



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ZIEHL NEELSEN
CONVENCIONAL Y MODIFICADA PARA LA
IDENTIFICACIÓN DE *Mycobacterium tuberculosis* EN
PACIENTES DE LA CLÍNICA SAN AGUSTÍN JULIACA
2016”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADA EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN EL ÁREA DE
LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

ALANIA QUENTA, YOVANA

ASESOR:

Lic. TM JULIANA GARNIQUE UYPAN

JULIACA - PUNO - PERÚ

2016

DEDICATORIA.

A ti, Jesús, por ser la luz que ilumina, bendice y motiva el camino de mi vida. A ti, virgencita, por ser mi alegría, refugio y consuelo.

A mis padres, Nicolás Alania y Sabina Quenta, por todo el apoyo y amor que siempre me han brindado. A ti, madre, por ser el mejor ejemplo de entrega, generosidad e integridad que puedo tener, por ser una mujer, profesional y madre excepcional. A ti, padre, por ser mi guía de responsabilidad e integridad por todo tu cariño.

A mis hermanos (as), Marcia, María, Fredy, Mario y Alicia, por su compañía, cariño y protección.

AGRADECIMIENTO.

A DIOS TODOPODEROSO:

Por guiar mis pasos día con día y por darme esa fortaleza que a lo largo de mi carrera profesional.

Agradezco por su apoyo en la elaboración de mi proyecto de Tesis:

A la Lic. TM Juliana Garnique Uypan, y al Dr. Gian Carlo Valdez Velazco por su asesoría y ayuda constante en la realización de presente trabajo.

A mi alma mater “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” a quien llevo en mi corazón y tengo el honor de haber sido parte de esta Institución.

A la Clínica San Agustín de Juliaca y laboratorio clínico “GYG DIAGNOSTIC” y sus respectivas autoridades y trabajadores por permitirme realizar este presente trabajo de investigación y abrirme las puertas del hospital.

RECONOCIMIENTO.

Este proyecto de investigación fue posible gracias al Dr. Paul Tineo Cayo, director de la facultad de Tecnología Médica de la Universidad Alas Peruanas Filial Juliaca. Igualmente se agradece al Lic.TM Piter Julio Apaza Mamani en especial por su enfoque teórico en el pensamiento crítico lo cual fundamentó el marco conceptual de esta investigación, a la Lic.TM Juliana Garnique Uypan por su cooperación al contestar el cuestionario sobre las destrezas de pensamiento para su validación de esta investigación. De igual modo al Dr. Gian Carlo Valdez Velazco por su dirección y ayuda constante, en especial por su orientación metodológica y por su continuo estímulo durante todo el proceso hasta al final.

Entonces este reconocimiento se les brinda por su disposición y confianza, que sin ellos no se hubiera podido recoger los datos necesarios en este estudio. Por último se agradece a todas aquellas personas que en forma directa o indirecta contribuyeron a que este trabajo de investigación pudiera llevarse a cabo.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.	iii
RECONOCIMIENTO.....	iv
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	xii
CAPÍTULO I	1
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	1
1.2. Delimitación de la investigación.....	2
1.3. Problema de investigación.....	2
1.4. Objetivos de la investigación.	3
1.4.1. Objetivo general.	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Hipótesis y variables de la investigación.	4
1.5.1. Hipótesis general.....	4
1.5.2. Hipótesis específicos.....	4
1.5.3. Variables.	4
1.5.3.1. Tabla 1. Operacionalización de variables.....	5
1.6. Metodología de la investigación.....	5
1.6.1. Tipo y nivel de investigación.....	5
1.6.1.1. Tipo de investigación.....	5
1.6.1.2. Nivel de investigación.....	5
1.6.2. Método y diseño de la investigación.....	6
1.6.2.1. Método de la investigación.....	6
1.6.2.2. Diseño de la investigación.....	6
1.6.3. Población y muestra de la investigación.....	7
1.6.3.1. Población.	7
1.6.3.2. Muestra.	7

1.6.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	8
1.6.4.1.	Técnicas.....	8
1.6.4.2.	Descripción de los equipos	13
1.6.5.	Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.....	14
1.6.5.1.	Justificación.....	14
1.6.5.2.	Importancia.	15
1.6.5.3.	Limitaciones.	15
CAPÍTULO II		16
MARCO TEÓRICO		16
2.1.	ANTECEDENTES.....	16
2.2.	BASES TEÓRICAS:.....	27
2.2.1.	LA TUBERCULOSIS.	27
2.2.2.	EPIDEMIOLOGÍA.....	29
2.2.3.	FACTORES DE RIESGO PARA DESARROLLAR LA ENFERMEDAD ACTIVA	30
2.2.4.	MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	30
2.2.5.	DIAGNÓSTICO.	31
2.2.6.	HORNO MICROONDA.....	33
2.2.7.	HISTORIA DE LA MICROONDA	34
2.2.8.	DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.....	34
2.2.9.	LABORATORIO DE BACILOSCOPIA	34
2.2.10.	CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA.....	35
2.2.11.	TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS	35
2.2.12.	RECEPCIÓN DE LA MUESTRA.	36
2.2.13.	AMBIENTE Y MATERIAL DE TRABAJO DE LABORATORIO.....	36
2.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS:.....	37
CAPÍTULO III		39
PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN.....		39
3.1.	ANÁLISIS DE TABLAS Y GRÁFICOS.....	39
3.1.1.	RESULTADOS.....	39
3.1.2.	CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	49

3.1.2.1. PRUEBA DE LA HIPÓTESIS GENERAL MEDIANTE EL USO DE LA PRUEBA DE LOS RANGOS CON SIGNO DE WILCOXON .	49
3.1.2.2. PRUEBA DE LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA DOS MEDIANTE EL USO DE LA PRUEBA DE LOS RANGOS CON SIGNO DE WILCOXON	50
3.2. DISCUSIÓN.....	52
3.3. CONCLUSIÓN.....	54
3.4. RECOMENDACIÓN.....	55
3.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXOS	60
ANEXO N° 1.....	60
MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	60
ANEXO N° 2.....	62
ANEXO N° 3.....	63
ANEXO N° 4.....	64
ANEXO N° 5.....	66
ANEXO N° 6.....	68
ANEXO N° 7.....	69
ANEXO N° 8.....	73

RESUMEN

La tuberculosis sigue siendo una de las enfermedades transmisibles más mortales a nivel mundial. Esta enfermedad suele afectar a los pulmones incluyendo los huesos, cerebro, matriz o el útero, piel, ganglios linfáticos etc. La técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda es un técnica empleada para detectar Mycobacterium tuberculosis permitiendo obtener resultados óptimos con un contraste entre los bacilos y el resto de la estructuras. **(4)**.

Por este motivo el presente trabajo de investigación tiene como Objetivo, Evaluar la eficacia de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016. **Método** es de tipo prospectivo y transversal por qué se realizó la recolección de datos en un solo momento de tiempo, de nivel aplicativo y de diseños cuasi-experimental. **Materiales**, utilización del microscopio, un horno microonda y reactivos para la coloración. La población fue de 500 de pacientes desde el mes de febrero - julio, que ingresan al laboratorio clínico de la Clínica San Agustín. Por lo tanto la Muestra es de tipo no probabilístico tomándose 30 muestras de pacientes con diagnóstico de tuberculosis. Obteniendo, Resultados dentro de la población estudiada en un 100% de muestras de pacientes, tanto de la convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles, existe una diferencia de 66.7% en pacientes que dieron resultado negativo para BAAR, (1-9 BAAR) tienen diferencia de 33.3% tanto de la convencional y modificada, en pacientes que dieron positivo a una (+) tiene una diferencia de 50.0% tanto de la convencional y modificada, en pacientes que dieron positivo a dos (++) tiene una diferencia de 0.0% tanto de la convencional y modificada y por último en pacientes que dieron positivo a tres (+++). Lo que implica que la técnica modificada es más eficaz que la técnica convencional. Llegando a la

Conclusión que al comparar los resultados por niveles de presencia de Mycobacterium tuberculosis de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada existe una diferencia no muy significativa pero relevante en estos casos de diagnóstico, la técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda es la prueba más eficaz, rápida y específica para diagnosticar la tuberculosis por la presencia del Mycobacterium tuberculosis.

PALABRAS CLAVES: Técnica de Ziehl Neelsen Convencional, Técnica de Ziehl Neelsen Modificada, Horno Microonda, Mycobacterium tuberculosis y Baciloscopía.

SUMMARY

Tuberculosis remains one of the deadliest communicable diseases worldwide. This disease usually affects the lungs including bones, brain, womb or uterus, skin, lymph nodes, etc. Ziehl Neelsen technique in microwave oven is a technique used to detect Mycobacterium tuberculosis allowing optimal results with a contrast between the bacilli and the rest of the structures. **(4)**.

For this reason the present researches has as objective, evaluate the effectiveness of conventional and modified for identification of Mycobacterium tuberculosis in patients of the Clinic San Agustin Juliaca 2016. Ziehl Neelsen **Method** techniques are prospective and transversal why data collection was performed in a single moment of time, application level and quasi-experimental designs. **Materials**, using the microscope and a microwave oven for coloring reagents. The population was 500 patients from the month of February to July, entering the clinical laboratory of the San Agustin Clinic. Thus the sample is not probabilistic taking 30 samples from patients diagnosed with tuberculosis. Obtaining, results within the study population by 100% of patient samples, both conventional and modified for identification of Mycobacterium tuberculosis by level, there is a difference of 66.7% in patients who tested negative for BAAR, (1-9 BAAR) have difference of 33.3% of both conventional and modified in patients who tested positive to a (+) has a difference of 50.0% of both conventional and modified in patients who tested positive two (++) has a difference of 0.0% of both conventional and modified and finally in patients who tested positive for three (+++). Implying that the modified technique more effective than the conventional technique. Concluding that when comparing the results for levels of presence of Mycobacterium tuberculosis of the conventional techniques Ziehl Neelsen and modified there is not significant but relevant difference in these cases diagnostic the Ziehl Neelsen modified microwave oven is the most effective, rapid and specific to diagnose

tuberculosis by the presence of Mycobacterium tuberculosis test.

KEYWORDS: Ziehl Neelsen Conventional, Ziehl Neelsen, Microwave Oven, Mycobacterium tuberculosis and Smear.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa y una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. **(1, 2)**. “En 2014, 9 600 000 de personas enfermaron de tuberculosis y 1 500 000 murieron por esta enfermedad; más del 95% de las muertes por tuberculosis ocurrieron en países de ingresos bajos y medianos, esta enfermedad es una de las cinco causas principales de muerte en las mujeres entre 15 y 44 años”. **(5)**. Por lo tanto La tuberculosis en el año 2014 incremento el número de casos ocurrió en Asia Sudoriental y en regiones del Pacífico Occidental, a la que correspondió el 58% de los casos nuevos en el mundo. No obstante, ese mismo año África tuvo la mayor tasa de incidencia más de 281 casos por 100 000. **(5)**. En el Perú Según el Ministerio de Salud (Minsa), se registran al año un promedio de 27 mil nuevos casos de tuberculosis , lo cual ubica a nuestro país como uno de los países con mayor cantidad de pacientes que sufren esta enfermedad.

Según Organización Mundial de la Salud (OMS).La sociedad moderna ofrece a los países poner fin a la epidemia de tuberculosis, reduciendo las tasas de mortalidad y niveles de incidencia eliminando los costos catastróficos. Este instrumento incluye una serie de metas de impacto mundial que, por un lado, prevén reducir las muertes por tuberculosis en un 90% y los nuevos casos en un 80% entre 2015 y 2030 y, por otro, evitar que ninguna familia tenga que hacer frente a costos catastróficos debidos a esta enfermedad. **(1-3)**.

Para el diagnóstico de la tuberculosis la técnica de Ziehl Neelsen es muy importante. Esta técnica es práctica, sencilla y de bajo costo, ya que puede ser realizada en la mayoría de los servicios de salud. Entre el 65% y el 80% de los casos pulmonares adultos puede confirmarse por esta técnica, por lo tanto la baciloscopia ayuda en el diagnóstico y control del tratamiento de la tuberculosis **(6, 7)**. Ya que esta técnica es fundamental en toda investigación bacteriológica de la tuberculosis y es utilizada a nivel mundial que tiene muy pocas probabilidades de errores al diagnosticar la tuberculosis.

Esta técnica de Ziehl Neelsen para el diagnóstico de la tuberculosis, es la observación directa de *Mycobacterium tuberculosis*, perteneciente al género de *Mycobacterium tuberculosis* donde esta tinción actúa sobre la capa de péptidoglicano de la bacteria tiñéndolas de rojo fucsia, esto gracias a las reacciones físico-químico que produce en dicha bacteria, para su diferenciación se utiliza el azul de metileno como contraste. **(8, 9)**. Esta técnica convencional requiere calentamiento (flameado directo con fuego) para que el colorante atraviese la pared bacteriana que contiene ácidos grasos, que les confiere la propiedad de resistir la decoloración con alcohol ácido.

El flameado de los portaobjetos no es apropiado por la probabilidad de deteriorar morfología de los bacilos. En cambio la técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda se emplea fundamentalmente como tinción diferencial para detectar micobacterias en distintos tejidos y en muestras de punción aspiración con aguja fina (PAAF). Por esta razón en nuestro laboratorio se ha adaptado la técnica modificada. Esta técnica nos permite obtener resultados óptimos con un buen contraste entre los *Mycobacterium tuberculosis* y el resto de las estructuras. **(4)**. Además se mantiene intacta las estructuras de las bacterias y el resto de las estructuras, por lo que es aplicable a todo tipo de muestras que llegue al laboratorio para el diagnóstico de la tuberculosis.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática.

“La tuberculosis es una patología a nivel mundial y que puede afectar cualquier órgano o sistema del cuerpo en principal a los pulmones, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud es la enfermedad infecciosa número uno en muertes a nivel mundial” **(2)**. A pesar de los grandes avances en los métodos de diagnóstico para tuberculosis, es todavía identificada por los antiguos procedimientos tales como la tinción de Ziehl-Neelsen y por el cultivo en el medio de Löwenstein- Jensen que todavía son considerados como estándar de oro, debido a que los procedimientos modernos son aún muy costosos. **(10)**.

En los últimos años se han adaptado varias técnicas para el diagnóstico de la tuberculosis como por ejemplo; la tinción auramina y PCR hemianidada is6110 ya que tienen alta sensibilidad y baja especificidad, estas pruebas son muy costosas. A lo largo de la historia, el diagnóstico de tuberculosis ha representado un verdadero desafío para el personal de laboratorio, ya que las técnicas convencionales no son lo suficientemente rápidas para el adecuado manejo y control de esta enfermedad. Por tal motivo, es necesario que se desarrollen, apliquen y

evalúen nuevas técnicas o metodologías con mayor especificidad y rapidez que las convencionales. En este trabajo de investigación se evaluó la eficacia de técnica Ziehl Neelsen convencional y modificada en horno microonda. En este sentido la técnica modificada de Ziehl Neelsen descrita en este trabajo aporta sencillez y rapidez que nos permite obtener resultados óptimos con un buen contraste entre los Mycobacterium tuberculosis.

1.2. Delimitación de la investigación.

1.2.1. Delimitación del espacial.

- En la Clínica San Agustín de la ciudad de Juliaca ubicado en Jr. 9 de diciembre N° 375, provincia de San Román y departamento de Puno.
- Área: Laboratorio Clínico y Anatomía patológica

1.2.2. Delimitación temporal.

- La investigación se realizó en el periodo de febrero a Julio del 2016.

