



Título de la Tesis: **"Exposición ambiental del personal de salud a *Mycobacterium tuberculosis* en la Provincia de Colón a través de Biomarcadores"**

TESIS

Sometida para optar al título de Maestría en Microbiología Ambiental

Vicerrectoría de Investigación y Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología

APROBADO POR:



Doctor Amador Goodridge
Presidente



Doctora Nora de Moreno
Miembro



Profesor Cecilio Puga
Miembro

REFRENDADO POR:



**REPRESENTANTE DE LA VICERRECTORÍA
DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**

FECHA:

28-oct-2015

UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

Programa de Maestria en Microbiologia Ambiental

Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnologia

Exposicion ambiental del personal de salud al *Mycobacterium tuberculosis* en la
provincia de Colon a traves de Biomarcadores

POR

LIC DILCIA SAMBRANO

Trabajo de Graduacion para optar por el
titulo de Maestria en Microbiologia
Ambiental

Panama, 28 de octubre del 2015

Dedicatoria

Le dedico este trabajo a mi papa Everardo Sambrano a mi mama Dilcia de Sambrano y a mi hermano Everardo Sambrano y su bebe Andrethy que siempre han estado para apoyarme en cada meta que me propongo

Ludy

Agradecimiento

Quiero darle las gracias en primer lugar a Dios, quien me ha dado la fuerza y la capacidad para llevar a cabo esta tesis para optar por el título de Maestría. A la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT), al Instituto de Investigaciones Científicas Avanzadas y Servicios de Alta Tecnología (INDICASAT-AIP) que me brindaron todas las facilidades para la realización de este trabajo de investigación, especialmente quiero agradecer al Dr. Amador Godridge a la Dra. Carmenza Spadafora. Al Ministerio de Salud (MINSa), a la Dra. Ana Chavez, a la Miss Odemaris Luque encargadas del programa de Tuberculosis del MINSa en Colon. A la Caja de Seguro Social (CSS) al Dr. Rosas Chavez encargado del Departamento de Epidemiología al Dr. Milton Alvear encargado del departamento de Docencia del Hospital Amador Guerrero de Colon. De manera muy especial a Fermín Acosta, Clara Ordoñez miembros del grupo de investigadores de la Unidad de Investigaciones de Biomarcadores de Tuberculosis del INDICASAT-AIP y a Nadir Planes gracias por tu apoyo. A todas aquellas personas que de una manera desinteresada hicieron posible la culminación con éxito de este trabajo.

INDICE

	Pag
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Indice	iv
Indice de tablas	vii
Indice de gráficas	viii
Indice de figuras	ix
Resumen	x
Capitulo I	
Introduccion	2
ANIECEDENTES	4
1 0- Microorganismos en el aire	4
1 1 - Bioaerosoles	5
1 2 - Movimiento del bacilo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en los bioaerosoles	7
1 3 - Generalidades de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	7
1 4 - Transmision de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en el aire	9
1 5 - <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en ambientes nosocomiales	11
1 5 1- Situacion de exposicion del personal de salud a <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en Panama	14
1 6 - Tuberculosis en el personal de salud	15
1 7 - Recuperacion <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en el aire	16
1 8 - Cultivo de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	18
1 9 - Metodos indirectos	19
1 10 - Biomarcadores de tuberculosis	21
1 11 - Tuberculosis e infeccion latente	22

1 12 - Interferon gamma	23
1 12 1 - Funcion de interferon gamma	24
1 12 2 - Respuesta inmune	24
1 13 - QuantiFeron IB- Gold	26
1 13 1- Principios del ensayo	26
1 14 - Estadistica de tuberculosis	27
1 14 1 - Situacion mundial de la tuberculosis	27
1 14 2 - Situacion de la tuberculosis en las Americas	28
1 14 3 - Estadisticas de tuberculosis en Panama	28
1 15 - Hipotesis	28
1 16 - Objetivos	28

General

Especificos

CAPITULO II

METODOLOGIA

2 0-Entrega de protocolo al Departamento Nacional de Docencia	31
c Investigacion de la Salud	
2 1-Poblacion y muestra	31
2 1 2- Proceso de consentimiento informado y encuesta	31
2 2-Preparacion del medio 7H11 para el muestreo ambiental	31
2 2 1-Agar Mildebrook 7H11	31
2 2 2- Preparacion del aditivo ODAC (albumina, dextrosa, catalasa)	32
2 2 3- Preparacion del Agar Mildebrook 7H11	32
2 3 - Metodologia de muestreo	32
2 3 1- Toma de muestra ambiental	32

2 4 - Tincion de Ziehl-Neelsen	34
2 5 - Prueba de interferon gamma	35
2 5 1- Toma de muestra de sangre	35
2 5 2 -Preparacion de la curva estandar	35
2 5 3 - Cuantificación de interferon gamma por ELISA	36

CAPITULO III

RESULTADOS

3 1-Resultados del muestreo ambiental	39
3 1 1 – 1 valuacion física de las infraestructuras de las areas de muestreo ambiental	40
3 2-Identificación de bacilos	41
3 3- Resultados de la prueba de interferon gamma	41
3 3 1-Criterios de interpretacion de los valores del Kit de QuantiFeron TB Gold	41
3 3 2-Ecuacion para el calculo de los valores reales para QuantiFeron TB- Gold	42
3 4-Resultados para interferon gamma medidos con el Kit de QuantiFeron- TB Gold	43
3 5-Analisis demográfico	43

CAPITULO IV **53**

DISCUSION DE RESULTADOS **54**

CAPITULO V **68**

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES **69**

BIBLIOGRAFIA **71**

ANEXOS Anexo #1 Carta de aprobacion del proyecto por Departamento Nacional de Docencia e Investigacion en Salud

Anexo #2 Consentimiento informado

Anexo #3 Encuesta aplicada al personal de salud

INDICE DE TABLAS	Pag
Tabla Nº1 Microorganismos asociados a bioaerosoles	83
Tabla Nº2 Comparacion de metodos directos e indirectos para determinar la exposicion a en el ambiente	84
Tabla Nº 3 Diferencias entre infeccion latente y enfermedad tuberculosa	85
Tabla Nº 4 Especificidad de los antigenos ESA1-6 y CFP-10 en las mycobacterias	86
Tabla#5 Diseño experimental de muestreo del edificio de MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero)	87
Tabla Nº6 Diseño experimental de muestreo Hospital Amador Guerrero	88
Tabla Nº7 Resultados promedio del muestreo ambiental del edificio MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero)	89
Tabla Nº 8 Resultados promedio del muestreo ambiental del Hospital Amador Guerrero	90
Tabla Nº9 Criterio de interpretacion de los valores para Interferon Gamma medidos por el Kit de Quantiferon- TB Gold	91
Tabla Nº10 Analisis estadisticos de resultados obtenidos para los 200 PS medidos con Quantiferon TB- Gold	92
Tabla Nº11 Porcentajes de edad, sexo y grado de escolaridad	93
Tabla Nº12 Porcentajes demograficos para las pruebas de VIII, PPD y BCG	94
Tabla Nº13 Porcentaje demografico de las diferentes profesiones del personal de salud	95
Tabla Nº14 Porcentaje demografico de la relacion con algun familiar o conocido con TB, y presencia de alguna otra afeccion	96
Tabla Nº15 Porcentaje demografico del uso de equipos de proteccion personal y el conocimiento sobre TB y ILTB	96
Tabla Nº16 Porcentaje demografico frecuencia de examenes medicos y presencia de sintomas de TB	97
Tabla Nº17 Equipos de muestreo ambiental activo SAS	98

INDICE DE GRAFICAS	Pag
GraficaNº1 Resultado del muestreo ambiental #1 de Hospital Amador Guerrero	39
GraficaNº2 Resultado del muestreo ambiental #2 del Hospital Amador Guerrero	40
GraficaNº3 Curva estandar promedio	42
GraficaNº4 Resultados de ILTB para el personal de salud en clinicos y no clinicos	43
GraficaNº5 Distribucion del personal de salud positivo para ILTB para las areas de alto, medio y bajo riesgo	44
GraficaNº6 Resultados de positivos y negativos para ILTB vs sexo	45
Grafica Nº7 Resultados de positivos y negativos para ILTB por rango de edades	45
Grafica Nº8 Resultados de positivos y negativos para ILTB por grado de escolaridad	46
Grafica Nº9 Resultados positivos y negativos para ILTB vs vacunacion BCG	47
GraficaNº10 Resultados positivos y negativos para ILTB vs prueba de PPD	47
GraficaNº11 Resultados positivos y negativos para ILTB vs posicion de trabajo	48
Grafica Nº12 Resultado positivo y negativo para ILTB vs contacto con familiar o conocido con TB	49
GraficaNº13 Resultados de positivos y negativos para ILTB vs presencia de otra afeccion	50
GraficaNº14 Resultados de positivos y negativos para ILTB vs utilizacion de equipo de proteccion personal	51
Grafica Nº15 Resultados positivos y negativos para ILTB vs conocimiento sobre TB y ILTB	51

