, Magliozzo R S, et al. Killing of virulent mycobacterium tuberculosis by reactive nitrogen intermediates produced by actived macrophages. *J Exp Med* 1992; 175:1111-1112.
14. O.P.S. La salud en las américas. 1998: Vol. I: 137-139.
15. O.P.S. La salud en las américas. 1998: Vol. II: 403-411.
16. INEGI/S.S.A. Principales resultados de la estadística sobre mortalidad en México. *Salud Pública Mex* 2000; 42:155-159.
17. S.S.A. Epidemiología. México 2000; 17: 4,7,32.
18. Murray P R. Microbiología médica. 2ª. ed. Barcelona: Mosby-year-book, 1995: 320-322.
19. Koneman E. Diagnóstico microbiológico. 3ª. ed. Buenos aires: Medica

- Panamericana, 1992: 622-655.
20. Shinnick T M, Good R C. Diagnostic mycobacteriology laboratory practices. CID 1995; 21: 291-299.
 21. Lennette H E. Manual de microbiología clínica. Barcelona: Salvat, 1981: 151-162.
 22. S.S.A. Epidemiología. México 1998; 15: 1-9.
 23. Willeke K, Qian Yinge. Tuberculosis control through respirator wear: Performance of National Institute for Occupational Safety and Health-Regulated Respirators. AJIC 1998; 26: 139-142.
 24. Balandrano S. Manual de procedimientos de laboratorio. 18. Tuberculosis. México: INDRE/SAGAR. 1996: 33-39.
 25. Saceanu A C, Pfeiffer N C, Mc Lean T. Evaluation of sputum smears concentrated by centrifugation for detection of acid-fast bacilli. J Clin Microbiol 1993; 31: 2371-2374.
 26. O.P.S. Control de la tuberculosis. Manual sobre métodos y procedimientos para programas integrados. 1987: 21-31.
 27. Malacara H J. Bases para la investigación biomédica. México: Distribuidora y Editora Mexicana, 1987:59-61.
 28. Cañedo D L. Investigación clínica. México: Interamericana, 1987: 114-126.
 29. Navarro F R. Introducción a la bioestadística. Análisis de variables binarias. México: Mc Graw-Hill, 1988:59-71, 100-104.
 30. Gordin F, Slutkin G. The validity of acid-fast smears in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Arch Pathol Lab Med 1990; 114: 1025-1027.
 31. -[http // www.drscope.com/privados/pac/pediatria/pbl 5 / tuberc...](http://www.drscope.com/privados/pac/pediatria/pbl5/tuberc...)
 32. O.P.S. Tuberculosis, detección de casos y quimioterapia. 1980; 6-15.
 33. Im J G, Itoh H, Han M C. CT of pulmonary tuberculosis. Semin ultrasound. CT MR 1995; 35: 121-124.
 34. Woods L G, Fish G, Plaunt M, Murphy T. Clinical evaluation of difco ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. J Clin Microbiol 1997; 35: 121-124.
 35. Krasnow I, Wayne G L. Sputum digestion. The mortality rate of tubercle in various digestion systems. Am J Clin Path 1966; 45: 352-355.
 36. Woods G L, Pentony E, Baxley J M, Gston M A. Concentration of sputum by centrifugation for preparation of smears for detection of acid-fast bacilli does not increase sensitivity of fluorochrome stain. J Clin Microbiol 1995; 33:1915-1916.
 37. Strumpf I J, Tsang A Y, Sagre J W. Re-evaluation of sputum staining for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1979; 119: 599-602.

38. Yajko D M, Wagner C, Tevere V J, Kocagöz T, Hadley W K, Chambers H F. Quantitative culture of mycobacterium tuberculosis from clinical sputum specimens and dilution end point of its detection by the amplicolor PCR assay. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1944-1947.
39. Balows A. Manual of clinical microbiology. 5^a. ed. USA. American society for microbiology library of congress cataloging-in-publications data; 1991: 304-312.
40. Rickman T W, Mayer N P. Increased sensitivity of acid-fast smears. *J Clin Microbiol* 1980; 23: 618-620.
41. Belkin N L. Aseptics and aesthetics of chlorine bleach: Can its use in laundering be safely abandoned?. *AJIC* 1998; 26:149-151.
42. The Index Merck. An encyclopedia of chemicals drugs, and biologicals. 10^a. ed. USA: Merk & C., INC, 1983:1236.
43. Fuerst R. Microbiología de Frobisher y Fuerst. 2^a. ed. México: Interamericana, 1981: 191-193.
44. Ratman S, March B S. Effect of relative centrifugal force and centrifugation time on sedimentation of micobacteriology in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1986; 2:582-585.
45. Kaplan A L. Química clínica. Técnicas de laboratorio-fisio-Patología-métodos de análisis. Buenos aires: Médica Panamericana, 1990: 27-29.
46. Grage J M, Festenstein F. The human dimension of tuberculosis control. *Tuberc Lung Dis* 1995; 74: 227-272.
47. Quiroz H G, Yañez L B, Kato M M, y cols. TAES: Tratamiento acortado estrictamente supervisado, la estrategia para controlar la tuberculosis. *Enf Infec y Microbiol* 1998; 18: 83-84.
48. S.S.A. Guía de autoenseñanza. Programa de prevención y control de la tuberculosis. México; 1999: 10-17.
49. Gómez D O, Llópiz A M. Las referencias bibliográficas en los escritos médicos. *Salud Pública Mex* 1988; 30: 760-765.

Esta tesis fue realizada en el
Laboratorio del Servicio de Neumología
del Hospital General de México.