1.3. Problema de investigación.

1.3.1. Problema general.

¿Cuál será el resultado de la evaluación de la técnica Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016?

1.3.2. Problemas específicos.

- ¿Cuál será el resultado de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda para la identificación de Mycobacterium tuberculosis?
- ¿Cuál será el resultado de la técnica de Ziehl Neelsen convencional para la identificación de Mycobacterium tuberculosis?
- ¿Cuál será el resultado de la comparación de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda con la convencional para la identificación de Mycobacterium tuberculosis?

1.4. Objetivos de la investigación.

1.4.1. Objetivo general.

Evaluar la eficacia de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

1.4.2. Objetivos específicos.

- Determinar el resultado de la técnica Ziehl Neelsen convencional para la identificación de Mycobacterium tuberculosis.
- Determinar el resultado de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda para la identificación de Mycobacterium tuberculosis.
- Comparar los resultados de la técnica Ziehl Neelsen convencional con la modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles.

1.5. Hipótesis y variables de la investigación.

1.5.1. Hipótesis general.

La eficacia de la técnica Ziehl Neelsen convencional es distinta que la modificada para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

1.5.2. Hipótesis específicos.

- La técnica Ziehl Neelsen convencional tiene un mayor porcentaje de negativos en la identificación de *Mycobacterium tuberculosis*.
- La técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda tiene un porcentaje equilibrado en la identificación de *Mycobacterium tuberculosis*.
- Al comparar los resultados por niveles de presencia de *Mycobacterium tuberculosis* de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada existe una diferencia significativa.

1.5.3. Variables.

Es la descripción de las características o atributos que permiten tipificar diferentes valores como por ejemplo, indicadores, característicos, técnicos, etc.

- **Variables independientes:** *Mycobacterium tuberculosis*
- **Variables dependientes:** Técnica de Ziehl Neelsen.

1.5.3.1. Tabla 1. Operacionalización de variables.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA	CATEGORIA
Variable independiente IDENTIFICACIÓN DE Mycobacterium tuberculosis	Las Mycobacterium tuberculosis Son bacterias que por presentar una pared rica en ácidos micólicos son capaces de resistir la decoloración con alcohol ácido.	POSITIVO	presencia e identificación positiva de Mycobacterium tuberculosis	Nominal	Positivo (+) 10 y 99 BAAR en 100 campos observados
					Positivo (++) 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos
		NEGATIVO	Ausencia de Mycobacterium tuberculosis		Positivo (+++) > 10 BAAR por campo en 20 campos
					No se encuentran BAAR en los 100 campos
Variable dependiente TÉCNICA DE ZIEHL NEELSEN.	Es la técnica más apropiada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis	CONVEN CIONAL	Aplicación de la técnica Ziehl Neelsen convencional	Nominal	SI / NO
		MODIFICADA (HORNO MICROONDA)	Aplicación de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda		SI / NO

1.6. Metodología de la investigación.

1.6.1. Tipo y nivel de investigación.

1.6.1.1. Tipo de investigación.

Cuantitativa, por tratarse de datos numéricos se usaron pruebas estadísticas para probar la hipótesis nula y del investigador.

1.6.1.2. Nivel de investigación.

Es aplicativo, por querer probar un método para la identificación de Mycobacterium tuberculosis.

1.6.2. Método y diseño de la investigación.

1.6.2.1. Método de la investigación.

Inductivo, esta metodología se asocia originariamente a los trabajos de Francis Bacon a comienzos del siglo XVII. En términos muy generales, consiste en establecer enunciados universales ciertos a partir de la experiencia, esto es ascender lógicamente a través del conocimiento científico, desde la observación de los fenómenos o hechos de la realidad a la ley universal que los contiene. **(11)**. Entonces este método permite la formación de hipótesis, investigación de leyes científicas y las demostraciones.

1.6.2.2. Diseño de la investigación.

Transversal. Porque se realizó la recolección de datos en un solo momento de tiempo para identificar *Mycobacterium tuberculosis*, para así poder brindarle un mejor diagnóstico al paciente.

Prospectiva. Porque se recolectaron datos en un futuro y se recopiló información de otra investigación científica con el objetivo de aplicar una nueva técnica de Ziehl Neelsen modificada para identificar *Mycobacterium tuberculosis* y mejorar la calidad de la técnica la convencional.

Los diseños cuasi-experimentales, son principales instrumentos de trabajo dentro del ámbito aplicado, son esquemas de investigación no aleatorios. Dado la no aleatorización, no es posible establecer de forma exacta la equivalencia inicial de los grupos, como ocurre en los diseños experimentales. Cook y Campbell (1986) consideran los cuasi-experimentos como una alternativa a los experimentos de asignación aleatoria, en aquellas situaciones sociales donde se carece de pleno control experimental. **(12, 13)**. Los diseños cuasi experimentales, son una derivación de los estudios experimentales,

en los cuales la asignación de los pacientes no es aleatoria aunque el factor de exposición es manipulado por el investigador.

1.6.3. Población y muestra de la investigación.

1.6.3.1. Población.

Fue de 500 de pacientes desde el mes de febrero al mes julio, que ingresan al laboratorio clínico de la Clínica San Agustín de Juliaca 2016, Se usaron muestras de pacientes con diagnóstico de tuberculosis.

1.6.3.2. Muestra.

Es tipo no probabilístico, tomándose 15 muestras de pacientes con diagnóstico de tuberculosis positivo y 15 muestras de pacientes con diagnóstico de tuberculosis negativo que hacen la suma de 30 pacientes que ingresaron al laboratorio clínico de la Clínica San Agustín de Juliaca.

1.6.3.2.1. Criterio de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de tuberculosis.
- Muestras en frascos con tapa de cierre hermético.
- Cantidad de muestra (3-5 ml).
- Envase de recolección rotulado. **(14)**.

1.6.3.2.2. Criterio de exclusión:

- Cantidad de muestra (menor a 3 ml).
- Muestras derramadas del frasco o envase.
- Mala muestra (saliva).
- Envase de recolección no rotulado. **(14)**.

1.6.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

1.6.4.1. Técnicas.

1.6.4.1.1. Preparación del extendido.

Las etapas de la preparación del extendido son las siguientes:

1. El personal se organizó en el área de baciloscpía. Primero sobre la mesa de trabajo puso una hoja doble de papel periódico o una bandeja acero inoxidable que humedeció con fenol al 5%. Luego puso las muestras de esputo previamente rotulados sobre la mesa de trabajo de la misma forma las láminas portaobjetos sobre el soporte de madera en orden correlativo.
2. Luego el personal codificó los envases y las láminas portaobjetos empleando un lápiz graso, en forma correlativa. Y así mismo trazo una línea en cada lámina portaobjeto en la parte superior, en una tercera parte puso la numeración.
3. En las dos terceras partes hizo el extendido destapando cuidadosamente el envase de la muestra que va ser procesada, manteniendo la boca del envase cerca del mechero encendido. Pero antes dividió un aplicador de madera (baja lengua) en dos o tres partes tomó entre el pulgar y el índice de la mano para luego seleccionar y extraer la partícula útil, que es la porción mucopurulenta de color amarillo verdoso del esputo, enrollándola en el aplicador. Luego puso la partícula útil sobre el portaobjeto haciendo movimientos de vaivén, hasta lograr que el extendido sea homogéneo, que no llegue a los bordes de la lámina. Una vez terminado el extendido, descartó los aplicadores en el receptáculo de incineración, cerró el envase y prosiguió de igual forma para las demás muestras.
4. Finalmente fijó el extendido de cada lámina una vez seca,

mediante dos o tres pasajes rápidos sobre la llama del mechero con el extendido hacia arriba.

1.6.4.1.2. Coloración de la técnica de ziehl neelsen convencional.

A. Coloración.

1. El personal de trabajo filtró la fucsina fenicada necesaria para las tinciones a realizar en la jornada.
2. Luego Colocó sobre el soporte las láminas fijadas en orden numérico con el extendido hacia arriba y manteniendo una separación de al menos 1 cm entre ellas.
3. En seguida cubrió la superficie del extendido con fucsina básica fenicada suavemente.
4. Con la llama de un hisopo embebido en alcohol, calentó suavemente por debajo de los extendidos con movimientos de vaivén hasta que observó los primeros vapores blancos.
5. En cada caso que se derramó el colorante, el personal reponía la fucsina dejando no secar el preparado.
6. Calentó aproximadamnete cinco minutos tres veces hasta su emisión de vapores, que fue suficiente para que la fucsina penetre adecuadamente en el bacilo y se fije a sus lípidos.
7. Con una pinza, levantó cuidadosamente las láminas portaobjetos desde los extremos de cada lámina, para finalizar el procedimiento lavó las láminas con abundante agua a baja presión. Por último inclinó las láminas para eliminar el exceso de agua **(14)**.

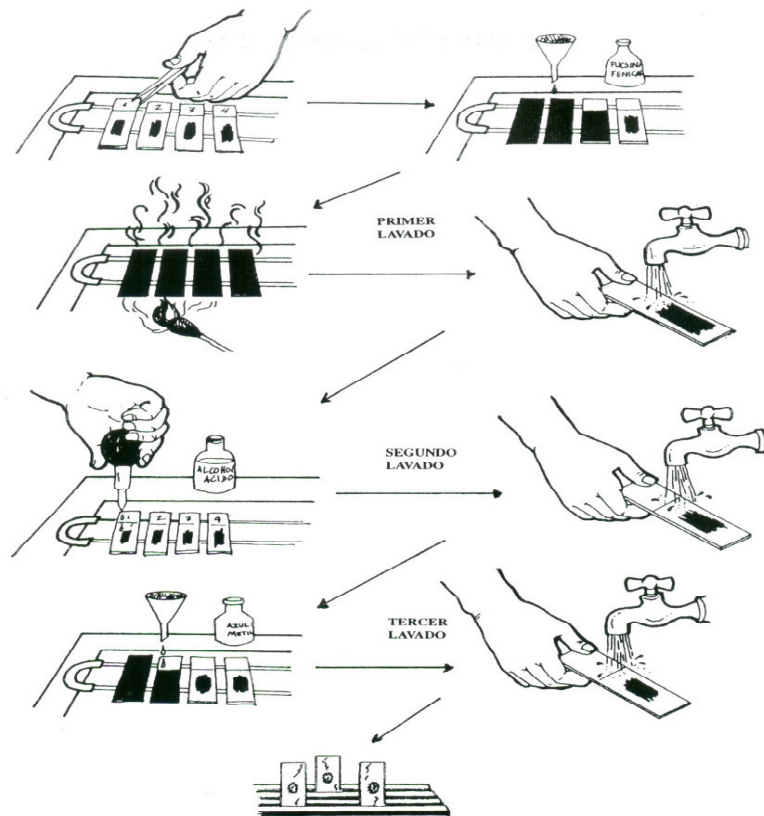
B. Decoloración.

1. Cubrió las láminas con solución decolorante y dejó actuar aproximadamente 30 segundos.
2. Lavó las láminas con abundante agua a baja presión.
3. Luego inclinó las láminas para eliminar el exceso de agua **(14)**.

C. Coloración de fondo.

1. Cubrió las láminas con una solución de azul de metileno durante un minuto.
2. lavó las láminas ambas caras con agua a baja presión y limpió la parte inferior con un algodón.
3. Dejó secar las láminas a temperatura ambiente, apoyándolas en posición vertical en un soporte sobre un papel absorbente **(14)**.

Fig. 1. Pasos de la técnica de Ziehl Neelsen convencional.



Obtenido de Brizuela JGM, Marin JHN, Amaya JRR, Umbina HA, Ramos JG. Guía Técnica para el Diagnóstico de Tuberculosis por Microscopia Directa. 2005. (15).

1.6.4.1.3. Coloración de la técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda.

Antes de que el personal utilice, todos los colorantes y soluciones a emplearse filtró para evitar la formación de presipitados.

A. Primer paso. Coloración.

1. Introdujo las láminas ya extendidas con las muestras en un vaso de coplin con 80 ml de fucsina fenicada, de forma que todas las láminas quedaron inmersa en el colorante.
2. Luego calentó el horno microonda a máxima potencia
3. Donde se colocó el vaso de coplin con láminas ya extendidas durante 40 segundos.
4. Después de los 40 segundos retirará el vaso de coplin del horno microonda y se mantuvieron las láminas en el colorante durante 5 minutos a temperatura ambiente.
5. Después de los 5 minutos retiró las láminas de la fucsina para su posterior lavado con agua corriente a baja presión.

B. Segundo paso. Decoloración.

1. Introdujo las láminas ya lavadas en un vaso de coplin con una solución de alcohol ácido durante 10 a 30 segundos, hasta obtener una coloración rosa pálido.
2. Después de los 10 a 30 segundos lavó láminas nuevamente con agua a baja presión, cuidadosamente de no desprender la película que formó el extendido.

C. Tercer paso. Coloración de fondo.

1. Cubrió las láminas con el colorante azul de metileno, previamente filtrado en un vaso de coplin , durante 1 minuto.
2. Después de 1 min eliminó el azul de metileno para su posterior lavado con agua a baja presión.
3. Luego las láminas coloreadas se ordearon numéricamente sobre un soporte de madera y dejando secar al medio ambiente.
4. Por último verificará el número de la lámina antes de su lectura al microscopio.

1.6.4.1.4. Observación microscópica de la muestra coloreada.

La observación microscópica, tiene dos objetivos importantes:

1. Determinar si en el extendido hay Mycobacterium tuberculosis o también conocido como bacilos ácido alcohol Resistente (BAAR).
2. Establecer su número aproximado.

A. Condiciones para la observación de la muestra:

1. Para la observación de BAAR empleó un microscopio en buenas condiciones con el objetivo de inmersión 100x y un ocular de 10x. Antes de usar el objetivo de 100x, colocó una gota de aceite de inmersión sobre el extendido

B. Método de lectura.

- 1 Los bacilos ácido alcohol resiste (BAAR) se observaron como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, teñidos de rojo, aislados, en parejas o en grupos sobre un fondo azul claro.
- 2 siguió una pauta de observación avanzando de izquierda a derecha del extendido y observó un mínimo de 100 campos útiles.
- 3 En la lectura de las láminas, tomó una nota del número de bacilos observados y el número de campos microscópicos que vario según la cantidad de bacilos que contenía cada lámina.
- 4 Al terminar de la lectura retiró la lámina de la platina del microscopio, posteriormente limpió el exceso de aceite del objetivo de inmersión del microscopio con papel lente humedecido con tolueno.

1.6.4.1.5. Informe de resultados.

Se recomienda la siguiente escala semicuantitativa:

- (-) No se encuentran BAAR, en 100 campos microscópicos observados.
- (+) Menos de un BAAR por campo en 100 campos observados (de 10-99 BAAR).
- (++) 1 a 10 BAAR por campo, en 50 campos observados.
- (+++) Más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.(14).

1.6.4.1.6. Eliminación de los materiales contaminados.

Los materiales contaminados (envases de esputo, aplicadores, papeles del área de trabajo) se puso en recipientes metálicos para su incineración o esterilización en autoclave. Al final se hizo una limpieza de toda la superficie de la mesa con una solución desinfectante, dejándola secar con las ventanas abiertas.