INDICE DE FIGURAS	Pag
Figura Nº1 Arbol filogenetico del genero <i>Mycobacterium</i>	101
Figura Nº2 Incidencia estimada de IB por 100 000 habitantes en las Americas, 2011	102
Figura Nº3 Region de las Americas Los diez paises principales por incidencia estimada de IB por 100 00 habitantes	103
Figura Nº4 Tasa de incidencia de tuberculosis en todas las formas en Panama	104
Figura Nº5 Extension de la colonia de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	104
Figura Nº6 Placa con el carbol fuscina	104
Figura Nº7 Decoloracion de la muestra con alcohol acido	105
Figura Nº8 Adicion del colorante de contraste azul de metileno	105
Figura Nº9 Dilucion en serie del estandar	106
Figura Nº10 Identificación de bacilos de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> por tincion de Ziehl Neelsen en el muestreo ambiental del Hospital Amador Guerrero de Colon	106
Figura Nº11 Orden de las muestras en el plato de ELISA	107
Figura Nº12 Esquema de composicion genetica de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Mycobacterium avium</i> y del bacilo Calmette-Guerin respecto a la presencia de <i>Early Secretory Antigen Target</i>	107
Figura Nº13 Ubicacion de las areas de muestreo del edificio del Hospital Amador Guerrero	108
Figura Nº14 Ubicacion de las areas de muestreo del edificio del MINSA	109
Figura Nº15 Mascarillas quirurgicas	110
Figura Nº16 Mascarillas N-95	110
Figura Nº17 Resultados del muestreo ambiental por sedimentacion en platos Petri	111

Resumen

La exposición a *Mycobacterium tuberculosis* presente en el ambiente hospitalario es uno de los principales riesgos del personal de salud. Esta exposición puede provocar la infección latente o inclusive el desarrollo de la enfermedad activa conocida como tuberculosis (TB). De hecho, la infección latente con *Mycobacterium tuberculosis* (LTB) es uno de los principales riesgos ocupacionales en los hospitales y centros de salud en los países en desarrollo como Panamá. El personal de salud es el pilar en la lucha contra la TB, es por ello que el riesgo de exposición a las Mycobacterias es mucho más alto. El riesgo de exposición a *Mycobacterium tuberculosis* se incrementa con factores como el retraso en el diagnóstico de los pacientes que padecen TB. Esto permite que el personal de salud comparta ambientes comunes con individuos enfermos altamente contagiosos. Además, las infraestructuras deficientes de los centros de atención médica como los sistemas de ventilación y la organización de las áreas de trabajo aumentan el riesgo de exposición a *Mycobacterium tuberculosis* en el ambiente. Otros factores incluyen la poca información y la falta de elementos para la protección de riesgos biológicos brindados al personal de salud para su protección al momento de tratar con estos pacientes. Existen diferentes estrategias directas e indirectas para determinar si existe la exposición ambiental a *Mycobacterium tuberculosis* en el personal de salud. Las estrategias directas están basadas en la detección de la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Las mismas requieren de laboratorios sofisticados y la bacteria puede demorar hasta ocho semanas en crecer. Por otro lado, la exposición a *Mycobacterium tuberculosis* también puede determinarse de forma indirecta, como la prueba de liberación de interferón- γ por los linfocitos T (o pruebas IGRAs del inglés **Interferon Gamma Release Assay**). El IGRA consiste en un método rápido y eficiente que permite determinar la exposición a *Mycobacterium tuberculosis* en 24 horas. En esta tesis evaluamos el riesgo de exposición ambiental a *Mycobacterium tuberculosis* en 200 profesionales de la salud que laboran en el hospital Amador Guerrero de la provincia de Colón. De esta población un 36% dio positivo para la prueba de Interferon gamma.

Un 73% de la población no clínica dio positivo para la prueba de ILTB y un 29% de la población clínica dio positivo para ILTB. Unido a esto realizamos un muestreo ambiental logrando identificar 2 colonias con morfología similar a la de *Mycobacterium tuberculosis* en la sala de espera de urgencias de ortopedia y ginecología, en el área de recepción y atención urgencia general del Hospital Amador Guerrero.

CAPÍTULO I

Introducción

Los microorganismos pueden ser transportados rápidamente, en forma de bioaerosoles a través de grandes distancias con el movimiento del aire que representa el mejor camino de dispersión. Algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y su dispersión en la atmósfera. El transporte se realiza sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de la ropa, en gotas de agua o en gotas de saliva eliminadas al toser, estornudar o hablar.

El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos. La presencia de uno u otro tipo depende del origen, de la dirección e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo. Entre estos microorganismos se encuentra *Mycobacterium tuberculosis*, que son bacilos aerobios inmóviles y no esporulados con un tamaño de 0,2 a 0,6 x 1 a 10 µm, causantes de la tuberculosis. El *Mycobacterium tuberculosis* se transmite por inhalación de gotitas infecciosas, eliminadas al aire por el estornudo de un paciente con tuberculosis, (Kumar, Cotran & Robbins, 2000) a través de las heces y mediante la orina. La posibilidad de que una persona sana se infecte depende de la concentración de núcleos de microgotas suspendidos en el aire y del tiempo de exposición. Las principales puertas de entrada son por el sistema respiratorio, el tejido linfático del buco-faringe, el intestino y la piel (Garray, 1985). La vía de contagio más común es la vía respiratoria, le sigue la digestiva y la cutáneo-mucosa. Al ser expulsadas al exterior, las gotas grandes o gotas Pflügge («droplet») caen por acción gravitatoria, en tanto las más pequeñas, núcleos de Wells, permanecen mayor tiempo en el aire y son transportadas por las corrientes de aire. Cuando el agua se evapora, deja en suspensión los llamados núcleos de Wells («droplet nuclei»), estos núcleos contienen uno o más bacilos que pueden transmitir la tuberculosis a través del aire.

Las medidas de control ambientales son herramientas de defensa para la prevención de la transmisión nosocomial de *Mycobacterium tuberculosis* al personal de salud (PS). El riesgo de transmisión hospitalaria de tuberculosis depende de la prevalencia de la enfermedad en el área de influencia del hospital, el tipo de pacientes asistidos, y el contacto PS con los pacientes potencialmente infectantes. El diseño del establecimiento, el clima de la zona, el tipo de población de pacientes, el número de pacientes con tuberculosis

atendidos en el establecimiento y los recursos disponibles determinaran el tipo de medidas de control ambientales para cada establecimiento. Los trabajadores sanitarios que estan en riesgo son los administradores o gerentes, personal de broncoscopia, administrativos, programadores de computadoras, personal de construccion, los oficiales de las correccionales, personal de reparacion, personal dental, nutricionista o personal de la dieta, ingenieros, el personal del servicio de alimentos, los asistentes de salud, el personal de salud y seguridad, servicio de limpieza y de custodia, personal. Otros grupos como enfermeras, personal del refugio para personas sin hogar, el personal de control de infecciones, personal de mantenimiento, personal de la Morgue. La exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* presente en el ambiente puede causar una infeccion latente (ILT) y luego la tuberculosis (TB) en el PS (Richeldi, 2009).

Existen diferentes y diversas metodologias para determinar la exposicion a *Mycobacterium tuberculosis*. Estas metodologias pueden ser directas o indirectas. Los metodos directos mas usados incluyen sedimentacion, recogida en medio acuoso, filtracion, impactacion y recolectores de Andersen (P. D. Paul, A. Jensen, P.E., & C.H. and Millie P. Schaler, 1998). Por otro lado, los metodos indirectos incluyen la prueba de tuberculina y el interferon gamma. La prueba de tuberculina utiliza el antigeno PPD (del ingles purified protein derivative) el cual es inyectado a nivel cutaneo y se observa una respuesta de hipersensibilidad retardada mediada por celulas (sobre todo linfocitos T). Despues de 48-72h, una induracion rojiza aparece en la zona de la inyeccion. En cambio, la prueba de liberacion de interferon gamma (IGRA: Interferon Gamma Release Assay) incluye la estimulacion in vitro con antigenos como ESAT-6, TB7.7 (p4) y CFP-10. Estos antigenos son unicamente expresados por miembros del complejo TB. QuantiFERON-TB Gold (QFT®) es un ensayo comercial de diagnostico que utiliza un coctel de estos peptidos para estimular celulas en sangre total heparinizada. La deteccion de interferon- γ (IFN- γ) se realiza mediante el ensayo de inmuno-absorcion enzimatica (ELISA). La prueba QFT es una prueba indirecta destinada a detectar la infeccion por *Mycobacterium tuberculosis*.

Antecedentes

1.0 - Microorganismos en el aire

La atmósfera no tiene una microbiota autoctona pero es un medio para la dispersión rápida y global de muchos tipos de microorganismos. Sin embargo, existe un importante intercambio de ellos y de sus metabolitos entre la atmósfera. Aunque la atmósfera es un ambiente difícil para los microorganismos, en la troposfera inferior se encuentran un gran número de ellos. Determinados espacios temporales de la troposfera pueden ser hábitats adecuados para el crecimiento de los microorganismos. Las nubes poseen agua, intensidad de luz y concentración de CO₂ suficiente para permitir el crecimiento de los microorganismos (Bartha & Atlas, 2002). Los microorganismos pueden ser transportados rápidamente, en forma de bioaerosoles, a través de grandes distancias con el movimiento del aire que representa el mejor camino de dispersión. Algunos tienen adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y su dispersión en la atmósfera. El transporte se realiza sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas secas, piel, fibras de la ropa, en gotas de agua o en gotas de saliva eliminadas al toser, estornudar o hablar. El aire contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos. La presencia de uno u otro tipo depende del origen, de la dirección e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo. De esta forma, en el aire se aíslan frecuentemente bacterias esporuladas, también son muy frecuentes los bacilos pleomórficos Gram positivos (*Corynebacterium*) y los cocos Gram positivos (*Micrococcus* y *Staphylococcus*). Los bacilos Gram negativos (*Flavobacterium* *Alcaligenes*) se encuentran en menor proporción y disminuyen con la altura (Gregory 1961, Pelczar, Chan, & Krieg 1993). *Cladosporium* es el hongo que predomina en el aire tierra y el mar aunque también es frecuente encontrar otros mohos, como *Aspergillus*, *Penicillium* *Alternaria* y *Mucor* y la levadura *Rhodotorula* (Shelton Kirkland Flanders, & Morris 2002, Su et al, 2015).

La supervivencia de las bacterias es variable, debido a su diversidad estructural y metabólica. En general las bacterias Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas ya que su pared celular es más gruesa. Los principales factores que afectan la

supervivencia incluyen la humedad relativa, temperatura oxígeno, materia orgánica y radiaciones (Potts 1994)

Los virus también pueden encontrarse en el aire y ser transportados por el mismo. Numerosos virus humanos (Orto y Paramixovirus, Poxvirus, Picornavirus) se transmiten por vía respiratoria, principalmente en ambientes cerrados. El tiempo que permanecen los microorganismos en el aire depende de la forma, tamaño y peso del microorganismo y de la existencia y potencia de las corrientes aéreas que los sostengan y los eleven. Son factores adversos para ellos los vientos, disminuyen su velocidad y su potencia de arrastre, y las precipitaciones, que arrastran al suelo las partículas suspendidas.

El papel de los microorganismos en el aire en diversos ámbitos industriales se ha estudiado bien, sin embargo el papel de estos microorganismos en el aire en los centros de atención en salud es poco conocido. El aumento de la incidencia de las enfermedades nosocomiales debidos a la exposición bioaerosoles (Schaal, 1991) indican la necesidad de estudiar a fondo los aspectos relacionados con la exposición a estos microorganismos. Por ejemplo, el monitoreo de los bioaerosoles en los hospitales proporciona información para la investigación epidemiológica de las enfermedades nosocomiales infecciosas. El enfoque principal ha sido entender la propagación de los microorganismos en el aire.

1.1- Bioaerosoles

Bioaerosoles son aerosoles o partículas de origen microbiano vegetal o animal que se utiliza a menudo como sinónimo de polvo orgánico. Este polvo orgánico pueden consistir de bacterias patógenas o no patógenas vivas o muertas y hongos, virus, alérgenos (HIMW) de alto peso molecular, endotoxinas bacterianas, las micotoxinas, peptidoglucanos, β (1 \rightarrow 3) glucanos, fibras de polen, las plantas. El interés en la exposición bioaerosol ha aumentado en las últimas décadas. Esto es en gran parte debido a que ahora se reconoce adecuadamente que la exposición a agentes biológicos, tanto en el ambiente interior residencial y laboral y pueden asociar a una amplia gama de efectos adversos para la salud con mayor impacto en la salud pública, incluidas las enfermedades infectocontagiosas, efectos tóxicos agudos, alergias y cáncer (Sandiford, Tee & Taylor, 1994, Schweigert Mackenzie, & Sarlo, 2000). El control de los procedimientos de vigilancia de los

bioaerosoles peligrosos se puede utilizar como medida de control de calidad para determinar la calidad del aire interior. Por ejemplo, el entorno en los centros de salud sirve como un depósito para una variedad de microorganismos. De esta forma, exposiciones inadvertidas a patógenos oportunistas ambientales (por ejemplo *Aspergillus* spp y *Legionella* spp) o por el aire patógenos (por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis* y virus de la Varicela - zoster) pueden dar lugar a infecciones con la morbilidad y/o mortalidad importante (Fickhoff 1994). Las células bacterianas y fragmentos celulares, esporas de hongos y subproductos del metabolismo microbiano presentes como partículas, líquidos o compuestos orgánicos volátiles pueden ser componentes de bioaerosoles (Stetzenbach, 2005). El aire contiene un número significativo de microorganismos, actuando como un medio para su transmisión o dispersión. La inhalación, ingestión y contacto dérmico son las rutas de exposición humana a los microorganismos en el aire, siendo la inhalación la predominante. Las partículas en un bioaerosol son generalmente 0.3 a 100 micras de diámetro. Sin embargo, la fracción de tamaño respirable de 1 a 10 micras es de principal preocupación (Cox & Wathes, 1995). Bio-aerosoles que varían en tamaño de 1,0 a 5.0 micras generalmente permanecen en el aire, mientras que las partículas más grandes se depositan en las superficies (AJ 2002). La exposición a bioaerosoles a diferencia de la exposición a sustancias químicas no tienen límites de umbral para evaluar el impacto de la salud o efectos tóxicos debido a la complejidad de su entidad, las variaciones en la respuesta humana a su exposición y dificultades en la recuperación de los microorganismos que pueden suponer riesgo durante el muestreo de rutina (Manchester HA, HA, DK & PR 1999). El rol de las bacterias y virus en el aire de los establecimientos de salud ha sido muy poco explorado. Mientras que las industrias alimenticias y de producción de medicamentos han hecho énfasis en el estudio de los microorganismos que se mueven en sus entornos, el aumento de la incidencia de las enfermedades nosocomiales y profesionales debidos a la exposición bioaerosoles (GAI, Babb JR & FI 1999, Schaal 1991) indica la necesidad de un profundo conocimiento en este sentido. La carga microbiana en el aire interior del hospital está muy influenciada por el número de ocupantes, su actividad y la ventilación (GAI et al 1999). Los ocupantes son una fuente potencial de microorganismos ya que arrojan los microorganismos de las escamas de la piel y el tracto respiratorio. La ventilación causa dilución del aire lo que

reduce la carga microbiana. Sin embargo, los fregaderos, lavabos y desagües, nebulizadores, humidificadores y torres de refrigeración son las fuentes potenciales de bacilos Gram negativos que colonizan las superficies húmedas. Depósitos de ropa de cama también pueden ser las fuentes de microorganismos en el aire (GAJ et al. 1999). Barrido de suelos y cambio de ropa de cama también puede causar la suspensión de bioaerosoles en el aire (GAJ et al. 1999). Las esporas de hongos logran la entrada en los edificios del hospital a través de los conductos de ventilación con filtración inadecuada. Dado que los niveles de exposición son altos, esto puede ser un riesgo mayor en los pacientes inmuno suprimidos.

1.2- Movimiento del bacilo *Mycobacterium tuberculosis* en los bioaerosoles

Los bioaerosoles pueden transmitirse ya sea a larga distancia más allá del ambiente de la habitación del paciente o en distancias cortas. Aerosoles de partículas pequeñas (por ejemplo, generados durante la intubación endotraqueal) se transmiten a las personas en el área inmediata cerca del paciente. La expresión clínica de la enfermedad de las vías respiratorias está influenciada por una combinación de componentes de bioaerosoles y la dosis y duración de la exposición (medio ambiente), así como las diferencias en la respuesta del huésped a bioaerosoles (polimorfismos genéticos) (Hattis, Russ, Goble, Banati & Chu 2001). La transmisión del bacilo de la tuberculosis se produce a través de la inhalación de bacilos en aerosol en los núcleos de gotitas de pacientes con tuberculosis con esputo positivo expectorado al toser, estornudar y hablar. Varios brotes de TB resistente a múltiples medicamentos han puesto de relieve el potencial de transmisión en el medio hospitalario (Breathnach et al. 1998). Existe un grupo de microorganismos asociados a transmisión por bioaerosoles, a los que puede estar expuesto el personal de salud de los centros de atención médica. Ver tabla N°1 (Centers for disease control and prevention, 2003).

1.3- Generalidades de *Mycobacterium tuberculosis*

La TB es una enfermedad infecciosa crónica, causada por *Mycobacterium tuberculosis*, bacilos aerobios, intracelulares o por mycobacterias zoonóticas, la de mayor relevancia *M. bovis* y otras mycobacterias atípicas. Su característica fundamental es la formación de granulomas en los tejidos (Muller et al. 2013).