1.6.4.2. Descripción de los equipos

A. Microscopio binocular.

- Marca: BOECO.
- Serie: 000144
- Características:
- Contiene 2 lentes oculares 4 objetivos de ea40.10 160/, ea10 0,25 160/, ea40 0,65 160/0.17, ea10 1,25 oíl 160

B. Horno microonda LG.

- Potencia de entrada 220V – 60 Hz.

- Potencia de salida 700W (standard) IEC 60705
- Frecuencia de microondas 2450 MHz.
- Dimensiones externas 458mm X 260mm X 330mm.
- Dimensiones internas 310mm X 197mm X 316mm.
- Potencia de consumo 1000w (microondas).
- Dimensiones de la cavidad 0,7cu.ft (20L).

1.6.5. Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.

1.6.5.1. Justificación.

La tuberculosis es una enfermedad de distribución mundial más mortal Producida por Mycobacterium tuberculosis, también conocido como “bacilo de Koch”. **(16)**. Esta enfermedad suele afectar especialmente a los pulmones donde se llama tuberculosis pulmonar.

El siguiente trabajo de investigación hace referencia al problema de la técnica de Ziehl Neelsen convencional con respecto al flameado en el primer paso de esta técnica.

El flameado de las láminas aumenta el riesgo de alterar la estructura de la bacteria. Sin embargo, el empleo de la fucsina fenicada caliente en horno microonda da mejor resultado, ya que al calentar aumenta la energía cinética de las moléculas del colorante lo cual facilita su entrada a las bacterias, ya que las paredes celulares de ciertas bacterias contienen ácidos grasos que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido **(4)**. Esta investigación que se realiza es para mejorar la calidad de la técnica Ziehl Neelsen convencional con una nueva técnica modificada, que nos permitirá obtener resultados óptimos facilitando mejor su visualización e identificación de la bacteria.

1.6.5.2. Importancia.

La técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda, es una técnica rápida y sencilla de procesar, a la vez nos permitirá minimizar los riesgos del personal que trabaja, ahorrar reactivo y un acortamiento de tiempo en el procedimiento. Por lo tanto habrá menos falsos positivo y negativos.

1.6.5.3. Limitaciones.

Las limitaciones que se encontraron durante la investigación fue no contar con suficiente cantidad de pacientes, es por eso que se trabajó con la totalidad de pacientes con diagnóstico positivo de tuberculosis desde el mes de febrero hasta el mes de julio.

Otras limitaciones del presente trabajo de investigación fueron como la compra de la microonda y reactivos para la coloración. Sin embargo se pudo realizar gracias al apoyo del laboratorio “GYG DIADNOSTIC” de la Clínica San Agustín por brindar su apoyo.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES.

León y Reynoso (2006). Investigó la “Importancia De La Tinción De Ziehl Neelsen Para El Diagnóstico De Tuberculosis Pulmonar Por Microscopia Directa (Baciloscopía) En Pacientes Atendidos En El Centro De Salud Joya De Los Sachas Provincia De Orellana En El Período Enero - Mayo 2008 “. Donde indica que es una enfermedad infecto-contagiosa frecuente y a menudo mortal, causada por diversas especies del género Mycobacterium, todas ellas pertenecientes al Complejo Mycobacterium Tuberculosis. La Tuberculosis es posiblemente la enfermedad infecciosa más prevalente en el mundo. La especie más importante y representativa, causante de la tuberculosis es el Mycobacterium tuberculosis o bacilo de Koch. Aunque la tuberculosis es una enfermedad predominantemente de los pulmones, puede también verse afectando el sistema nervioso central, el sistema linfático, circulatorio, genitourinario, gastrointestinal, el hueso, articulaciones y aún la piel. Mediante esta investigación la metodología que se utilizó para llegar a un diagnóstico clínico de la enfermedad fue a la baciloscopía microscópica. Se ha escogido este tema ya que es muy importante debido al alto índice que sufre la población con esta enfermedad ya que no se tiene la suficiente información para poder evitar las posibles

consecuencias graves que puede tener el desarrollo de la misma pudiendo producir posibles epidemias por lo que se debe tener en cuenta las debidas precauciones. De los 182 exámenes realizados durante el periodo establecido 10 pacientes que corresponden al 5.5% presentan resultados positivos, y los 172 exámenes restantes que corresponden al 94.5% presentan resultados negativos. **(17)**.

Factor (2013). Investigó la “Relación Entre El Nivel De Conocimiento Y Actitud Sobre Medidas Preventivas Frente A La Tuberculosis Pulmonar En Escolares Del Nivel Secundario De La Institución Educativa Manuel A. Odria Del Distrito De Ciudad Nueva Tacna 2012 “. Donde indica que la investigación se realizó con el objetivo de determinar la relación que existe entre el nivel de conocimiento y la actitud sobre medidas preventivas frente a la Tuberculosis Pulmonar en escolares del nivel secundario de la Institución Educativa Manuel A. Odria del distrito Ciudad Nueva, mediante un estudio cuantitativo, correlacional de tipo descriptivo transversal , con una muestra probabilística de 228 escolares , obteniendo como resultados que existe relación entre variables , el nivel de conocimiento de los adolescentes es regular con un 52,6% , seguido de 35,1% con un nivel de conocimientos alto frente a un nivel de conocimientos bajo con un 12,3%, las actitudes positivas con un 70,6% frente a un 29,4% de escolares que practican actitudes negativas. **(18)**.

Capacute (2012). Investigó la “Relación Entre El Nivel De Conocimiento De Tuberculosis Pulmonar Y La Actitud Hacia El Tratamiento De Los Pacientes De La Micro red Cono Sur Tacna 2012 “. Donde Indica el presente estudio se realizó en la Micro Red Cono Sur a los pacientes que acuden a la Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis, durante el mes de setiembre del 2012, con el objetivo de determinar la relación entre el nivel de conocimiento de Tuberculosis Pulmonar y la actitud hacia el tratamiento del paciente. Para tal efecto se realizó un estudio de tipo descriptivo, correlacional y de corte transversal; tomando como unidades de estudio a 65 pacientes con Tuberculosis

Pulmonar. Para la selección de datos se utilizó como técnica la encuesta y como instrumentos el cuestionario, la encuesta de Nivel de Conocimiento de Tuberculosis Pulmonar y la Escala de Likert modificada, para la relación entre variables se utilizó la prueba estadística Chi cuadrado con 95% de confiabilidad y significancia de $p < 0.05$. Los resultados obtenidos indicaron que el 56,92% presentó un nivel medio de conocimiento y el 50,77% mostró actitud de indiferencia al tratamiento; concluyéndose que existe relación estadística significativa entre el nivel de conocimiento de Tuberculosis pulmonar y la actitud hacia el tratamiento de los pacientes de la Micro Red Cono Sur. ($p < 0.05$). **(19)**.

Jiménez (2014). Investigó la “Reconocimiento De Mycobacterium Tuberculosis En Muestras De Esputo, En Pacientes Con Signos De Tuberculosis Mediante Frotis De Ziehl Neelsen. 2013”. Donde indica que la tuberculosis es una enfermedad infecciosa y contagiosa causada por el Mycobacterium tuberculosis (bacilo de Koch). Esto significa que las personas que conviven dentro y fuera de su domicilio con un paciente que tiene tuberculosis, especialmente con la forma pulmonar pueden infectarse. El Problema, una persona enferma puede infectar de 10- 15 personas por año y el 10% de las personas infectadas desarrollarán la enfermedad, este riesgo es mayor durante los primeros 5 años posteriores a la infección. Se trata ante todo, de descubrir y curar oportunamente a los enfermos que expectoran una cantidad suficiente de bacilos, ya que son la fuente de transmisión de la infección. Estos se pueden detectar con un examen microscópico (microscopia directa) a través de una muestra de flema o esputo. Para determinar el nivel de contagio en los pacientes sintomáticos respiratorios del hospital del Hospital Neumológico Alfredo J. Valenzuela se trazó el siguiente objetivo Diagnosticar tuberculosis pulmonar mediante baciloscopía de esputo entre los pacientes sintomáticos respiratorios identificados. Cuantificar la carga bacilar. Evaluar las características demográficas a los pacientes con baciloscopía positiva. El método del estudio fue observacional descriptivo El Universo lo conformaron 3947 pacientes sintomáticos respiratorios, la muestra estadística correspondía a

193. Los resultados encontrados son los siguientes. El 15,5 % presentaron baciloscopia positiva, la carga bacilar encontrada fue el 6,2 %, carga bacilar baja, el 3,1 % carga bacilar media y el 5,2 % carga bacilar alta. La edad promedio es de $45,54 \pm 20,4$ años de edad. La prevalencia promedio de contraer la tuberculosis es de 38 años en el sexo femenino y de 50 años en el sexo masculino. Los resultados del estudio serán entregados a las autoridades del Hospital para que realicen prevención a la población vulnerable. **(20)**.

Barba (2015). Investigó la "Prevalencia De Tuberculosis Pleural En Pacientes Diagnosticados Con Tuberculosis, Atendidos En El Hospital Carlos Roberto Huembés. Managua 2012-2014". Donde indica la pleuresía Tuberculosa, es la localización extrapulmonar más frecuente. Afecta la pleura ya sea por una siembra hematogena post primaria, con activación inmediata en niños y adolescentes, generalmente asintomática con desaparición espontánea algunas veces, o afecta a los adultos por una reactivación tardía de focos, con síntomas variables, desde fiebre, dolor, o un cuadro tórpido crónico de astenia, pérdida de peso y, en ocasiones disnea dependiendo del tamaño del derrame. El diagnóstico clínico/radiológico de un derrame pleural es relativamente fácil, con una sensibilidad mayor de 90%, pero asegurar la etiología es lo difícil. La forma tuberculosa se caracteriza por un líquido pleural serofibrinoso, exudado con proteínas en líquido mayor de 3 g por litro, relación de proteína líquido/proteína sangre superior a 0.5, Deshidrogenasa láctica (LDH) aumentada, superior a 250 unidades, y una relación LDH en líquido pleural/LDH en sangre superior a 0.6. Al inicio puede observarse un ligero predominio de polinucleares neutrófilos, pero rápidamente se establece un neto predominio linfocitario que puede alcanzar 100%. Esto puede observarse en pleuresía por otras causas (artritis reumatoide, malignas etcétera). Hace más de quince años se está usando la determinación de una enzima proveniente del catabolismo de las purinas, la Adenosina Deaminasa (ADA), que por su actividad linfocitaria está aumentada en líquidos tuberculosos en cavidades (pleural, pericardio, meninge y

peritoneo), y estudios han demostrado una sensibilidad y especificidad mayor de 90% en países de alta endemia. No existe consenso sobre el nivel de unidades que sea más discriminatorio del ADA, pero la mayoría está de acuerdo que por debajo de 30 U. Se puede descartar la TB pleural, y por encima de 60 U. se confirma la TB en la mayoría de los casos. **(21)**.

Díaz (2010). Investigó la “Diagnóstico Comparativo De Cryptosporidium Spp. Mediante Las Tinciones De Ziehl-Neelsen Y De Aureamina En Heces De Terneros Diarreicos De Rebaños Lecheros De La Región Metropolitana, Chile”. Donde indica que el Cryptosporidium spp. es un protozoo cosmopolita, que posee un amplio rango de hospederos. En los animales afecta principalmente a recién nacidos y se caracteriza clínicamente por distintos grados de diarrea. Es considerado un agente zoonótico y re emergente, ya que en el hombre inmunocomprometido puede producir una enfermedad clínica grave. Se ha informado que los terneros menores de 1 mes de edad son los más comúnmente infectados. El diagnóstico de esta enfermedad es de laboratorio y se realiza a través de distintas técnicas. La de rutina en nuestro país a nivel veterinario es la de Ziehl Neelsen (ZN) y detecta los ooquistes del parásito en las heces de los animales infectados, mediante un examen microscópico de extendidos teñidos con ZN, previa concentración. Otra técnica de tinción para el diagnóstico de este protozoo es la de Aureamina (AU), la cual también permite la visualización de ooquistes de Cryptosporidium spp. En extendidos de heces previamente concentradas, pero a través de microscopía de fluorescencia. Esta última posee ventajas frente a ZN, en cuanto a la rapidez en su realización y lectura. Sin embargo, en nuestro país no existen antecedentes o estudios al respecto. El objetivo de la presente memoria fue comparar la eficiencia diagnóstica de ZN frente a AU en el diagnóstico de Cryptosporidium spp. En heces de terneros diarreicos menores a un mes de edad. Para esto se recolectaron 205 muestras de dos rebaños lecheros de la Región Metropolitana. El nivel de infección detectado fue de 57,1% independiente del predio de origen o de la técnica utilizada. En tanto que 49,8% resultaron positivas a ZN y 56,1% a AU. La mayor intensidad de infección se observó

en los animales de entre 7 y 14 días de edad. Sin embargo, es destacable el hallazgo de 2 animales positivos al día de nacido. También se aplicó una prueba inmunocromatográfica (CR) diagnóstica de uso humano, como confirmatoria. Este trabajo es el primer reporte en Chile del uso la prueba de AU y CR para el diagnóstico de la criptosporidiosis en heces bovinas. Se pudo concluir que AU fue más sensible que ZN ($p < 0,05$), y que el nivel de concordancia fue óptimo entre ambas pruebas. Con CR se logró confirmar mayoritariamente los diagnósticos efectuados mediante ZN y AU. Además, fue posible detectar, una frecuencia de infección en terneros mayor a la descrita para predios lecheros de la Región Metropolitana y del país. Se concluye también, que estaríamos frente a una infección altamente prevalente y re emergente. Por último, este es el primer reporte de detección de este agente en animales de un día de edad. **(22)**.

Castellanos (2005). Investigó la “Evaluación De Dos Técnicas Alternativas (Tinción Auramina O Y PCR Hemianidada Is6110) Para El Diagnóstico De Tuberculosis“. Donde indica la tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas humanas con mayores tasas de mortalidad e incidencia en Guatemala. En los últimos años ha aumentado el número de casos en poblaciones inmunocomprometidas, tal es el caso de los pacientes con VIH/SIDA. A lo largo de la historia, el diagnóstico de tuberculosis ha representado un verdadero desafío para el personal de laboratorio, ya que las técnicas convencionales de diagnóstico no son lo suficientemente rápidas ni sensibles para el adecuado manejo y control de la enfermedad. Por tal motivo, es necesario que en Guatemala se desarrollen y evalúen nuevas metodologías con mayor sensibilidad, especificidad y rapidez que las convencionales. En el presente estudio se evaluó la exactitud (proporcionada por los indicadores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos) y concordancia (valor Kappa) de las técnicas de PCR hemianidada IS6110 y tinción auramina O a un nivel de confianza del 95% con respecto al cultivo de *M. tuberculosis* como método de referencia para el diagnóstico de tuberculosis en pacientes co-infectados con VIH. La tinción de auramina O demostró tener una

sensibilidad superior respecto a la tinción convencional de Ziehl Neelsen (27.3% vs. 15.4%), con especificidades relativamente similares para ambas técnicas (92.5% y 99.0%), con lo que se concluye que la tinción de auramina O es una técnica más sensible que la tinción de Ziehl Neelsen para el diagnóstico directo de tuberculosis en pacientes co-infectados con VIH. En el caso de la técnica de PCR hemianidada IS6110 utilizada (N2-PCR modificado), ésta se estableció como un ensayo rápido altamente sensible (100.0%), representando una valiosa adición al diagnóstico temprano de tuberculosis en pacientes viviendo con VIH/SIDA. La tinción de Ziehl Neelsen presentó el mejor resultado de especificidad respecto al cultivo (99.0%), seguido por la auramina O (92.5%) y la PCR (72.5%). Sin embargo estos valores son discutibles ya que a través de la presente investigación se estableció que el cultivo en el medio de Löwenstein Jensen debe ser reevaluado como método de referencia para la confirmación de falsos positivos por PCR y auramina O. Con relación a los valores predictivos positivo y negativo (calculados con respecto a las muestras y no a los pacientes) el valor predictivo positivo del ZN fue el mayor (66.7%), comparado con el de la AO (30.0%) y el del N2-PCR modificado (17.6%). Por otro lado, el valor predictivo negativo para todas las técnicas fue mayor del 90%. El grado de concordancia entre las técnicas evaluadas y el cultivo fue interpretado como sufrible para ZN y N2-PCR modificado y pobre para AO. Conjuntamente, cuando se analizó el grado de concordancia global entre estas tres últimas técnicas, la combinación con el mejor resultado fue AO y PCR (0.40), seguida por AO y ZN (0.26) y terminando con ZN y PCR (0.14). Sin embargo, el grado de concordancia entre todas las técnicas evaluadas fue bastante inadecuado y estudios posteriores deben ser realizados para la optimización de estos ensayos. En conclusión, las técnicas evaluadas (N2-PCR modificado y tinción auramina O) se establecieron como herramientas diagnósticas rápidas más sensibles que la tinción convencional (Ziehl Neelsen) y su uso puede disminuir significativamente el tiempo de diagnóstico de la TB, con lo que se contribuirá al adecuado control y manejo de esta enfermedad en Guatemala. **(23)**.