Aunque se trata principalmente de una enfermedad pulmonar (85%), afecta también a otros órganos y tejidos. Puede ser mortal si el paciente no recibe el tratamiento adecuado. Existen reportes de muerte ocasionada por cepas multidrogaresistentes. El género *Mycobacterium* dentro de la familia *Mycobacteriaceae*, comprende a bacterias aerobias Gram positivas débiles, ácido alcohol resistente, inmóvil, no esporuladas. Se encuentra incluido en el orden de los *Actinomycetales*, con los géneros *Nocardia* y *Corynebacterium*, entre otros. En la figura N°1, se muestra un árbol filogenético de los diferentes géneros con los que comparte algunas características, tales como el tener un alto contenido genómico de GC (guanina+citosina) en DNA y el ser capaz de producir ácidos micólicos como componentes principales de la pared celular. El género *Mycobacterium* está formado por bacilos aerobios inmóviles y no esporulados con un tamaño de 0,2 a 0,6 x 1 a 10 µm (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2009).

Todas las especies de *Mycobacterium* comparten una característica pared celular más gruesa que la de muchas otras bacterias, hidrofóbica, cerosa, y rica en ácidos micólicos/micolatos. La pared celular es rica en lípidos, lo que hace que su superficie sea hidrofóbica y confiere a las micobacterias resistencia frente a muchos desinfectantes y las tinciones de laboratorio. Esta pared celular proporciona una contribución sustancial a la resistencia de este género de bacteria (Bansal-Mutalik & Nikardo 2014, Murray et al., 2009) (Daffe Glycolipids of Recent Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* 1989 pdf, n.d.). En la membrana plasmática se anclan proteínas manosidas de fosfatidil inositol y liparabinomano (LAM), que presenta una reparación funcional con los liposacáridos frente a los ataques de los agentes antimicrobianos, que no están presentes en otras bacterias. La capa de peptidoglucano forma el esqueleto básico al que se unen los arabinogalactanos, unos polisacáridos ramificados formados por D-arabinosa y D-galactosa. El residuo terminal de la D-arabinosa se esterifica para dar lugar a ácidos micólicos hidrofóbicos de alto peso molecular a los que se anclan moléculas de glucolípidos de superficie. Los componentes lipídicos abarcan el 60% del peso de la pared. Las proteínas constituyen antígenos importantes para estimular la respuesta del anfitrión a la infección y pueden usarse como prueba pronóstica. Debido a que la pared celular de las micobacterias es compleja y a que este grupo de microorganismos es exigente desde el punto de vista nutricional, la mayoría crecen lentamente, se dividen cada 12 a 24 horas y se necesitan

hasta 8 semanas antes de poder detectar el crecimiento en los cultivos de laboratorio. Las mycobacterias a veces colonizan a sus huéspedes sin que estos muestren signos de enfermedad. Esto es debido a que en gran parte de los países la cepa de *Mycobacterium tuberculosis* está circulando en el medio ambiente. Esta produce una primera infección, que permite desarrollar una respuesta inmune pero sin presentar los síntomas específicos creando así células de memoria que mantienen vigilancia específica en el organismo. Al transitar por la calle el paciente está expuesto a una reinfección de *Mycobacterium tuberculosis* pero no desarrollará la infección, porque al tener las células de memoria estas se encargan de neutralizar al patógeno (Murray et al., 2009).

1.4- Transmisión de *Mycobacterium tuberculosis* en el aire

El *Mycobacterium tuberculosis* se transmite por inhalación de gotitas infecciosas eliminadas al aire por el estornudo de un paciente con TB (Kumar et al., 2000). La posibilidad que una persona sana se infecte depende de la concentración de núcleos de microgotas suspendidos en el aire y del tiempo de exposición. Pero, las partículas mayores a 5 micrones, se depositan con el polvo y son resuspendidas en el aire en los momentos en que se abren las ventanas o se camina por la habitación, luego vuelven a depositarse en el suelo (Riley et al., 1995). La transmisión puede ser indirecta ya que las mycobacterias son muy resistentes a la desecación y pueden estar por muchos meses en el polvo o en los objetos de uso diario (Garray, 1985). Otras como *Mycobacterium bovis* se transmiten por la leche de las vacas enfermas, e inicialmente produce lesiones intestinales y faríngeas (Kumar et al., 2000). Las principales puertas de entrada son por el sistema respiratorio, el tejido linfático del buco-faríngeo, el intestino y la piel (Garray, 1985). La forma de contagio más común es la vía respiratoria, le sigue la digestiva y la cutáneo-mucosa. No hay contagio materno transplacentario (Ceccotti, 1994). Los pacientes con cavidades pulmonares son más infecciosos aun puesto que su esputo contiene de 1 a 10 millones de bacilos por ml. Sin embargo la piel y las mucosas respiratorias íntegras de las personas sanas son resistentes a la invasión. Para que haya infección es necesario que se transporten los bacilos hasta los espacios aéreos distales del pulmón, los alveolos, donde no están supeditados a la purificación mucociliar bronquial. El riesgo de infectarse por el *Mycobacterium tuberculosis* está enteramente basado en factores exógenos al huésped. Esto es debido a que

es necesaria la presencia del bacilo dentro del huésped para que se de el proceso de la infección tuberculosa. Es necesario que un bacilo se adhiera a la pared celular del alveolo. Si sucede ese bacilo tiene dos caminos a seguir, uno el de producir la infección tuberculosa, y el otro, el de ser fagocitado por los macrófagos alveolares incorporado a los fagosomas y expuesto a ser destruido por la fusión fagosomal, generando radicales de oxígeno tóxico e intermedios de nitrógeno reactivo (Riley et al, 1995). Una vez depositados en los alveolos, los bacilos están adaptados para ser fagocitados por los macrófagos alveolares que, al depender tanto de sus propiedades genéticas como de su experiencia inmunitaria, son relativamente tolerantes a la proliferación bacilar. Existen otros mecanismos de transmisión como los aerosoles generados por medio de la desbridación o al cambiar las curas de los abscesos cutáneos o de los tejidos blandos infectados por *Mycobacterium tuberculosis*, que son altamente infecciosos. Asimismo, las maniobras inadecuadas en la manipulación de los tejidos durante las necropsias y la inoculación directa en los tejidos blandos a través de instrumentos contaminados o fragmentos óseos también transmiten la enfermedad (García Infecciones respiratorias por micobacterias ambientales 2005 pdf n d)

La forma más frecuente de transmisión de la enfermedad *Mycobacterium tuberculosis* es a través de la tos, el estornudo y otros movimientos respiratorios similares. Estos movimientos distribuyen a su alrededor pequeñas gotas llamadas gotitas de Pflugge. Al ser expulsadas al exterior, las gotas grandes o gotas Pflugge («droplet») caen por gravedad, en tanto las más pequeñas núcleos de Wells permanecen mayor tiempo en el aire y son transportadas por las corrientes. Cuando el agua se evapora deja en suspensión los llamados núcleos de Wells («droplet nuclei»), estos núcleos contienen uno o más bacilos para ser transmisible la tuberculosis a través del aire. Las gotitas de saliva deben flotar en el aire. La velocidad de caída al piso es proporcional al tamaño de la gotita («droplet») o al cuadrado de su diámetro. En ambientes saturados de humedad la velocidad de caída hacia el piso desde una altura de 2 metros es de menos de 10 segundos. Es muy poco tiempo para ser importantes en la transmisión. Pero la tendencia a evaporarse de las gotitas es la característica fundamental. Esto disminuye su tamaño, y el tiempo que pasan en suspensión («droplet nuclei»). Un ataque de tos produce hasta 3 500 partículas con capacidad infectante. lo que equivale a 5 minutos de conversación, mientras que un estornudo dispersa

hasta 1 000 000 de partículas, un golpe de tos es equivalente a 5 minutos de conversacion en voz alta en termino de numero de «*droplet nuclei*» presentes en el aire, y con una presencia de las mismas de 30 minutos despues de toser Tambien cantar se considera equivalente a toser

1.5 – *Mycobacterium tuberculosis* en ambientes nosocomiales

En los paises en vias de desarrollo hay informacion escasa sobre esta problematica (Fennelly & Iseman 1999) El riesgo de transmision hospitalaria de TB depende de la prevalencia de la enfermedad en el area de influencia del hospital, el tipo de pacientes asistidos y el contacto del personal de salud (PS) con los pacientes potencialmente infectantes El mayor riesgo se observara en aquellos servicios donde los pacientes son asistidos sin diagnostico previo de TB, como son las areas de emergencia y las salas de espera, donde se efectuan procedimientos diagnosticos o terapeuticos que inducen la tos (inducccion de esputo, aerosol terapia, broncofibroscopia intubacion endotraqueal aspiracion de secreciones limpieza de abscesos y autopsias) (Centers for disease control and prevention , 1989)(Beck-Sague et al , 1992) Otro sector de gran riesgo son las salas de espera comunes ya que en ellas se encuentran diferentes tipos de pacientes aun si ser captados con sintomas respiratorios que pueden estar diseminando bacilos sin ser detectados poniendo en riesgo a la poblacion hospitalaria inmunodeprimida que esta en espera de asistencia medica

El CDC clasifica a los hospitales segun el riesgo de transmision nosocomial, como de **muy bajo riesgo**, aquellos que no internan pacientes con TB, de **bajo riesgo** aquellos que no internan mas de 6 pacientes con TB por año, de **riesgo intermedio**, los que internan mas de 6 pacientes por año no habiendose detectado transmision nosocomial de tuberculosis y de **alto riesgo** aquellos en los que se ha detectado la transmision nosocomial de TB entre pacientes y el PS En los hospitales que se atienden pacientes con TB se debe hacer todo lo posible para delimitar el area del cuidado de la salud donde hay exposicion potencial a contagios infecciosos Areas separadas deben ser designadas para las diferentes categorias de pacientes entre los que estan pacientes con signos o sintomas de TB, pacientes potencialmente infecciosos de TB pero sin diagnostico confirmado pacientes con

TB confirmada en tratamiento y con mejoría, pacientes con TB conocida, pero sospechosos de tener TB multirresistentes (Kruuner et al , 2001)

Las medidas de control ambientales son herramientas de defensa para la prevención de la transmisión nosocomial de *Mycobacterium tuberculosis* al PS. Una variedad de medidas de control ambientales pueden usarse para reducir el número de núcleos de gotitas infecciosas aerosolizadas en el ambiente de trabajo. La técnica más sencilla y menos costosa es recircular el aire de las áreas de pacientes tuberculosos lejos de pacientes sin tuberculosis y mejorar la ventilación natural mediante ventanas abiertas. Métodos más complejos y costosos que incluyen el uso de ventilación mecánica (por ejemplo ventiladores de ventana, sistemas de ventilación por extracción etc.) en habitaciones de aislamiento o pabellones para producir presión negativa e impedir que el aire contaminado escape a pasillos y otras áreas circundantes. Otros métodos incluyen filtración del aire para retener partículas infecciosas y radiación ultravioleta germicida (RUVG) para eliminar los bacilos de *Mycobacterium tuberculosis*. El diseño del centro hospitalario, el clima de la zona, el tipo de población, el número de pacientes tuberculosos atendidos en el establecimiento y los recursos disponibles, determinarán la utilización de las diferentes medidas ambientales. El movimiento de aire para lograr la dilución y el intercambio del aire en una zona específica reduce la concentración de núcleos aerosolizados de gotitas. A fin de disminuir el riesgo nosocomial la práctica más ideal sería una en la que el aire fresco se introduce constantemente a una habitación y el aire contaminado se extrae al exterior, de manera que se cambia el aire en la habitación varias veces por hora. A menos que la ventilación natural sea excelente en estas áreas debe considerarse firmemente la ventilación mecánica con extractores de ventana para generar flujo de aire direccional. La radiación ultravioleta germicida (RUVG) o las unidades de filtro HEPA portátiles pueden proporcionar una opción a medidas ambientales de más elevado costo que requieren alteraciones estructurales de un establecimiento. Estas medidas pueden ser especialmente útiles en pabellones más grandes, áreas de espera de clínicas para tuberculosis o áreas de hospitalización como salas de televisión o recreación donde se encuentran los pacientes tuberculosos.

El uso de protección respiratoria personal (mascarillas N-95) es una defensa para el PS contra la infección nosocomial por *Mycobacterium tuberculosis*. Sin medidas de control

ambientales apropiadas, los respiradores no protegerán adecuadamente al PS de la infección. Sin embargo, las mascarillas N-95 pueden servir de complemento valioso a medidas de seguridad y ambientales de control de infecciones. Debido a que la protección respiratoria personal es costosa, es sumamente apropiada para uso en áreas de alto riesgo en el entorno de hospitales (Coffey et al 2002)

Hay diferencias importantes entre una mascarilla quirúrgica y una mascarilla N-95. Las mascarillas como los cubre bocas quirúrgicas (de tela o papel) Ver figura N°

- Evitan la propagación de los microorganismos de la persona que lo lleva puesto (por ejemplo, el cirujano, el paciente tuberculoso, etc) a otros mediante la captura de las partículas húmedas grandes cerca de la nariz y la boca
- No proporcionan protección a la persona que las llevan puestas (por ejemplo personal de salud, paciente miembro de la familia) contra la inhalación de núcleos de gotitas infecciosos en el aire (Regulations, 2015)

Para proteger al PS de los núcleos de gotitas transportados por el aire de *Mycobacterium tuberculosis*, se necesita un dispositivo respiratorio protector con la capacidad de filtrar una partícula de 1 micrómetro. Las mascarillas N-95 son un tipo especial de máscara que proporcionan dicho nivel de filtración y se colocan de manera ajustada sobre la cara para evitar fugas en torno a los bordes. Ver Figura N°16. Si la mascarilla N-95 no se coloca correctamente, los núcleos de gotitas infecciosos pueden ingresar fácilmente a las vías respiratorias de las personas, dando lugar potencialmente a infecciones. Usualmente se recomiendan respiradores con una eficiencia del filtro de al menos 95% para partículas de 0,3 micras de diámetro para uso por el PS (OMS, 2015). Los respiradores son desechables pero pueden reutilizarse en varias ocasiones durante varios meses si se guardan adecuadamente. Los respiradores deben ser usados por todo personal que ingresa a áreas de alto riesgo tales como salas de broncoscopia, salas para la provocación de la formación del esputo y centros de autopsia (Coffey et al 2002)

Otro aspecto de seguridad para los centros nosocomiales son las cabinas de bioseguridad. Hay dos tipos generales de gabinetes de bioseguridad. La clase I del gabinete de bioseguridad protege al operario y el ambiente de trabajo de la exposición a un aerosol mediante la atracción de aire al interior, no protege de la contaminación. El aire se expulsa

al exterior o se filtra y recircula en la habitación. Los filtros necesitan mantenimiento, los gabinetes más prácticos y seguros simplemente extraen aire al exterior, lejos de las ventanas, personas o áreas en las que el aire puede retornar al edificio. La extracción del aire al exterior produce presión negativa en el laboratorio en relación con el entorno. El diseño del gabinete de bioseguridad debe ser tal que la velocidad en el gabinete sea de 0,35-0,45 m/seg. Demasiada velocidad induciría turbulencia y la posibilidad de que el aire contaminado fluya fuera del gabinete de bioseguridad. Velocidad muy baja tal vez no sea suficiente para extraer del gabinete los microorganismos aeróbicos (Granich, Binkin, Rieder & Transmisibles, 2002). Independientemente del tamaño del establecimiento de asistencia sanitaria, debe realizarse una evaluación del riesgo del PS, con respecto a la infección por *Mycobacterium tuberculosis*, como primer paso para mejorar el control de infecciones por tuberculosis.

1.5.1- Situación de exposición del personal de salud a *Mycobacterium tuberculosis* en Panamá

A pesar de la existencia de todas estas medidas de control ambiental y para el PS establecidas por las diferentes organizaciones mundiales para la prevención y control de la tuberculosis, existe un desconocimiento en nuestro país de la infección latente producida a nivel de los centros nosocomiales. Falta de información acerca de la forma de contagio a nivel ambiental y la falta de capacitación al PS del uso correcto de los equipos de protección personal. Unido a esto en los centros hospitalarios no cuentan con programas de atención especializada para pacientes con posibles síntomas de tuberculosis ni con infraestructuras correctas para manejar a esta población ya sean sin diagnóstico o aquellos pacientes que ya poseen un diagnóstico positivo para la tuberculosis. Los escasos recursos de los centros hospitalarios para abastecer de medicamentos y de nuevas técnicas que detecten a tiempo la infección y para evitar el paso de una infección latente a una enfermedad. La falta de interés en nuestro país por crear planes de monitoreo microbiológicos ambientales en los centros hospitalarios convierte al PS y al personal no clínico que laboran en estos centros con grado de exposición a tuberculosis en poblaciones vulnerables.