Pérez y Miranda (2011). Investigó la “Relación Entre Nivel De Conocimiento Sobre Tuberculosis Pulmonar Y Actitud Hacia El Tratamiento - Usuario Estrategia Sanitaria Control Tuberculosis - Hospital li-1 Moyobamba. Julio - Diciembre 2011”. Donde indica el presente estudio se realizó para determinar la Relación entre Nivel de Conocimiento sobre Tuberculosis Pulmonar y la Actitud hacia el Tratamiento del Usuario de la Estrategia Sanitaria Control Tuberculosis - Hospital II-1 Moyobamba. Julio - Diciembre 2011” El diseño del estudio es descriptivo correlacional de corte transversal, prospectivo. La muestra, no probabilística por conveniencia fue de 60 usuarios de la ESCTBC quienes cumplieron con los criterios de inclusión. Se empleó el método cuantitativo utilizando un cuestionario de veinte preguntas con 5 alternativas de respuesta que midieron el conocimiento en las dimensiones de medidas de prevención, diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis; y un test cuestionario de veinte preguntas con escala tipo Lickert, en las dimensiones de la actitud: hacia el tratamiento farmacológico, cuidados en el hogar y medidas preventivas con 3 alternativas de respuesta, para medir la actitud del usuario de la ESCTBC hacia el tratamiento. El procesamiento de los datos para el análisis estadístico descriptivo se efectuó en el programa Excel 2010, y el análisis para la comprobación de hipótesis con la prueba de correlación de PEARSON con el paquete estadístico SPSS 17.0 Los resultados demuestran que la mayoría de los pacientes con tuberculosis pulmonar presentan un nivel de conocimientos alto (76.3%) y medio (23.3%) sobre el tratamiento farmacológico, cuidados en el hogar y medidas preventivas, y una actitud de aprobación (88.3%) y una actitud indiferencia (11.7%) no encontrándose actitud de rechazo en ninguno de ellos. La prueba de correlación de Pearson demuestran una relación directamente significativa ($p=0.684$) que acepta nuestra hipótesis de estudio. Conclusiones: El nivel de conocimientos sobre medidas de prevención, diagnóstico y tratamiento de la TBC (alto y medio) tiene una relación significativa ($p < 0.05$) con la actitud (de aceptación e indiferencia) hacia el tratamiento por el usuario de la Estrategia Sanitaria de TBC, por lo que se recomienda mantener y

mejorar los módulos educativos para el usuario que ingresa a la ESCTBC, a fin de mejorar la actitud hacia ella. (24).

Carrión y Moreno (2008). Investigó la “Diagnóstico Baciloscópico De Tuberculosis Pulmonar En Muestras De Esputo Realizadas En El Área De Salud N° 2 De Loja, Durante El Año 2007 Y Primer Trimestre Del Año 2008“. Donde indica la tuberculosis (TB), causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (MTb) es una “vieja” enfermedad en términos de su documentación histórica (Enarson, et al., 1999); y es una de las principales causas de enfermedad y muerte a nivel mundial, además continua siendo un problema de salud pública debido a que se estima que un tercio de la población mundial está infectada por M. Tuberculosis.(Sdre, et al., 1991) A pesar de ser una enfermedad bien conocida y curable, aún no ha logrado ser erradicada, dado que está asociada a factores de riesgos vigentes como son la pobreza, el subdesarrollo y la pandemia VIH- SIDA. (Bozzo, et al., 2007). Así mismo su control se ha hecho más difícil debido a la resistencia a los medicamentos utilizados en el tratamiento de la tuberculosis ya que se requiere varios antibióticos durante por lo menos seis meses, lo cual causa un elevado grado de incumplimiento. Esta situación favorece la aparición de cepas clínicas resistentes a una o más drogas. (Espinal, et al., 2000) La detección de bacilos alcohol-ácido resistentes en un frotis teñido constituye la primera evidencia bacteriológica de la presencia de micobacterias en caso de sospecha de tuberculosis. Sin embargo, este hecho no debe ser considerado como sinónimo de tuberculosis ya que puede indicar, además de la presencia de *Mycobacterium tuberculosis*, la de micobacterias no tuberculosas e incluso la de otros gérmenes con propiedades tintoriales de ácido-resistencia, como la *Nocardia* spp. (Laniado-Laborín, et al.,2005) Los especímenes de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis pulmonar, fueron estudiados entre el año 2007 a marzo 2008, en personas mayores de 15 años de ambos sexos, en el Área de Salud N° 2 de Loja "Hugo Guillermo González". Los pacientes estudiados fueron 211 Sintomáticos Respiratorios

a los cuales se les realizó 633 baciloscopías de diagnóstico en muestras de esputo. **(25)**.

Pandía (2006). Investigó la “Evaluación De Una Técnica Para El Diagnóstico Presuntivo De Mycobacterium Tuberculosis“. Donde indica la tuberculosis en cualquiera de sus manifestaciones, en la actualidad, es sin duda uno de los problemas de salud pública más importantes y la búsqueda de un método de diagnóstico rápido ha sido y es, uno de los principales objetivos en muchas partes del mundo, sobre todo en países como el nuestro que presenta altas tasas de incidencia y cuya población más afectada no cuenta con los medios económicos para acceder a cualquiera de los métodos de diagnóstico rápido existentes. La finalidad del presente estudio fue evaluar el medio de cultivo Löwenstein - Jensen modificado con nitrato de potasio (KNO_3) para el diagnóstico de Mycobacterium tuberculosis, comparando la sensibilidad y especificidad de este medio modificado con el medio Löwenstein - Jensen convencional y evaluando los factores importantes que influyen en el proceso como por ejemplo el tiempo. En el presente estudio, se evaluó un total de 120 muestras provenientes de pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar por baciloscopía, las muestras (esputo, lavado bronquial, aspirado bronquial, aspirado gástrico) se trataron por el método Petroff modificado para su descontaminación y homogenización y se sembraron en los medios Löwenstein - Jensen convencional y modificado con nitrato de potasio al 35%. Luego estos cultivos fueron incubados a 37°C durante 7, 10, 14 días, después de los cuales se determinó la reducción de nitratos a nitritos. El nitrito producido por Mycobacterium tuberculosis permitió identificar la presencia de la bacteria empleando el reactivo de Peter Griess, detectado por medio de un viraje de color del medio de cultivo. En el medio Löwenstein - Jensen modificado, se determinó que la sensibilidad era del 41% y la especificidad del 100%, con un valor predictivo positivo de 100%, y valor predictivo negativo de 34%. Al comparar estadísticamente la sensibilidad y especificidad de la prueba en el medio modificado y el cultivo convencional o Estándar de oro, se observó que los factores

predominantes en el proceso de evaluación son: tipo (esputo, lavado bronquial, aspirado bronquial, aspirado gástrico) y calidad de la muestra (Carga Bacilar), obtenidas adecuadamente. Los resultados fueron obtenidos en su mayoría a los 10 días, con un promedio ponderado de 12 días para el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis*. El estudio realizado justifica el empleo del medio Löwenstein – Jensen modificado conteniendo nitrato de potasio (KNO₃), presentándose como una alternativa para el diagnóstico presuntivo de *Mycobacterium tuberculosis*. **(26).**

Quispe (2009). Investigó la “Perfil Molecular De *Mycobacterium Tuberculosis* En Muestras Biológicas Del Tracto Respiratorio Inferior De Pacientes Limeños Con Sospecha De Tuberculosis”. Donde indica la tuberculosis es una enfermedad infecciosa que constituye un grave problema de salud pública a nivel mundial principalmente en países en vías de desarrollo, como el Perú. Las limitaciones de los métodos clásicos de diagnóstico (baciloscopía y cultivo) así como la alta frecuencia de ésta enfermedad han creado la necesidad de implementar nuevas estrategias para incrementar la sensibilidad de las pruebas y a su vez reducir el tiempo necesario para establecer el diagnóstico confirmatorio. Considerando que los estudios correspondientes a la región del Tracto Respiratorio Inferior (TRI) son escasos, el objetivo de esta tesis fue determinar el perfil molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras biológicas del TRI de pacientes limeños con sospecha de tuberculosis. En el presente trabajo se evaluaron 43 muestras de pacientes limeños con sospecha clínica de tuberculosis las cuales fueron obtenidas a través de lavado bronquial, aspirado bronquial, secreción bronquial, lavado bronco-alveolar, aspirado bronco-alveolar y broncofibroscopía. De estas muestras se extrajo DNA y se realizó la prueba del PCR - Nested, para ello se empleó como secuencia diana el gen de la proteína A (65KDa) de *Mycobacterium tuberculosis*, los productos amplificados fueron evidenciados mediante electroforesis en gel de agarosa y tinción con bromuro de etidio. Los resultados obtenidos muestran que el 77% de las muestras procesadas poseen DNA de

Mycobacterium tuberculosis, demostrándose la alta sensibilidad y especificidad del método empleado, el 82% de estas muestras correspondieron a la región del árbol bronquial superior, debido a que esta región es el punto de partida para la diseminación de esta Micobacteria hacia otras regiones del tracto respiratorio y además, a que la mayoría de muestras fueron tomadas directamente de esta región. Asimismo, la aplicación de la prueba PCR- Nested incrementó la sensibilidad de detección 5.5 veces con respecto a un único evento de amplificación, lo cual demuestra la utilidad de esta prueba en el análisis de material biológico con baja carga micobacteriana como las empleadas en este trabajo. Finalmente, se concluye que la prueba PCR- Nested es un método altamente sensible y específico para detectar DNA de *Mycobacterium tuberculosis* a partir de muestras procedentes del TRI. **(27)**.

2.2. BASES TEÓRICAS:

2.2.1. LA TUBERCULOSIS.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa que se trasmite de persona a persona a través del aire. Cuando un enfermo de tuberculosis pulmonar tose, estornuda o escupe expulsa bacilos tuberculosos al aire. Basta con que una persona inhale unos pocos bacilos para quedar infectada. **(2)**.

Se calcula que una tercera parte de la población mundial tiene tuberculosis latente; es decir, esas personas están infectadas por el bacilo pero aún no han enfermado ni pueden transmitir la infección.

Esta enfermedad es causada por una bacteria llamada *Mycobacterium tuberculosis*, conocida como bacilo de Koch, cuando afecta los pulmones se llama tuberculosis pulmonar y cuando afecta otras partes del cuerpo se llama tuberculosis extra pulmonar. Es una de las enfermedades más

antiguas, pero todavía seguimos luchando contra ella, afecta la gran mayoría de países menos desarrollados. **(1, 7)**.

AGENTE ETIOLÓGICO: Mycobacterium tuberculosis

2.2.1.1. Características morfológicas

Es una bacteria incurvado y de extremos redondeados, es inmóvil y no forma esporas, tiene un promedio de 4 micras de longitud y menos de 1 micra de diámetro que se tiñe por la fucsina básica de Ziehl Neelsen ya que presenta una cubierta lipídica que permite que retenga este colorante y no se decolore con el lavado de alcohol ácido **(28)**. Este bacilo crece mejor en contacto con el aire, es muy resistente al frío, la congelación, la desecación y por el contrario sensible al calor, luz solar y luz ultravioleta, pero que protegido de éstos, puede permanecer viable en el esputo durante semanas o meses.

2.2.1.2. Reservorio.

Principalmente los seres humanos, en raras ocasiones los primates. En algunas zonas, el ganado vacuno y otros mamíferos están infectados. **(14)**.

En sujetos infectados el bacilo puede mantenerse en estado de latencia o por tiempo indefinido y los sujetos infectados no enfermos, no transmiten la infección tuberculosa.

2.2.1.3. Modo de transmisión.

La fuente principal de la infección es cuando una persona con tuberculosis pulmonar realiza un esfuerzo respiratorio ya sea al toser,

estornudar, estos bacilos serán expulsados al aire en pequeñas gotas microscópicas, que van directamente de la persona enferma a ser inhaladas por el receptor. Al desecarse se convierten en partículas más pequeñas, que pueden permanecer mucho tiempo en suspensión y ser transportadas por el aire. **(28)**. Es por eso que la habitación de un enfermo puede ser infectante en ausencia temporal del mismo, si no se la ventila y no entra el sol.

2.2.1.4. Período de transmisibilidad.

Algunos enfermos no tratados o tratados de manera inadecuada pueden ser bacilíferos intermitentemente durante años. El grado de transmisibilidad depende del número de bacilos arrojados y su virulencia, de la calidad de ventilación, de la exposición de los bacilos al sol o a la luz ultravioleta y de las oportunidades de que se dispersen en forma de aerosol al toser, estornudar, hablar o cantar o durante procedimientos tales como intubaciones, broncoscopía o autopsias. **(29)**. En condiciones naturales y en ausencia de tratamiento, la transmisión de la enfermedad puede persistir hasta que el sujeto muere aproximadamente, en dos años.

2.2.2. EPIDEMIOLOGÍA.

Más de 120 años después del descubrimiento de bacilo de Koch la enfermedad sigue siendo un problema grande a nivel mundial. **(1)**. En 2014, 9 600 000 de personas enfermaron de tuberculosis y 1 500 000 murieron por esta enfermedad; más del 95% de las muertes por tuberculosis ocurrieron en países de ingresos bajos y medianos y esta enfermedad es una de las cinco causas principales de muerte en las mujeres entre los 15 y los 44 años. **(5)**.

2.2.3. FACTORES DE RIESGO PARA DESARROLLAR LA ENFERMEDAD ACTIVA

- Contactos estrechos con enfermos de tuberculosis.
- Emigrantes de zonas de alta prevalencia (Asia, África, Latinoamérica, Europa del Este).
- Personas con infección por VIH.
- Desnutrición y hacinamiento.
- Adultos mayores.
- Residentes en instituciones cerradas, especialmente población reclusa. Entre estas personas es cuatro veces más prevalente que entre los grupos de la misma edad no reclusa.
- Personas con exposición ocupacional sanitarios. **(30, 31)**.