1.6- Tuberculosis en el personal de salud

El PS lo constituyen todas las personas remuneradas y no remuneradas que trabajan en centros de atención de la salud que tienen el potencial de exposición a *Mycobacterium tuberculosis* a través del espacio aéreo compartido con las personas con la enfermedad infecciosa de la TB. Todos el PS que tienen deberes que implican el contacto cara a cara con los pacientes con enfermedad de la TB sospechada o confirmada (incluido el personal de transporte) Transmisión asociada con la atención sanitaria de *Mycobacterium tuberculosis* se ha relacionado con el contacto cercano con personas con enfermedad durante generación de aerosoles, incluyendo la broncoscopia, intubación endotraqueal, succión. Otros procedimientos respiratorios como irrigación de absceso abierto la autopsia, la inducción de esputo, y tratamientos de aerosol que inducen la tos (D'Agata, Wise, Stewart & Lefkowitz 2001). Los trabajadores sanitarios que están en riesgo son los administradores o gerentes, personal de broncoscopia, administrativos, programadores de computadoras, personal de construcción, los oficiales de las correccionales, personal de reparación, personal dental, nutricionista o personal de la dieta, ingenieros, el personal del servicio de alimentos, los asistentes de salud, el personal de salud y seguridad, servicio de limpieza y de custodia personal. Otros grupos como enfermeras, personal del refugio para personas sin hogar, el personal de control de infecciones, personal de mantenimiento, personal de la Morgue. El interés para eliminar la transmisión de la tuberculosis (TB) en establecimientos de salud está creciendo en importancia debido a la asociación entre la tuberculosis y el VIH y la aparición de TB resistente a múltiples fármacos (MDR-TB). El VIH es un factor de riesgo para el desarrollo de TB (Buregyeya et al, 2013). Además de la reactivación de infección latente de tuberculosis (ILTb). El VIH aumenta el riesgo de la progresión de la TB después de la infección o re-infección. De igual forma, el riesgo de transmisión de la TB en las instalaciones de salud de las personas con TB a otros pacientes y personal está bien documentado. Pacientes con TB son ingresados en los centros de salud, que no cuentan con medidas de control de infecciones eficaces. La situación se agrava por el creciente número de pacientes, sin las correspondientes expansiones de las infraestructuras de los centros de salud. Además de que no se aumenta la contratación de

personal, lo que lleva al hacinamiento de los pacientes retraso en el diagnóstico y el tratamiento, en aumento de la transmisión de la tuberculosis. Otro desafío al que se enfrentan es el impacto de la doble TB y la epidemia de VIH. Los casos crecientes de MDR han estimulado la necesidad de fortalecer la prevención y control en los establecimientos de salud así como la tuberculosis en entornos comunitarios (Buregyeya et al. 2013)

1.7 – Recuperación *Mycobacterium tuberculosis* en el aire

Existen diferentes y diversas metodologías para determinar la exposición a *Mycobacterium tuberculosis*. Estas metodologías pueden ser directas para obtener al organismo del medio ambiente, indirectas utilizando métodos dirigidos al organismo afectado. También puede ser pasivo en donde se obtiene al organismo por sedimentación natural del aire en medios de cultivo y activas que se basan en el pasaje forzado del aire, mediante una bomba de aspiración hacia los medios de cultivos.

Los métodos más usados incluyen

- **Sedimentación** Este método pasivo consiste en ubicar platos de Petri, conteniendo medio de cultivo específico para *Mycobacterium tuberculosis* en aquellas zonas escogidas para el muestreo. Tras el periodo de muestreo se recogen las placas y se procesan según las técnicas analíticas microbiológicas más apropiadas (Vadrot, Bex, Mouilleseaux, Squinazi, & Darbord, 2004, Zlotro et al. 2015)
- **Recogida en medio acuoso (impingement)** Este método de recogida en medio acuoso consiste en hacer borbotear un volumen de aire a través de una solución isotónica contenida en un frasco lavador y la posterior determinación cuantitativa por los métodos microbiológicos habituales (International Organization for Standardization (ISO), 2003)
- **Filtración** Consiste en filtrar un volumen de aire a través de filtros de gelatina incubándolos posteriormente sobre medios de cultivo específicos para *Mycobacterium tuberculosis* Sección 1.8 (P. D. Paul A. Jensen et al. 1998)
- **Recolector de Andersen** Este método de impingement de un volumen de aire es forzado a pasar a través de 6 niveles en los que se encuentran placas con medio

de cultivo La velocidad del aire aumenta de nivel en nivel consiguiendose una separacion por tamaño de particula

- **Impactacion** Este metodo activo SAS (Surface Air System) se basa en el pasaje forzado del aire , mediante una bomba de aspiracion que se basa en la retencion de microorganismos libres o de microorganismos acrotransportados, adheridos a particulas de polvo, en placas conteniendo medios de cultivo especificos para *Mycobacterium tuberculosis* Seccion 1 8 (P D Paul A Jensen et al , 1998) Tiene la ventaja de que el volumen de aire de muestra es superior a los sistemas pasivos por tanto la sensibilidad del metodo es mayor pudiendose obtener mejores promedios diarios de concentraciones de contaminantes Existen diferentes equipos de impactacion para muestreos ambientales Ver tabla Nº 16

El uso del muestreo de aire debe tener en cuenta algunos puntos no favorables, como por ejemplo, los resultados solo representan la calidad del aire interior en los puntos de muestreo y no en la totalidad del centro de salud Estos muestreos pueden verse afectadas por una variedad de factores incluyendo a) trafico interior , b) los visitantes que entren a la instalacion, c) la temperatura, d) el momento del dia o del año e) la humedad relativa f) la concentracion relativa de particulas u organismos y g) el rendimiento de los componentes del sistema de manejo de aire (Centers for disease control and prevention , 2003) Varios instrumentos mencionados anteriormente estan disponibles para el muestreo de bacterias y hongos en el aire Algunos de los instrumentos son unidades autonomas que solo requieren una fuente de alimentacion y el medio de recogida especificos, pero la mayoria requieren equipo adicional auxiliar (por ejemplo, una bomba de vacio y un dispositivo de medicion de flujo de aire) Metodos de sedimentacion o deposicion utilizan placas y por lo tanto necesitan instrumentos o equipos especiales (P D Paul A Jensen et al 1998)

Los resultados del muestreo de sedimentacion, a diferencia de los de impactacion, se expresan normalmente como numero de particulas viables o bacterias viables por unidad de area por la duracion de tiempo de muestreo (es decir, UFC / area / tiempo) Sin embargo, este metodo no puede cuantificar el volumen de aire muestreado Por ello,

la supervivencia de los microorganismos durante el muestreo de aire es inversamente proporcional a la velocidad a la que se toma el aire en el muestreador. Una de las ventajas de la utilización de una placa de sedimentación es su dependencia de la gravedad para llevar organismos y partículas en contacto con su superficie aumentando así el potencial para la supervivencia óptima de los organismos recogidos. Este proceso, sin embargo, lleva varias horas para completarse y puede ser poco práctico para algunas situaciones en las cuales se requiere abarcar mayor cantidad de áreas en menos tiempo (Cole & Cook, 1998)

1.8 - Cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*

Estos métodos emplean medios sólidos y líquidos como lo son los medios Löwenstein-Jensen, Kirchner, Middlebrook (7H9, 7H10 y 7H11), Ogawa Kudoh (OK), Stonebrink (STG). Los medios sólidos pueden basarse en huevo o agar, además de contener suplementos antibacterianos que impidan o disminuyan el crecimiento de la microbiota acompañante. Estos requieren cuatro a ocho semanas en promedio para la detección del crecimiento de las micobacterias. La identificación a nivel microscópico es un procedimiento simple, es una observación directa de patógenos y puede diferenciar organismos distintos morfológicamente. Presenta las siguientes desventajas: 1 - Es un procedimiento lento, 2 - laborioso, 3 - tedioso. La identificación en forma microscópica solo es posible en casos muy específicos. Es de baja sensibilidad. Se requiere contar con equipo muy especializado para la identificación a nivel microscópico de algunos microorganismos. La estructura de un microorganismo puede cambiar debido a la influencia del medio ambiente, y se requiere de una gran experiencia para poder diferenciar una especie de otra a nivel microscópico (Aguilar-González, Ayala-Labarríos, Rocha-Revilla, Padilla-García, & Espinosa-Hernández, 2009). La identificación de patógenos por medio de tinciones o del desarrollo del patógeno en un medio de cultivo específico, puede detectar un amplio rango de variantes, no requiere de equipo muy sofisticado, son pruebas fáciles de realizar. Sin embargo, presenta las desventajas de que el tiempo para identificar un microorganismo puede ser muy largo (en algunos casos hasta de 25 días). Además se requieren un gran número de pruebas para estar seguro de la identificación del patógeno (una sola prueba no es suficiente en la

mayoría de los casos) Debido al uso de diferentes pruebas, los laboratorios requieren una amplia gama de reactivos. Esta situación incrementa el costo de la prueba significativamente. Otros procedimientos como el cultivo *in vitro* e inoculación en ratones son técnicas costosas y los patógenos pueden presentar diferencias en infectividad dependiendo del hospedero (Rodríguez-Herrera, *et al* 2009). En estos casos pueden ser de utilidad los nuevos métodos de diagnóstico o métodos indirectos (Paul A. Jensen *et al*, 1998; Srikanth, Sudharsanam, & Steinberg, 2008).

19 - Métodos indirectos

Prueba de PPD

La prueba de la tuberculina es una técnica normalizada por la OMS en 1964, que Charles Mantoux presentó en 1908 ante la Academia de Ciencias. Esta prueba se basa en un derivado proteico que evidencia el estado de hipersensibilidad previo del organismo frente a dicha sustancia. En la actualidad la PPD se obtiene tras el filtrado de cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* esterilizado y concentrado.