2.2.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Las manifestaciones respiratorias más constantes es la tos seca o con expectoración. **(32)**. Cuando persisten por más de 15 días puede ser tuberculosis.

Otras manifestaciones respiratorias:

- Dolor torácico tipo “puntada de lado”
- Dificultad respiratoria (disnea) de grado variable
- Hemoptisis: expulsión de sangre por la boca proveniente de las vías respiratorias.
- Fiebre frecuente.
- Sudoración nocturna.
- Adelgazamiento es casi constante.
- Anorexia **(31, 32)**.

2.2.5. DIAGNÓSTICO.

2.2.5.1. La baciloscopía de esputo.

El diagnóstico de tuberculosis pulmonar depende de la demostración del bacilo de Koch en el cultivo. Sin embargo, en la práctica clínica la presencia de bacilos alcohol-ácido resistente (BAAR) en el examen microscópico directo mediante la baciloscopía, se confirma el diagnóstico con una especificidad al 100%. La baciloscopía es la técnica fundamental en toda investigación bacteriológica de la tuberculosis, en la detección de casos y control de tratamiento con un costo bajo y de rápida ejecución **(7, 28)**. Por lo tanto la baciloscopía directa de muestras pulmonares es realizada mediante la técnica de Ziehl Neelsen, utilizada en el presente estudio, esta técnica es efectiva para diagnosticar los casos de TB, evaluar la respuesta al tratamiento y para monitorear la tasa de curación, bloqueando de esta manera la cadena de transmisión en forma rápida y oportuna.

2.2.5.2. Coloración de Ziehl Neelsen.

La coloración de Ziehl-Neelsen, es la técnica más apropiada para ser utilizada en todos los laboratorios de los países de América Latina. Es la técnica recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER) por ser la que asegura resultados eficaces. La técnica se basa en la capacidad que poseen casi exclusivamente las micobacterias de incorporar la fucsina fenicada y retenerla frente a la acción de decolorantes como la mezcla de ácido y alcohol (ácido-alcohol). Esta característica se debe al alto contenido de ácidos micólicos que poseen en la pared bacteriana **(7, 28, 33)**. utilizando una técnica adecuada es posible identificar al bacilo de la tuberculosis como un bastoncito rojo sobre

una coloración de fondo azul que facilita su visualización tomando así el nombre de Bacilo Alcohol Acido Resistente.

2.2.5.3. Cultivo.

El cultivo es una técnica que tiene mayor sensibilidad, ya que basta que existan más de 10 bacilos/ml en muestras concentradas para que sea positivo, debido a esto los cultivos son el método de elección para el diagnóstico de la tuberculosis en los países desarrollados; aún en los países en desarrollo, su implementación puede aumentar el rendimiento del diagnóstico bacteriológico hasta en un 20% o más. **(1, 34).**

En los medios de cultivo sólidos, como el de Lowenstein-Jensen, las colonias aparecen rugosas, no pigmentadas, formando cordones. Los cultivos tienen el inconveniente de su mayor costo y de la demora habitual de entre 3 y 8 semanas en su informe. **(1, 34).**

2.2.5.4. Radiología.

La Radiografía de tórax es el método más sensible para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar. Son raros los casos en los cuales una lesión bronquial aislada o un infiltrado invisible a los rayos x, puedan dar una bacteriología positiva sin que se evidencien sombras radiológicas. **(1, 34).** En este caso la radiología es un método considerablemente más caro y menos específico que la bacteriología.

2.2.5.5. Prueba de tuberculina

Esta prueba pone de manifiesto el estado de hipersensibilidad del organismo frente al derivado proteico del bacilo tuberculoso, la que se adquiere después de una infección (o contacto) por

Mycobacterium tuberculosis. La prueba de tuberculina consiste en una inyección intradérmica (ID) que está constituida de un derivado proteico purificado (PPD) del cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*. Al paciente se le administra una dosis de 0.1 ml de este derivado, en el antebrazo y se le formará una zona de induración, la cual debe leerse a las 72 horas de aplicada. Por razones operativas puede leerse entre las 48 o 96 horas. **(1, 34)**.

2.2.6. HORNO MICROONDA.

“Micro” en griego significa pequeño. Las microondas son ondas electromagnéticas igual que las de radio, pero de longitud de onda mucho más pequeña, estas ondas se encuentran después de la región infrarrojo, con menores frecuencias y mayores longitudes de onda que el infrarrojo. **(35, 36)**. Por ejemplo las longitudes de onda de la radio están entre 3 y 300 metros y las microondas entre 1 milímetro y unos 30 centímetros, el espectro visible y la ultravioleta.

Los hornos microondas domésticos tienen una frecuencia de 2450 MHz en el rango de energía de 500 a 1100 vatios (frecuencia estándar para casi todos los hornos microondas). Estas microondas son producidas por un tubo electrónico llamado magnetrón. Una vez que el horno es encendido, las microondas se dispersan en la cavidad del horno y son reflejadas por un ventilador agitador de la microonda. **(35)**.

2.2.6.1. Explicación física del horno microonda

En el horno microonda, un aparato llamado magnetrón produce microondas de alta intensidad y las envía a la cámara del horno. Allí, el agua líquida de la comida absorbe energía de la microonda: las moléculas de agua, que son polares, son agitadas por el campo eléctrico de la onda, golpeándose entre sí y aumentando su temperatura. Los materiales de moléculas no polares no absorben

tanta energía y por eso no se calientan **(36, 37)**. En conclusión el magnetrón es una pequeña cavidad metálica con un filamento caliente que emite electrones, un alto voltaje que los acelera y un poderoso imán que los hace girar.

2.2.7. HISTORIA DE LA MICROONDA

Se descubrió 1946, mientras se realizaba una investigación acerca del radar, donde el Dr. Percy Spencer, ingeniero de la Raytheon Corporation, noto algo muy peculiar cuando estaba probando un nuevo tubo al vacío llamado magnetrón cuando descubrió que una chocolatina que tenía en su bolsillo se había derretido, intrigado y pensando que quizá la barra de chocolate había sido afectada casualmente por esas ondas, el Dr. Spencer decidió hacer un experimento. Esta vez colocó algunas semillas de maíz para hacer palomitas cerca del tubo y, permaneciendo algo alejado vio con una chispa de inventiva en sus ojos como el maíz se movía, se hinchaba y brincaba esparciéndose por todo el laboratorio. **(37)**. Los primeros hornos microondas que salieron al mercado medían dos metros de alto y pesaban 250 kg. y en sólo diez años la venta de microondas superaba a la de los hornos de gas.

2.2.8. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

Para diagnóstico rápido y el control del tratamiento de la tuberculosis se realiza mediante el examen directo o Baciloscopía **(14)**. Esta técnica es económica y eficiente para detectar mycobacterium tuberculosis, ya que es la herramienta fundamental de un programa de control de la tuberculosis.

2.2.9. LABORATORIO DE BACILOSCOPIA

2.2.9.1. Fase pre analítica.

Características de la muestra: la muestra más adecuada para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar es el esputo obtenido por expectoración espontánea, tras un golpe de tos profunda, estas muestras son generalmente de consistencia espesa y mucoide, de color variable (desde blanquecinas hasta verdosas) e incluso sanguinolentas. **(14, 28)**. si el paciente no lograra expectorar, se puede recurrir a la expectoración inducida que debe ser siempre supervisada por personal médico. Es muy importante obtenerlas bajo condiciones en las que la probabilidad de contagio sea mínima.

La muestra se debe obtener de preferencia por las mañanas en un envase de plástico estéril de cierre hermético con tapa de rosca, lo cual evitará el derramamiento y la producción de aerosoles (de 3 a 5 ml de esputo), puesto que la eliminación de estas bacterias es variable a lo largo del día **(7, 14)**.

2.2.10. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Una vez obtenida la muestra ésta debe procesarse cuanto antes. La muestra de esputo para baciloscopía mantiene positividad por un tiempo prolongado; mientras para el cultivo el material debe procesarse de inmediato, porque habrá mayor probabilidad de aislar los bacilos que pueden existir en la muestra. Si no es posible procesar la muestra el mismo día de su recepción, ésta debe guardarse en refrigeración a 4°C. Si el laboratorio no puede procesar ni conservar la muestra para baciloscopía, se recomienda adicionarle de 5 a 10 gotas de fenol al 5% antes de realizar el extendido **(7, 14)**. De tal manera poder evitar riesgos de infección al transportar o manipular láminas extendidas y fijadas.

2.2.11. TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

En el transporte de las muestras debe tenerse en cuenta los siguientes aspectos:

- Protegerla del calor excesivo.
- Protegerla de la luz solar.
- Acondicionar los envases sellando las tapas con esparadrapo para evitar que se produzcan derrames.

2.2.12. RECEPCIÓN DE LA MUESTRA.

Comprobar que las muestras estén bien rotuladas y correspondan a las solicitudes de examen. Si existe un pequeño derrame del contenido, proceder a limpiar el envase con fenol al 5%. Si el derrame es masivo debe desecharse la muestra por incineración o previa esterilización en autoclave **(7, 14)**. Así poder informar al establecimiento de Salud o al paciente que en la muestra hubo deficiencia en su identificación, calidad, volumen, etc.

2.2.13. AMBIENTE Y MATERIAL DE TRABAJO DE LABORATORIO.

Los servicios de salud debe contar en lo posible con un ambiente de tamaño suficiente para el laboratorio **(7, 14)**. Por lo tanto siempre deben aplicarse las normas de bioseguridad para el manejo de muestras potencialmente infectantes.

A. Distribución adecuada del Laboratorio:

- Recepción de muestras.
- Preparación y fijación de los extendidos.
- Coloración de los extendidos.
- Para microscopía y registro de resultados.

B. Condiciones mínimas del Laboratorio:

- Una mesa de material lavable.

- Un lavadero pequeño.
 - Microscopio binocular con objetivo de inmersión.
 - Caja para láminas portaobjetos.
 - Fenol al 5% y hipoclorito de sodio al 1%.
 - Mechero.
 - Lápiz para marcar vidrio (graso).
 - Papel lente.
 - Soporte de varillas de vidrio.
 - Bandeja de acero inoxidable para recepción de muestras.
 - Un recipiente de latón con tapa para incineración del material contaminado.
 - Aceite de inmersión.
 - Reactivos: fucsina básica, azul de metileno, fenol en cristales, ácido clorhídrico, alcohol de 95° ó comercial yagua destilada.
- Libro de Registro. **(7, 14).**

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS:

TUBERCULOSIS: Enfermedad infecciosa, provocada por un bacilo, que se transmite a través del aire y que se caracteriza por la formación de tubérculos o nódulos en los tejidos infectados; puede afectar a diferentes órganos del cuerpo, en especial a los pulmones, produciendo tos seca, fiebre, expectoraciones sanguinolentas y pérdida de peso.

MICOBACTERIAS: pertenecen al género de la familia de las bacterias Mycobacteriaceae, son un grupo de microorganismos de gran importancia clínica, ya que existen múltiples especies que son agentes causales de diversas infecciones humanas con una importante morbilidad y mortalidad. Algunas enfermedades, como la tuberculosis y la lepra, han ido ligadas a la historia del hombre. A pesar de los esfuerzos realizados para su control, en la actualidad constituyen uno de los problemas sanitarios de mayor gravedad a nivel mundial.

LABORATORIO CLÍNICO: es el lugar donde los técnicos y profesionales en análisis clínicos, analizan muestras biológicas humanas que contribuyen al estudio, prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades.

ANATOMÍA PATOLÓGICA: es la parte de la ciencia que se encarga del estudio de las lesiones celulares, tejidos, órganos.

TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN: Es una técnica de tinción diferencial rápida y económica, usada para la identificación de bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR) .Fue descrita por primera vez por dos médicos alemanes: Franz Ziehl, un bacteriólogo, y Friedrich Neelsen, un patólogo.

BAAR: (Bacilos Alcohol Ácido Resistente), son bacterias que por presentar una pared rica en ácidos micólicos son capaces de resistir la decoloración con alcohol ácido, entre las más conocidas tenemos *Mycobacterium tuberculosis* o bacilo de Koch (tuberculosis) y *Mycobacterium leprae* o bacilo de Hansen (lepra).

DIAGNÓSTICO: Es el proceso de reconocimiento, análisis y evaluación de una cosa o situación para determinar sus tendencias, solucionar un problema o remediar un mal.

***Mycobacterium tuberculosis*:** Pertenece a la familia *Mycobacteriaceae*. Junto con *M. africanum*, *M. bovis* y *M. microti* constituyen el complejo de bacterias causantes de la tuberculosis (TB).

CAPÍTULO III

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN.

3.1. ANÁLISIS DE TABLAS Y GRÁFICOS.

3.1.1. RESULTADOS.

TABLA 2

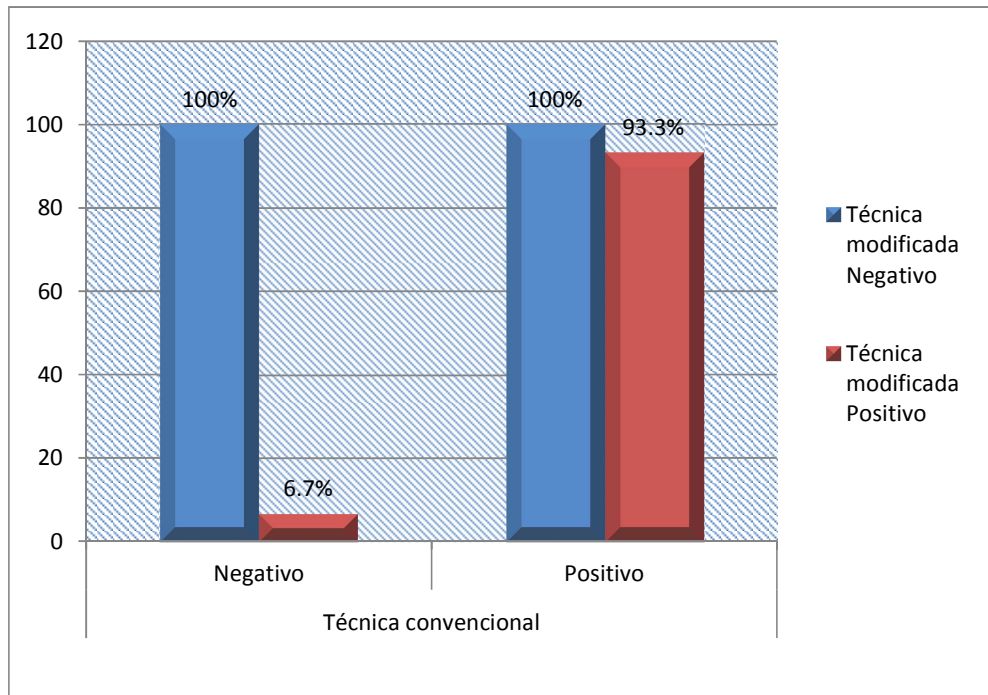
Técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

		Técnica modificada			
		Negativo		Positivo	
		N	%	N	%
Técnica convencional	Negativo	15	100	1	6.7
	Positivo	0	100	14	93.3
Total		15	100	15	100

Fuente: Matriz de datos

GRÁFICO 1

Técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.



Interpretación Y Análisis.

En la tabla N° 2 y gráfico N° 1, el 100% de la población estudiada dieron negativo en la técnica convencional y de la misma forma con la modificada fue igual en todos los casos, en tanto hubo diferencia en la técnica modificada, que dio positivo en una ocasión mientras que la técnica convencional dio negativo. Lo que implica que la técnica convencional y la modificada dan resultados similares.

TABLA 3

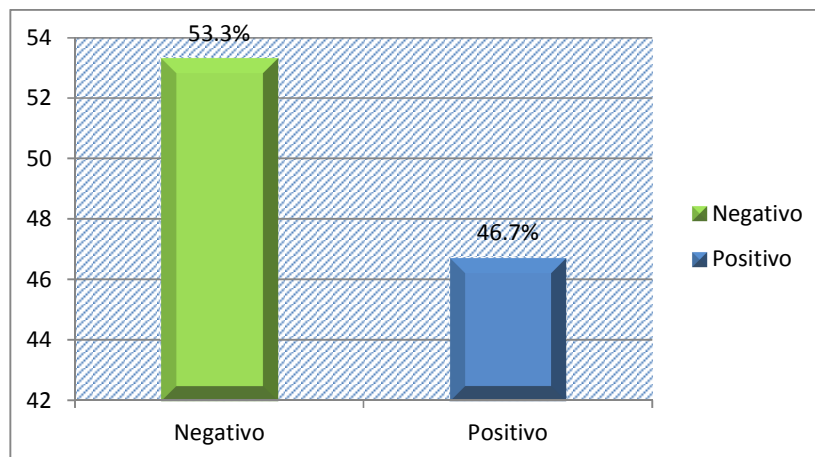
Identificación de Mycobacterium tuberculosis con la técnica Ziehl Neelsen convencional en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

		N	%
Técnica convencional	Negativo	16	53.3
	Positivo	14	46.7
Total		30	100

Fuente: Matriz de datos

GRÁFICO 2

Identificación de Mycobacterium tuberculosis con la técnica Ziehl Neelsen convencional en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.



Interpretación Y Análisis.

En la tabla N° 3 y gráfico N° 2, dentro de la población estudiada en un 100% el 53.3% de personas dieron negativo y 46.7% de personas dieron positivo en la técnica convencional. Lo que implica que la técnica convencional tiene un rango de variación mínima encontrando positivos y negativos.

TABLA 4

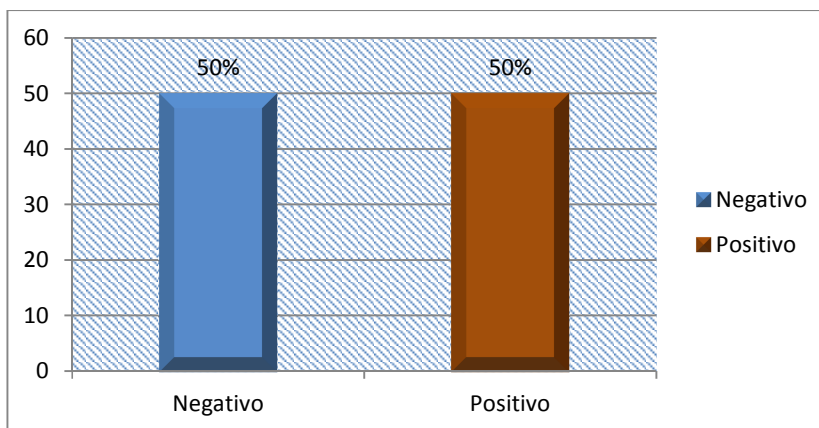
Identificación de *Mycobacterium tuberculosis* con la técnica Ziehl Neelsen modificada en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

		N	%
Técnica modificada	Negativo	15	50.0
	Positivo	15	50.0
Total		30	100

Fuente: Matriz de datos

GRÁFICO 3

Identificación de *Mycobacterium tuberculosis* con la técnica Ziehl Neelsen modificada en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.



Interpretación Y Análisis.

En la tabla N° 4 y gráfico N° 3, dentro de la población estudiada en un 100% el 50% de personas dieron negativo y el 50% de personas dieron positivo en la técnica modificada. Lo que implica que la técnica modificada es mejor que la técnica convencional encontrando mayor cantidad de *Mycobacterium tuberculosis* y disminuyendo la cantidad de negativos.

TABLA 5

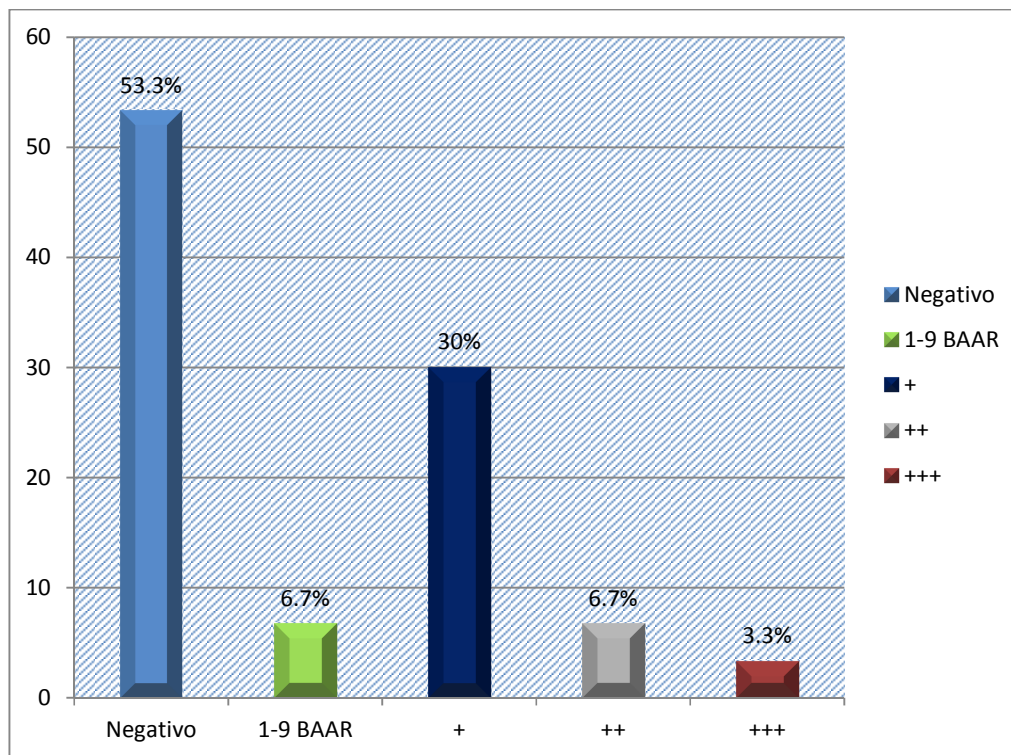
Identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles con la técnica Ziehl Neelsen convencional en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

		N	%
Técnica convencional	Negativo	16	53.3
	1-9 BAAR	2	6.7
	+	9	30.0
	++	2	6.7
	+++	1	3.3
	Total	30	100

Fuente: Matriz de datos

GRÁFICO 4

Identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles con la técnica Ziehl Neelsen convencional en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.



Interpretación Y Análisis.

En la tabla N° 5 y gráfico N° 4, dentro de la población estudiada en un 100% el 53.3% de personas dieron negativo al Mycobacterium tuberculosis por niveles, el 6.7% de personas dieron de (1-9 BAAR) en 100 campos observados, el 30.0% de personas dieron positivo a (+) en 100 campos observados, el 6.7% de personas dieron positivo a (++) en 50 campos observados y finalmente el 3.3% de personas dieron positivo a (+++) en 20 campos observados. Lo que implica que la técnica convencional tiene un rango de variación mínima que la técnica modificada.

TABLA 6

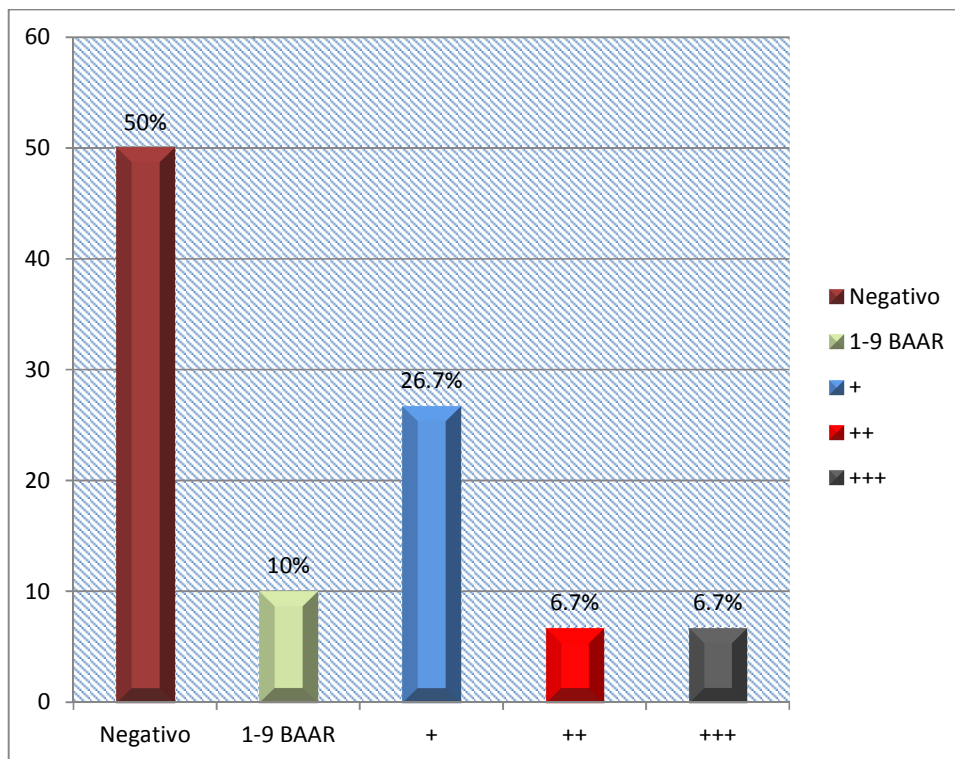
Identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles con la técnica Ziehl Neelsen modificada en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

		N	%
Técnica modificada	Negativo	15	50.0
	1-9 BAAR	3	10.0
	+	8	26.7
	++	2	6.7
	+++	2	6.7
	Total	30	100

Fuente: Matriz de datos

GRÁFICO 5

Identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles con la técnica Ziehl Neelsen modificada en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.



Interpretación Y Análisis.

En la tabla N° 6 y gráfico N° 5, dentro de la población estudiada en un 100% el 50.0% de personas dieron negativo al Mycobacterium tuberculosis por niveles, el 10.0% de personas dieron de (1-9 BAAR) en 100 campos observados, el 26.7% de personas dieron positivo a (+) en 100 campos observados, el 6.7% de personas dieron positivo a (++) en 50 campos observados y finalmente el 6.7% de personas dieron positivo a (+++) en 20 campos observados. Lo que implica que la técnica modificada es más eficiente que la técnica convencional encontrando mayor cantidad de Mycobacterium tuberculosis en un paciente.

TABLA 7

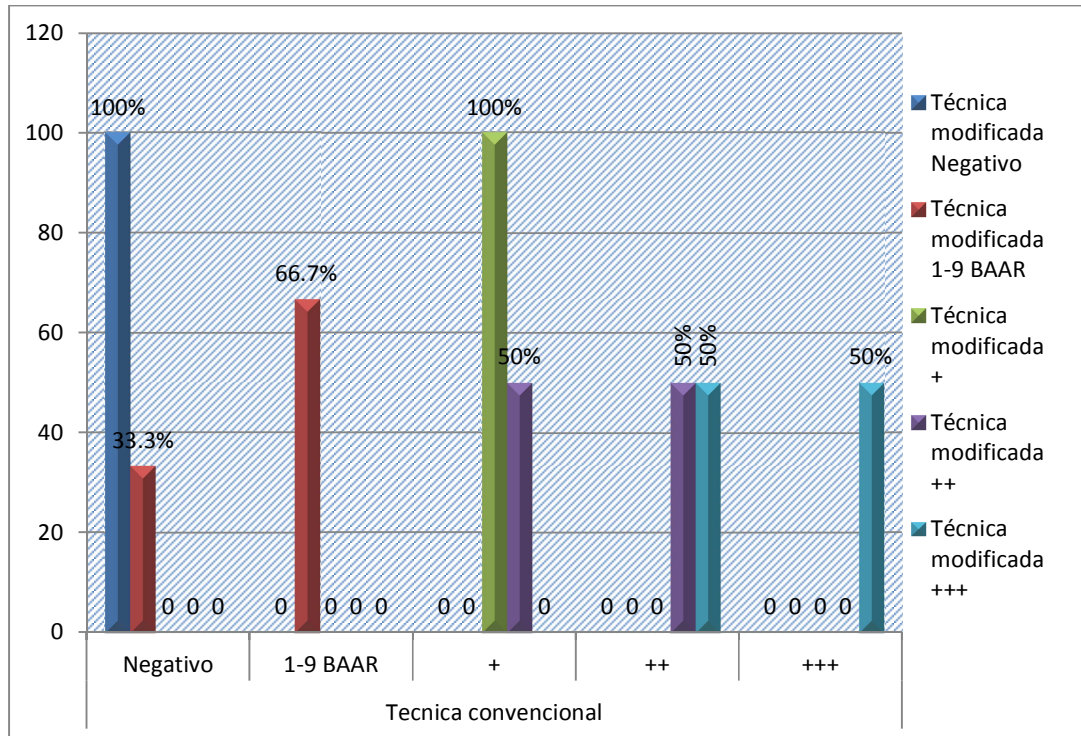
Técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

		Técnica modificada									
		Negativo		1-9 BAAR		+		++		+++	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Técnica convencional	Negativo	15	100.0	1	33.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	1-9 BAAR	0	0.0	2	66.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	+	0	0.0	0	0.0	8	100.0	1	50.0	0	0.0
	++	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	50.0	1	50.0
	+++	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	50.0
	Total	15	100	3	100	8	100	2	100	2	100

Fuente: Matriz de datos

GRÁFICO 6

Técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.



Interpretación Y Análisis.

En la tabla N° 7 y gráfico N° 6, dentro de la población estudiada en un 100% de pacientes, tanto de la convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles. Existe una diferencia de 66.7% en pacientes que dieron resultado negativo para BAAR, (1-9 BAAR) tienen diferencia de 33.3% tanto de la convencional y modificada, en pacientes que dieron positivo a una (+) tiene una diferencia de 50.0% tanto de la convencional y modificada, en pacientes que dieron positivo a una (++) tiene una diferencia de 0.0% tanto de la convencional y modificada y finalmente en pacientes que dieron positivo a una (+++). Lo que implica que la técnica modificada es más eficaz que la técnica convencional.