Esta prueba consiste en la inyección intradérmica de un complejo de antígenos (derivado proteico purificado o PPD) de *Mycobacterium tuberculosis* en el antebrazo. Si hay presencia de una infección previa con *Mycobacterium tuberculosis* se dará una reacción de hipersensibilidad retardada a los componentes antígenicos, lo que conlleva a una induración alrededor del sitio de inoculación. Por este método, se inyectan 5 unidades de tuberculina y 48-72 horas más tarde se lee el diámetro de la induración en mm. El punto de corte de induración depende del estado inmunológico del paciente y de la vacunación previa con bacilo Calmette-Guérin (BCG). Una prueba con resultado positivo la induración va desde 10-15 mm, según el estado inmunológico del paciente o vacunación previa, determina si hay infección con *Mycobacterium tuberculosis* y el grado de riesgo de desarrollar la enfermedad (Centers for Disease Control and Prevention, 2000). La prueba tuberculina es una prueba diagnóstica que es indicada en personas convivientes con enfermos con tuberculosis, con radiografía de tórax con resultados de posible tuberculosis, personas con sospechas clínicas de la enfermedad. En otras condiciones como personas con VIH, adicción a drogas, marginados sociales, extranjeros procedentes de países de alta incidencia, como método de control. En aquellas personas que están frente a un riesgo social

ambiental, cuidadores de guarderías, docentes, personal sanitario y carcelario y encargados de proyectos epidemiológicos

La prueba de PPD se ha utilizado en todo el mundo durante más de un siglo como ayuda en el diagnóstico de la TB. Teniendo las siguientes ventajas

- Tiene un bajo costo adquisitivo para los centros hospitalarios y programas de control de la tuberculosis
- No requiere de adecuaciones especiales ni grandes infraestructuras para su aplicación
- Tiene una alta eficiencia en niños menores de 5 años
- La segunda visita para revisión de la induración permite una evaluación de profilaxis al paciente

Sin embargo han ido aflorando desventajas en el uso de esta prueba tales como

- La PPD está constituida por antígenos que no son específicos de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. bovis*, *M. avium*) lo que pudiera dar como resultado falsos positivos
- Infecciones en la formación de la induración
- Individuos vacunados con BCG pueden crear falsos positivos
- Individuos con tratamientos con fármacos que disminuyan la respuesta inmunitaria
- En edades menores a los 6 meses por inmadurez del sistema inmune se pueden dar respuestas inadecuadas a la tuberculina, al igual que en edades avanzadas la respuesta inmune se debilita originando falsos negativos
- Una de las más frecuentes, las diferencias en la metodología de medición e interpretación de la induración (Cravotto & Limongi, 2012)

Existen nuevas herramientas que evitan la subjetividad en la interpretación de los resultados por personal no entrenado, obteniendo resultados rápidos sin esperar una segunda visita y sin verse afectados por la vacunación de BCG. Estas herramientas son de fácil estandarización en el laboratorio y están basadas en biomarcadores

1.10- Biomarcadores

Diferentes tipos de enfermedades humanas se relacionan a la exposición a agentes ambientales y constituyen un elemento determinante en la aparición y desarrollo de

alteraciones en la salud como carcinogenesis, teratogenesis, genotoxicidad, nefrotoxicidad, neurotoxicidad o inmunotoxicidad, entre otros. El riesgo de sufrir deterioro de la salud puede ser examinado a través del uso de biomarcadores que se desarrollan como respuesta en el hospedero y se expresa como resultado del efecto de una exposición (Arango V n d). Los biomarcadores son parámetros biológicos que proveen información sobre el estado normal o patológico de un individuo o una población. Son utilizados para comprender algunas enfermedades en aspecto como el tratamiento, prevención diagnóstico y progresión de la enfermedad, respuestas a la terapia evaluación experimental toxicológica de medicamentos o pesticidas, medición de riesgo ambiental y epidemiológico, además de evaluación de la intervención terapéutica, entre otros. El crecimiento de la tecnología, han aumentado la utilización de biomarcadores moleculares en las investigaciones clínicas, toxicológicas y epidemiológicas, al ofrecer una y dinámica herramienta para la evaluación de riesgos en salud pública y de los ambientes laborales. Entre los biomarcadores se pueden diferenciar tres tipos:

1 Biomarcador de exposición el cual evalúa en un organismo la presencia de una sustancia exógena, un metabolito o el producto de la interacción entre el agente xenobiótico (compuestos naturales o sintéticos del ambiente que el organismo metaboliza y acumula) y una molécula o célula diana (excreciones metabólicas de orina, aductos de ADN, aductos de albumina, aductos de hemoglobina)

2 Biomarcador de efecto el que evalúa la alteración bioquímica fisiológica o de comportamiento producida en el organismo que puede ser asociada con una enfermedad (Recuento de eritrocitos, leucocitos, trombocitos inhibición de enzimas del grupo HLMO, niveles de proteínas en orina, marcadores de citotoxicidad niveles de células necróticas niveles de anticuerpos)

3 Biomarcadores de Susceptibilidad es un indicador de la capacidad heredada o adquirida de un organismo para responder a la exposición a una sustancia xenobiótica (Polimorfismos de enzimas, polimorfismos de glutatión transferasa, polimorfismos genéticos)(Arango V n d)

1.11 – Tuberculosis e infección latente

La exposición a *Mycobacterium tuberculosis* presente en el ambiente puede causar una infección latente (ILT) y luego la tuberculosis (TB). Ambas condiciones pueden ser producidas principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* pero también por *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* y *Mycobacterium microti*. Una vez ingresan los bacilos al tracto respiratorio al ser inhalados la enfermedad depende del establecimiento y de la proliferación de bacilos virulentos y de la propia respuesta del huésped. Cuando la bacteria alcanza el pulmón pueden desencadenarse cuatro escenarios que incluyen primero una respuesta inicial del hospedero que permite matar a todos los bacilos efectivamente, por lo tanto la persona no desarrolla tuberculosis (Richeldi, 2009). Luego el microorganismo comienza a multiplicarse inmediatamente después de la infección, causando una TB primaria, el bacilo llega y se establece pero no causa enfermedad, alcanzando un 'equilibrio' con el huésped, tales pacientes tienen una enfermedad latente y finalmente estos microorganismos latentes pueden eventualmente crecer y causar la enfermedad de TB reactiva cuando se rompe ese equilibrio (Schluger & Rom, 1998). La ILTB es intrasmisible pero permanece en los individuos por varios años. Cuando la enfermedad tuberculosa estalla el paciente desarrolla diversos síntomas que pueden ser leves o imperceptibles por muchos meses, incluso años. Debido a ello las personas tardan en buscar asistencia médica y en este lapsus se convierten en transmisores de la bacteria (Schluger & Rom, 1998). Ver tabla N° 2.

Un individuo en contacto con TB puede ser o no ser infectado, dependiendo del grado de exposición y de los mecanismos inmunológicos innatos del huésped. Un porcentaje importante, que se estima en alrededor del 60%, a pesar de la exposición a la fuente de contagio no desarrolla nunca una respuesta inmunológica. La explicación de este hecho es desconocida. Cuando ocurre la infección el sujeto puede controlarla o por el contrario la infección puede sobrepasar sus mecanismos defensivos y progresar a enfermedad. Si controla la infección puede eliminarla completamente sin dejar huella o quedar con algunos bacilos vivos sin que estos logren ser eliminados completamente, pero sin capacidad de producir enfermedad. Los portadores de esta infección controlada tienen lo que denominamos una infección latente: tienen respuesta inmunológica al bacilo tuberculoso, pero no están enfermos. De todos los individuos que son infectados, solo un 10 % progresa

a enfermedad y la mayoría lo hace en los primeros años que siguen a la infección. Un 15% de los que enferman, es decir un 1,5% de los infectados hace una enfermedad grave. Si lo expresamos en números, de 100 expuestos, 40 se infectarían y 4 de estos enfermarían de tuberculosis y uno de cada 8 de estos enfermos desarrollaría una TB grave.

1.12 - Interferon gamma

En 1957 Isaacs y Lindenmann descubren una familia de proteínas con actividad antiviral que es secretada como respuesta inmunitaria, siendo estas las primeras citoquinas descritas terapéuticamente. Actualmente existe un alto conocimiento sobre su estructura bioquímica, codificación y regulación genética. Existen diversas anomalías genéticas ya descritas que han permitido utilizarlo como un agente terapéutico para enfermedades humanas. El interferón gamma es un pilar en la protección del hospedero contra enfermedades producidas por bacterias, virus, parásitos, hongos, así como para la eliminación de células malignas. Existen tres tipos de interferones:

- Los interferones del tipo I o clásicos se dividen en cuatro clases ($IFN\alpha$, $IFN\beta$, $IFN\omega$ e $IFN\tau$). Estos interferones son proteínas importantes de la inmunidad innata, son producidas en respuesta a la infección viral, tienen capacidad anti proliferativa, efectos inmunomoduladores y actividad antitumoral.
- Los interferones del tipo III fueron recientemente descritos, son los $IFN\lambda 1$, $\lambda 2$, $\lambda 3$. Estos interferones se diferencian del tipo I porque se unen a distintos receptores de membrana ($IFNLR$ y $IL10R2$).
- Los interferones tipo II corresponden al interferón gamma ($IFN\gamma$) o interferón inmune. Es producido por linfocitos T $CD4+$, $CD8+$, células $T\gamma/\delta$ y por células NK en respuesta a algún estímulo inmune o inflamatorio. Se ha demostrado que las células mieloides (células dendríticas, macrófagos y neutrófilos) también son capaces de producir $IFN\gamma$ a través de la estimulación con interleucina (IL)-12 e IL-18 (Schluger & Rom, 1998).