3.1.2. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1.2.1. PRUEBA DE LA HIPÓTESIS GENERAL MEDIANTE EL USO DE LA PRUEBA DE LOS RANGOS CON SIGNO DE WILCOXON

3.1.2.1.1. Planteamiento de hipótesis estadística:

Hipótesis General

Ho: La eficacia de la técnica Ziehl Neelsen convencional no es distinta que la modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

Hi: La eficacia de la técnica Ziehl Neelsen convencional es distinta que la modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

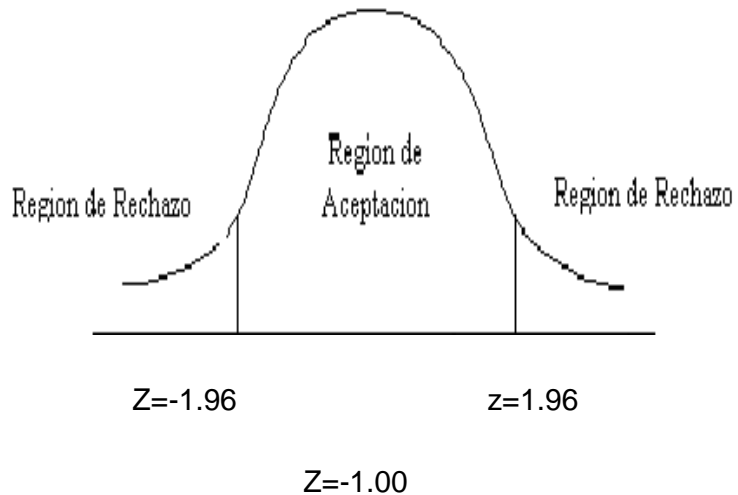
Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

Estadística de prueba

$$W^+ = \sum_{z_i > 0} R_i,$$

Regla de Decisión.



Como la $z = -1.00$, esta cae en la zona de rechazo para la H_0 , por lo que se acepta la H_0 .

Conclusión: Al determinar el p -valor = $0.37 = 37\%$, y un nivel de significancia del 0.05 . La eficacia de la técnica Ziehl Neelsen convencional no es distinta que la modificada para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.

3.1.2.2. PRUEBA DE LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA DOS MEDIANTE EL USO DE LA PRUEBA DE LOS RANGOS CON SIGNO DE WILCOXON

3.1.2.2.1. Planteamiento de hipótesis estadística:

Hipótesis específica tres

H_0 : Al comparar los resultados por niveles de presencia de *Mycobacterium tuberculosis* de las técnicas Ziehl

Neelsen convencional y modificada no existe una diferencia significativa

Hi: Al comparar los resultados por niveles de presencia de Mycobacterium tuberculosis de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada existe una diferencia significativa

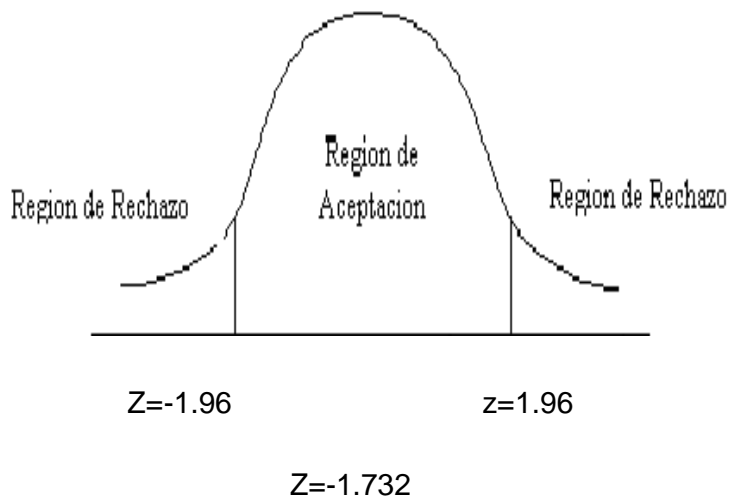
Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

Estadística de prueba

$$W^+ = \sum_{z_i > 0} R_i,$$

Regla de Decisión.



Como la $z = -1.732$, esta cae en la zona de rechazo para la H_0 , por lo que se acepta la H_0 .

Conclusión: Al determinar el p -valor= 0.083=8.3%, y un nivel de significancia del 0.05. Al comparar los resultados por niveles de presencia de Mycobacterium

tuberculosis de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada no existe una diferencia significativa

3.2. DISCUSIÓN.

La tuberculosis es una de las enfermedades más transmisibles y mortales a nivel mundial. Esta enfermedad bacteriana suele afectar a los pulmones donde se llama tuberculosis pulmonar, puede afectar a cualquier parte del cuerpo incluyendo los huesos, el cerebro, la matriz o el útero, la piel, los ganglios linfáticos etc.

La técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda es una técnica que se emplea fundamentalmente para detectar micobacterias. En los últimos años se han adaptado varias técnicas en anatomía patológica; como el empleo de horno microonda consiguiendo mejor la calidad de los resultados y acortamiento de los tiempos de incubación. En este sentido la modificación de la técnica Ziehl Neelsen aporta sencillez, rapidez y permite obtener resultados óptimos con un contraste entre los bacilos y el resto de la estructuras.” (4). En esta técnica se observa directamente de *Mycobacterium tuberculosis*, perteneciente al género de bacilos ácido alcohol resistente (BAAR), donde esta tinción actúa sobre la capa de péptidoglicano de la *Mycobacterium tuberculosis* tiñéndolas de rojo fucsia, esto gracias a las reacciones físico- químico que produce en dicha bacteria, para su diferenciación se utiliza el azul de metileno como contraste (8, 9). La técnica convencional requiere calentamiento (flameado directo con fuego) para que el colorante atravesase la pared bacteriana que contiene ácidos grasos, el flameado de los portaobjetos no es apropiado por la probabilidad de deteriorar la morfología de los bacilos.

En cambio la técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda no se requiere el flameado, donde nos permite obtener resultados óptimos con un buen contraste entre los *Mycobacterium tuberculosis* y el

resto de las estructuras. **(4)**. Además se mantiene intacta las estructuras de las bacterias y el resto de las estructuras, por lo que es aplicable a todo tipo de muestras que llegue al laboratorio para el diagnóstico de la tuberculosis.

Se encontró cierto grado de similitud con Badillo y Muñoz al encontrar una referencia de la tinción de Ziehl Neelsen ,siendo una técnica rápida, eficaz y de fácil realización que ayuda a la detección de tuberculosis pulmonar concluyendo que de las 182 baciloscopías que se realizaron en el período de estudio¹⁰ fueron positivas y 172 fueron negativas en pacientes atendidos en el Centro de Salud Joya de los Sachas **(17)**. Teniendo en cuentas que la técnica convencional es muy eficaz pero con esta nueva técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda es mucho más mejor viendo los resultados del presente estudio.

En cambio Reynosa M.E.C. Se encontró una discrepancia con sus hallazgos, principalmente por la capacitación de los personales de laboratorio encargados del área de baciloscopía para que esta nueva técnica sea estandarizada y tenga mejores resultados en el área de baciloscopía. **(23)**.

Por lo tanto el estudio de investigación realizada tienen una gran importancia en la área de baciloscopía teniendo en cuenta que esta técnica de Ziehl Neelsen modificada, se puede aplicar a cualquier tipo de muestra que llegue al laboratorio para el diagnóstico de la tuberculosis. Ya que esta técnica no altera las estructuras de las bacterias y a la vez minimiza el riesgo del personal que trabaja en el área de baciloscopía. Al comparar los resultados de esta técnica modificada se observara una mayor nitidez la Mycobacterium tuberculosis.

3.3. CONCLUSIÓN.

- La eficacia de la técnica Ziehl Neelsen convencional no es distinta que la modificada para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.
- La técnica Ziehl Neelsen convencional tiene un mayor porcentaje de negativos en la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.
- La técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda tiene un porcentaje equilibrado en la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.
- Al comparar los resultados por niveles de presencia de *Mycobacterium tuberculosis* de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada no existe diferencia significativa.

3.4. RECOMENDACIÓN.

- La técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda debe ser aplicada en las láminas de control de calidad de baciloscopía.
- Realizar esta técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda para ver la eficacia y la calidad en los resultados.
- Es recomendable que los profesionales de salud en especial los tecnólogos médicos tengan conocimiento de esta técnica para puedan aplicar y argumentar este trabajo de investigación para así poder fomentar el interés por conocer esta nueva técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda.
- Realizar estudios posteriores para así poder enriquecer esta investigación, aplicar e implementar esta nueva técnica de Ziehl Neelsen modificada en horno microonda en los laboratorios de baciloscopía.

3.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1 Latorre P, Sánchez É, Carlos Agudelo Calderón ea. Guía de atención de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. Ministerio de Prot de la Salud Med & Laboratorio. 2011;17(3-4):145-94.
- 2 Mendoza JEG. Tuberculosis: ¿enfermedad pulmonar únicamente? Ortho-tips. 2013;9(3):163-76.
- 3 Parra JCC. Microbiología y químico clínico. REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA. 2013;LXX(605):145-50.
- 4 Alonso M, Corcuera M, Picazo MRA, Gomez F. Modificación de la Técnica de Ziehl Neelsen para la Detección de Micobacterias con la Utilización de Microonda. Ser de Anatomia Patologicas. 1996;29(1):33-5.
- 5 Pérez SF, Pérez MPL. Vigilancia Y Analisis Del Riesgo En Salud Pública Protocolo De Vigilancia En Salud Publica Tuberculosis. PRO-R02014. 2016;4(1):2-42.
- 6 Kirchner CFd, Manzur JL, Diosque M. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis Normas Técnicas 2013. edición t, editor. Argentina: "Programa Nacional de Control de la Tuberculosis: Normas Técnicas 2013"; 2013. 242 p.
- 7 Mora JF, Barajas ER, all. RTCe. Manual de Técnicas de Laboratorio para el Examen Bacilosκόpico. 970-721-083-4 I, editor. México: D.R. Secretaría de Salud; 2003. 71 p.
- 8 García JL, Povedano MC, Felices AU. Manual de Laboratorio de Microbiología para el Diagnostico de Infecciones Respiratorias. B-18941-2012 D, editor. OmniaScience: Omnia SL; 2012. 140 p.
- 9 López-Jácome LE, Hernández-Durán M, Colín-Castro CA, Ortega-Peña S, Cerón-González G, Franco-Cendejas R. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. (CENIAQ). 2014;3(1):10-8.
- 10 Alfonso JBZ, Aspuru AG. Tuberculosis: tendencia, pronóstico y factores de riesgo afines en la provincia de Santiago de Cuba (2004-2014). MEDISAN. 2016;20(4):452.
- 11 Ruiz R. El Método Científico y sus Etapas. Met, científico. 2007;1(1):3-79.

- 12 Manterola C, Otzen T. Estudios Experimentales 2ª Parte. Estudios Cuasi-Experimentales. Int J Morphol. 2015;33(1):382-87.
- 13 Rodríguez N. Artículos Escogidos Por Áreas De Interés Metodológicos. Revista de Pedagogía. 2011;XXXII(91):147-58.
- 14 Sequeira MD, Barrera L, Imaz MS. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de Tuberculosis. C.C., editor. Santa Fe - Argentina: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias; 2012. 59 p.
- 15 Brizuela JGM, Marin JHN, Amaya JRR, Umbina HA, Ramos JG. Guia Técnica para el Diagnostico de Tuberculosis por Microscopía Directa. USAID TBCTA El Salvador SA. 2005;1(1):3-26.
- 16 Gutiérrez D, Moreno C, Araya A, González M. Estudio del niño en contacto con paciente tuberculoso. Rev Chil Infect. 2010;27(5):423-8.
- 17 Badillo DVL, Muñoz CMR. "Importancia De La Tinción De Ziehl Neelsen Para El Diagnóstico De Tuberculosis Pulmonar Por Microscopía Directa (Baciloscopia) En Pacientes Atendidos En El Centro De Salud Joya De Los Sachas Provincia De Orellana En El Período Enero - Mayo 2008 ". Riobamba – Ecuador: Universidad Nacional De Chimborazo; 2008.
- 18 Carrillo ESF. Relación Entre El Nivel De Conocimiento Y Actitud Sobre Medidas Preventivas Frente A La Tuberculosis Pulmonar En Escolares Del Nivel Secundario De La Institución Educativa Manuel A. Odria Del Distrito De Ciudad Nueva Tacna 2012. TACNA - PERÚ: UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA; 2013.
- 19 Chambilla KMC. Relacion Entre El Nivel De Conocimiento De Tuberculosis Pulmonar Y La Actitud Hacia El Tratamiento De Los Pacientes De La Microred Cono Sur Tacna 2012. TACNA - PERÚ: UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN; 2012.
- 20 Granizo FPJ. Reconocimiento De Mycobacterium Tuberculosis En Muestras De Esputo, En Pacientes Con Signos De Tuberculosis Mediante Frotis De Ziehl-Neelsen. 2013. GUAYAQUIL-ECUADOR: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL; 2014.
- 21 Jiménez RVB. Prevalencia De Tuberculosis Pleural En Pacientes Diagnosticados Con Tuberculosis, Atendidos En El Hospital Carlos

- Roberto Huembes. Managua 2012-2014. Managua: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA; 2015.
- 22 Lee AD. Diagnóstico Comparativo De Cryptosporidium Spp. Mediante Las Tinciones De Ziehl-Neelsen Y De Aureamina En Heces De Terneros Diarreicos De Rebaños Lecheros De La Región Metropolitana, Chile. Chile: Universidad De Chile; 2010.
- 23 Reynosa MEC. Evaluación De Dos Técnicas Alternativas Tinción Auramina O Y Pcr Hemianidada Is6110 Para El Diagnóstico De Tuberculosis. Guatemala: Universidad De San Carlos De Guatemala Facultad De Ciencias Químicas Y Farmacia; 2005.
- 24 Villacorta. RP, Lozano. AM. "Relación entre Nivel de Conocimiento sobre Tuberculosis Pulmonar y Actitud hacia el Tratamiento - Usuario Estrategia Sanitaria Control Tuberculosis -Hospital II-1 Moyobamba. Julio - Diciembre 2011". Tarapoto - Perú: UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN; 2012.
- 25 Aguirre PAC, Aguilar KSM. Diagnóstico Baciloscópico De Tuberculosis Pulmonar Enmuestras De Espujo Realizadas En El Área De Salud Nº 2 Deloja, Durante El Año 2007 Y Primer Trimestre Del Año 2008. Loja - Ecuador: UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA; 2008.
- 26 fajardo eap. evaluacion de una tecnica para el diagnostico presuntivo de micobacterium teberculosis. LIMA-PERU: Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2006.
- 27 Huamanquispe DGQ. Perfil molecular de Mycobacterium tuberculosis en muestras biológicas del tracto respiratorio inferior de pacientes limeños con sospecha de tuberculosis. Lima - Perú: UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS; 2009.
- 28 Latini MDSd, Barrera L. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. OPS. 2008;1(1):11-64.
- 29 Ryan JK, Ray CG. Microbiología Medica. 01376 CP, editor. México: McGRAW-HILLINTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.; 2011. 749 p.

- 30 Avalos-Rodríguez AC, Imán-Izquierdo FJC, Virú-Loza MA, all e. Factores asociados a tuberculosis multidrogorresistente primaria en pacientes de Callao, Perú. *An Fac med.* 2014;75(3):233-6.
- 31 Barea ARA, Terán HA, Salazar DEA. Métodos Diagnósticos En Tuberculosis; Lo Convencional Y Los Avances Tecnológicos En El Siglo Xxi. *Rev Med La Paz.* 2015;21(1):75-85.
- 32 Flores-Ibarra AA, Ochoa-Vázquez MD, Teca GAS. Estrategias diagnósticas aplicadas en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2016;54(1):122-7.
- 33 Santambrosio E, Ortega M, Garibaldi PA. Tinción y observación de microorganismos. 2009, editor. *Catedra De Biotecnología: Universidad Tecnologica Nacional;* 2009. 9 p.
- 34 OPS/OMS. Manejo de la Tuberculosis en Atención Primaria de la Salud. 08-7 I---, editor. Paraguay: (OPS/OMS); 2013. 32 p.
- 35 Cruz OV, Cangahuala TU. Campos Electromagnéticos & Salud Pública Hornos Microondas. *CEM Hornos microondas.* 2005;1(1):1-4.
- 36 Reyes-Garcia V, Lopez-Malo A, Sosa-Morales. ME. Efectos del Calentamiento con Microondas en Alimentos Fluidos. *Sel de Ing Alimentaria.* 2010;4(2):38-47.
- 37 Restrepo VR, Cadavid MAe. Horno microondas, su funcionamiento, mitos y realidades, y unamedida de la velocidad de la luz. *Estudiante de física Universidad de Antioquia.* 2013;4(1):2-5.
- 38 Torres MCG, Polo CL, Gamboa DLO, Restrepo GM. Bacteriología De Tuberculosis Baciloscopia Y Medio De Ogawa Kudoh Micobacterias - RNL - Instituto Nacional de Salud. 2009;2(2):1-57.
- 39 Solís LA, Torres NQ, Campos LV. Procedimiento Para El Control De Calidad Externo De Baciloscopia Para El Diagnostico De La Tuberculosis. 978-612-310-005-6 I, editor. LIMA: Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2012-05964; 2012. 81 p.

ANEXOS

ANEXO N° 1.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título:

“Evaluación de la técnica Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016”.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADORES	CATEGORIA			
<p>GENERAL</p> <p>P_G ¿Cuál será el resultado de la evaluación de la técnica Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016?</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>P₁ ¿Cuál será el resultado de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda para la identificación de Mycobacterium tuberculosis?</p> <p>P₂ ¿Cuál será el resultado de la técnica de Ziehl Neelsen convencional para la identificación de Mycobacterium tuberculosis?</p> <p>P₃ ¿Cuál será el resultado de la comparación de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda con la convencional para la identificación de Mycobacterium tuberculosis?</p>	<p>GENERAL</p> <p>O_G Evaluar la eficacia de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>O₁ Determinar el resultado de la técnica Ziehl Neelsen convencional para la identificación de Mycobacterium tuberculosis.</p> <p>O₂ Determinar el resultado de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda para la identificación de Mycobacterium tuberculosis.</p> <p>O₃ Comparar los resultados de la técnica Ziehl Neelsen convencional con la modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis por niveles.</p>	<p>GENERAL</p> <p>H_G La eficacia de la técnica Ziehl Neelsen convencional es distinta que la modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016.</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>H₁ La técnica Ziehl Neelsen convencional tiene un mayor porcentaje de negativos en la identificación de Mycobacterium tuberculosis.</p> <p>H₂ La técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda tiene un porcentaje equilibrado en la identificación de Mycobacterium tuberculosis.</p> <p>H₃ Al comparar los resultados por niveles de presencia de Mycobacterium tuberculosis de las técnicas Ziehl Neelsen convencional y modificada existe una diferencia significativa.</p>	Variable independiente	IDENTIFICACIÓN DE Mycobacterium tuberculosis	POSITIVO	presencia e identificación positiva de Mycobacterium tuberculosis			
						Positivo (+) 10 y 99 BAAR en 100 campos observados			
						Positivo (++) 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos			
						Positivo (+++) > 10 BAAR por campo en 20 campos			
								NEGATIVO	Ausencia de Mycobacterium tuberculosis
								CONVEN-CIONAL	Aplicación de la técnica Ziehl Neelsen convencional
			Variable dependiente	TÉCNICA DE ZIEHL NEELSEN.	MODIFICADA (HORNO MICROONDA)	Aplicación de la técnica Ziehl Neelsen modificada en horno microonda			
						SI / NO			
						SI / NO			

ANEXO N° 2.



Juliaca. 01 de Agosto del 2016

Dr. JORGE MAMANI MAMANI

DIRECTOR DE LA CLINICA SAN AGUSTIN DE JULIACA.

De mi consideración:

Yovana Alania Quenta, egresada de la carrera de Tecnología Médica con mención a Laboratorio Clínico Y Anatomía Patológica de la Universidad Alas Peruanas Filial Juliaca, el motivo del presente es que me permita realizar mi presente trabajo de investigación en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, con el propósito de desarrollar mi proyecto de investigación denominado **“Evaluación de la técnica Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016”**.

Con miras alcanzar mi título profesional.

Esperando, ser atendida en mi petición le antelo mi agradecimiento.

Atentamente.

Yovana Alania Quenta.
DNI: 47418860
Cód: 2011220924
EGRESADO

ANEXO N° 3.



Lic. TM. PERCY DARIO FLORES LLONTOP

GERENTE DE LABORATORIO CLINICO E IMÁGENES “GYG DIAGNOSTIC”. E.I.R.L.

Cuidad de Juliaca.

AUTORIZACION:

Yovana Alania Quenta, egresada de la carrera de Tecnología Médica con mención a Laboratorio Clínico Y Anatomía Patológica de la Universidad Alas Peruanas Filial Juliaca - Área de ciencias de la Salud. De la manera más cordial para solicitarle se digne autorizarme analizar las muestras que serán utilizadas para el proyecto de tesis. **“Evaluación de la técnica Ziehl Neelsen convencional y modificada para la identificación de Mycobacterium tuberculosis en pacientes de la Clínica San Agustín Juliaca 2016”.**

Por la acogida a mi pedido le antelo mi agradecimiento.

Atentamente.

Yovana Alania Quenta
DNI: 47418860
Cód.: 2011220924
EGRESADO

ANEXO N° 4.

Tabla 8. Formato de control de calidad de baciloscopía (Bk).

CÓD.	CALIDAD DE LA MUESTRA				CANTIDAD DE LA MUESTRA (3 - 5 ml)	CALIDAD DEL EXTENDIDO DE LAS LÁMINAS					CALIDAD DE LA COLORACIÓN DE LAS LÁMINAS	
	Mucopurulenta	Saliva	Sanguinolenta	mucosa		Bueno	Grueso	Fino	Homogéneo	No homogéneo	Bueno	deficiente
1	x				1 ml				x		x	
2	x				4 ml	x					x	
3		x			3 ml				x		x	
4	x				3 ml	x					x	
5	x				5 ml	x					x	
6		x			5 ml				x		x	
7				x	1 ml	x					x	
8		x			2 ml				x		x	
9	x				1 ml	x					x	
10				x	2 ml		x					x
11		x			2 ml			x			x	
12		x			2 ml	x					x	
13	x				1 ml	x					x	
14			x		2 ml					x		x
15	x				2 ml	x					x	
16		x			1 ml					x	x	
17	x				3 ml	x					x	
18	x				2 ml	x					x	
19		x			2 ml				x		x	
20		x			2 ml				x		x	
21	x				3 ml	x					x	
22	x				3 ml	x					x	
23		x			1 ml				x		x	

24	x				2 ml	x					x	
25	x				4 ml	x					x	
26		x			1 ml				x		x	
27	x				3 ml	x					x	
28		x			5 ml				x		x	
29	x				2 ml	x					x	
30		x			1 ml				x		x	

Total:	CALIDAD DE LA MUESTRA					CALIDAD DE EXTENDIDO DE LA LAM.					CAL. DE LA COL. DE LAM.	
	15	12	1	2		16	1	1	10	2	28	2
	30					30					30	

Obtenida de 39. Solís LA, Torres NQ, Campos LV. Procedimiento Para El Control De Calidad Externo De Baciloscopia Para El Diagnostico De La Tuberculosis 2012. (38).

ANEXO N° 5.

Tabla 9. Formulario de baciloscopia para la lectura de láminas.

FORMULARIO DE BK (Convencional)										FORMULARIO DE BK (Modificada)									
COD. DE LA LÁMINA					N°					COD. DE LA LÁMINA					N°				
No. DE BACILOS					(N°. de bacilos/ N°. de campos) (...../.....)					No. DE BACILOS					(N°. de bacilos/ N°. de campos) (...../.....)				
No. DE CAMPOS										No. DE CAMPOS									
RESULTADO										RESULTADO									

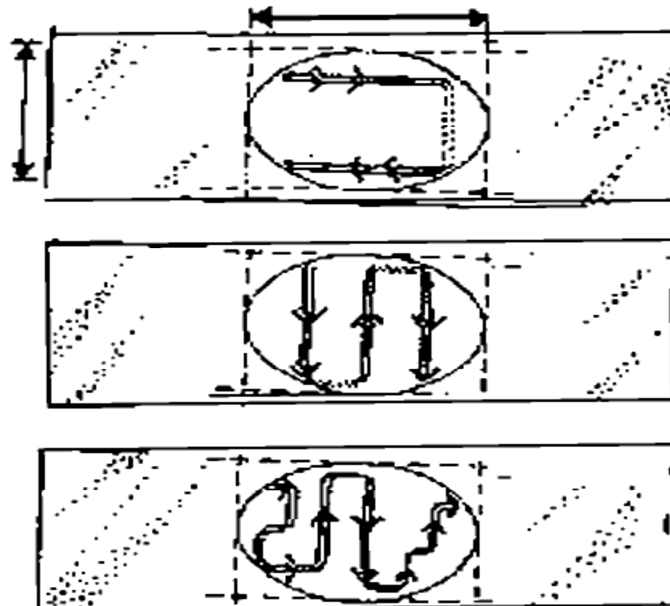
Obtenida de Mora JF, Barajas ER, all. RTCe. Manual de Técnicas de Laboratorio para el Examen Baciloscópico. 2003. (7).

Tabla 10. Ejemplo del formulario de baciloscopía para la lectura de láminas.

Resultado: (N°. De Bacilos/N°. De Campos); Resultado: (49/100) Positivo 1(X).

0	0	0	1	0	1	0	0	0	3
1	0	0	0	2	1	1	0	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	1	0
0	3	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
1	0	0	0	1	2	2	1	3	1
0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
0	3	0	0	0	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	2	0	1	0	0	0	0	4	0

Obtenida de Mora JF, Barajas ER, all. RTCe. Manual de Técnicas de Laboratorio para el Examen Baciloscópico. 2003. (7).



Obtenida de Mora JF, Barajas ER, all. RTCe. Manual de Técnicas de Laboratorio para el Examen Baciloscópico. 2003. (7).

ANEXO N° 6.

PROTOCOLO DE OBTENCIÓN DE MUESTRA DE ESPUTO.

1. Enjuagar la boca con agua antes de emitir la muestra para eliminar restos de alimento y algunas bacterias.
2. Tomar aire profundamente por la nariz.
3. Detener el aire en los pulmones por unos segundos.
4. Toser fuertemente inclinándose un poco hacia adelante, para eliminar la flema (gargajo, esputo).
5. Depositar la flema gargajo, esputo en un frasco de boca ancha.
6. Repetir los pasos 1, 2, 3, y 4 por tres veces para obtener una buena cantidad de flema.
7. Tapar bien el frasco.
8. Entregue el frasco al personal de salud.

ANEXO N° 7.

Tabla 11. Informe de resultados de baciloscopía.

Cód.	NEGATIVO	RESULTADOS DE BACILOS ÁCIDO ALCOHOL RESISTENTE (BAAR) "CONVENCIONAL"			
		1-9 BAAR	1 (+)	2 (++)	3 (+++)
1			2		
2				3	
3	0				
4					4
5	0				
6		1			
7			2		
8	0				
9			2		
10	0				
11	0				
12		1			
13			2		
14	0				
15			2		
16	0				
17			2		
18			2		
19	0				
20	0				
21	0				
22				3	
23	0				
24			2		
25	0				
26			2		
27	0				
28	0				
29	0				
30	0				

TOTAL	NEGATIVOS	POSITIVOS			
		1-9 BAAR	1 (+)	2 (++)	3 (+++)
	16				
POSITIVOS					
14		2	9	2	1

Cód.	NEGATIVO	RESULTADOS DE BACILOS ÁCIDO ALCOHOL RESISTENTE (BAAR) "MODIFICADA EN HORNO MICROONDA"			
		1-9 BAAR	1 (+)	2 (++)	3 (+++)
1			2		
2				3	
3	0				
4					4
5	0				
6		1			
7			2		
8	0				
9			2		
10	0				
11	0				
12		1			
13			2		
14	0				
15				3	
16	0				
17			2		
18			2		
19	0				
20	0				
21	0				
22					4
23	0				
24			2		
25		1			

26	1		2		
27	0				
28	0				
29	0				
30	0				

TOTAL	NEGATIVOS	POSITIVOS			
		1-9 BAAR	1 (+)	2 (++)	3 (+++)
	15	3	8	2	2
	POSITIVOS				
	15				

Obtenida de 39. Solís LA, Torres NQ, Campos LV. Procedimiento Para El Control De Calidad Externo De Baciloscopia Para El Diagnostico De La Tuberculosis 2012. (38).

Cód.	CONVENCIONAL
1	2
2	3
3	0
4	4
5	0
6	1
7	2
8	0
9	2
10	0
11	0
12	1

Cód.	MODIFICADA
1	2
2	3
3	0
4	4
5	0
6	1
7	2
8	0
9	2
10	0
11	0
12	1

13	2
14	0
15	2
16	0
17	2
18	2
19	0
20	0
21	0
22	3
23	0
24	2
25	0
26	2
27	0
28	0
29	0
30	0

13	2
14	0
15	3
16	0
17	2
18	2
19	0
20	0
21	0
22	4
23	0
24	2
25	1
26	2
27	0
28	0
29	0
30	0

NEGATIVO	0
POSITIVO	1

1-9BAAR	1
1 (+)	2
2 (++)	3
3 (+++)	4

ANEXO N° 8.



Fig. 2. Area de baciloscopia.



Fig. 3. Rotulación de láminas de Bk.



Fig. 4. Procesamiento de la muestra.



Fig. 5. Coloración de Ziehl Neelsen.



Fig. 6. Microonda LG.



Fig. 7. Procedimiento de la técnica de modificada.

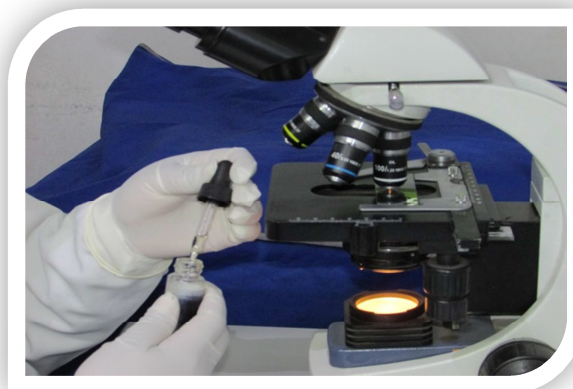


Fig. 8. Utilización del aceite de inmersión.

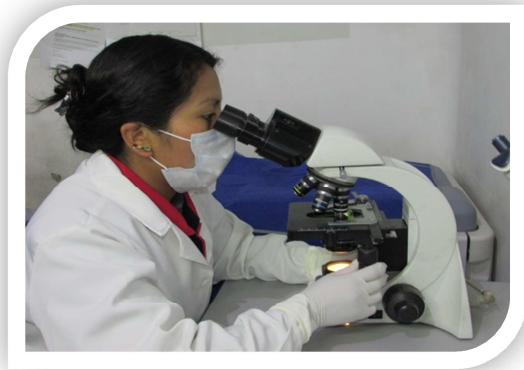


Fig. 9. Lectura de láminas Bk.



Fig. 10. Resultados de la lectura de las láminas de Bk.



Fig. 11. Microscopio Boeco.