1 12 1 - Funcion de interferon gamma

El interferon gamma es el representante de los interferones de tipo II que se caracterizan por tener como receptor al IFNGR (interferon gamma receptor) El interferon gamma es producido por linfocitos CD4+ de tipo Th1 linfocitos CD8+ y células NK y existen evidencias de que también las células B, las NKT y las células presentadoras de antígeno (APC) son capaces de producirlo El interferon gamma (IFN γ) es una de las citoquinas más característica del perfil Th1 La producción de IFN γ es controlada por citoquinas secretadas por APCs especialmente por la interleucina 12 (IL-12) y la interleucina 18 (IL-18) La función del interferon gamma está centrada en la intervención del macrófago en la inflamación y en la inmunidad adquirida durante la infección El interferon gamma se encarga de orquestar la respuesta de los macrófagos y además también dirige la atracción de leucocitos y el crecimiento, maduración y diferenciación de muchos tipos celulares, refuerza la actividad de las células NK (Natural Killer) y regula la función de las células B

1 12 2 - Respuesta inmune

El proceso de respuesta inmune inicia cuando los macrófagos reconocen los antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* *Early Secreted Antigenic Target-6* (ESA1-6) y el *Culture Filtrate Protein-10* (CFP-10) Estos son antígenos inmunodominantes secretados tempranamente por *Mtb* se encuentran dentro de la región de diferencia 1 (RD1) de su genoma y están ausentes en *M. bovis* BCG, *Mycobacterium avium* y la mayoría de las mycobacterias no tuberculosas (Abdallah et al , 2007, Bottai & Brosch 2009) Los antígenos ESA1-6 y CFP-10 han demostrado que estimulan una potente respuesta celular, caracterizada por elevados niveles de IFN γ y que protegen contra la infección por *Mtb* (Pimentá-Rodríguez, Rodríguez-Valdes Sarzo-Gómez, & Vallín-Plou 2012) Ver tabla N^o4

Aproximadamente en el 5% de los individuos inmunocompetentes, existe el riesgo de que la enfermedad progrese a enfermedad activa Mientras que un 90% de los individuos inmunocompetentes con tuberculosis latente permanecen como individuos sanos, sin síntomas a lo largo de toda su vida desarrollando una respuesta inmune pero el bacilo permanece indefinidamente en el huésped El proceso de respuesta inmune innata inicia con

el reconocimiento de estructuras moleculares como lipoarabinomano (LAM) lipoproteína de 19kDa y glicoproteínas distribuidas en las micobacterias por receptores como los TLR (*toll like receptors*) que inducen a moléculas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y óxido nítrico (NO) los cuales contribuyen a la muerte de los microorganismos, induciendo así la activación de la respuesta adaptativa atrayendo linfocitos T al sitio de la lesión produciendo citosinas y quimiocinas. En el área alveolar los mecanismos innatos de defensa involucran a diferentes tipos celulares como macrófagos alveolares (MA), células dendríticas, neutrófilos, linfocitos B, células epiteliales, células alveolares tipo I y tipo II y factores solubles como mucina, lisosima, lactoferrina, surfactantes, defensinas, catelicidinas, fosfolipasa A₂, inmunoglobulinas y proteínas del complemento y tienen como función eliminar la mayor cantidad de bacterias del tracto respiratorio (42, 43,44). Mientras el proceso de inmunidad innata se da *Mycobacterium tuberculosis* utiliza otras vías dentro del macrófago y promueve su propia fagocitosis a través de diferentes receptores presentes en la superficie de los macrófagos. Estos receptores son los receptores para Fe, receptores de complemento como CR1 y CR3/CR4, receptores de manosa, y receptores para la proteína surfactante A. Dependiendo de la vía que siga el bacilo dentro del macrófago así será su destino. Si entra a través de los receptores Fe de las micobacterias opsonizada induce la producción de intermediarios de oxígeno y favorece la fusión fagosoma-lisosoma pero si su entrada es a través de CR3 inhibe el estallido respiratorio y no hay maduración de los fagosomas. El proceso de fagocitosis es dinámico en donde el bacilo es destruido por mecanismos bactericidas y proteolíticos de los macrófagos originando péptidos y otros antígenos. Los antígenos micobacterianos de naturaleza proteica son acoplados a moléculas del complejo de histocompatibilidad tipo I (MCH I) y presentados por los macrófagos a linfocitos T CD8⁺, o bien, acoplados a moléculas del complejo de histocompatibilidad tipo II (MCH II) y presentados a los linfocitos T CD4⁺, mientras que los antígenos de naturaleza glicolipídica (fosfatidil manosidos, lipoarabinomananos, ácidos micólicos hexosil-1-(α -fosoisoprenoides)) son acoplados con moléculas CD1 y presentados a los linfocitos CD8⁺ y dobles negativos (CD4⁻CD8⁻). El control inmunológico de la infección con *M. tuberculosis* se basa en una respuesta inmune de tipo celular que se caracteriza por la producción de citosinas como IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 y IGF- β s y quimiocinas como IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-18, TNF- α .

RANILS MCP-1, MIP-1 α e IL-8 Estas diferentes poblaciones celulares y mediadores solubles en su conjunto forman una compleja red de señales que participa en el control de esta enfermedad (43, 42 44) Es importante conocer la función de cada uno de estos elementos que forman parte del sistema de defensa contra *Mycobacterium tuberculosis*

1 13 - QuantiFeron TB- Gold - In Tube

Una de las pruebas que se utilizaban para diagnosticar la infección de tuberculosis latente (ITBL) era la prueba cutánea de tuberculina (PPD) Para el año 2001, una nueva prueba (QuantiFERON®-TB o la QFT fabricados por Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) que mide la liberación de interferón-gamma en sangre fue aprobada por la Food and Drug Administration En el año 2004, la FDA aprobó la segunda generación de este test diagnóstico, denominada QuantiFeron-TB Gold, en donde los antígenos utilizados son más específicos y son el *Early Secretory Antigen Target* (ESAT-6) y el *Culture Filtrate Protein 10* (CFP-10) Estas 2 moléculas, codificadas por la región RD-1 del genoma del *Mycobacterium tuberculosis* están ausentes en todas las cepas que contienen la vacuna de la BCG y en la mayoría de las micobacterias no tuberculosas a excepción de *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum* Ver Figura Nº 14 La importancia de estos antígenos en el diagnóstico de la TB está basada en que solo *M. kansasii* puede ser responsable de una enfermedad parecida a la TB Pero *M. kansasii* es una micobacteria con una frecuencia muy baja de recuperación ambiental, constituyendo solo el 0,5% de los aislamientos de las micobacterias ambientales (Andersen, Munk, Pollock, & Doherty, 2000) Al analizar el papel del antígeno ESAT-6 en la respuesta inmune de individuos expuestos a *Mycobacterium tuberculosis* un 60 y el 80% de estos individuos responden, estimulación de la producción de IFN-g por parte de los linfocitos T Comprobándose que la combinación de ESAT-6 con CFP-10 aumenta aún más la sensibilidad de la prueba para determinar activación de linfocitos en pacientes enfermos

1 13 1 Principios del ensayo

El principio de estos nuevos ensayos está basado en la cuantificación de la respuesta inmune utilizando antígenos micobacterianos para estimular las células T sensibilizadas y la medición in vitro de la liberación de interferón gamma Estas células T

detectadas en forma invitro van a corresponder a células efectoras que han estado en contacto recientemente con el antígeno y se encargan de la liberación de interferón gamma cuando se ven expuestas nuevamente al mismo

La credibilidad y aprobación de esta prueba es debido a que se utilizan a ESAT 6 CI P10 como antígenos de estimulación codificados en la región RD1 de *Mycobacterium tuberculosis* y ausentes para BCG *M bovis* y la mayoría de las micobacterias ambientales (Ver Tabla Nº 4) Teniendo este método una gran capacidad de detectar individuos realmente infectados por *Mycobacterium tuberculosis* y no falsos positivos por pacientes vacunados con la BCG o por infección de micobacterias ambientales (Richeldi, 2006) Estas pruebas requieren la producción de interferón gamma en tres situaciones

- Exposición del plasma a los antígenos micobacterianos
- Exposición a heparina y a fitohemaglutinina (control negativo)
- Exposición a estimulador inespecífico de activación linfocitaria en condiciones normales (control positivo o mitógeno)

Una de las ventajas de esta prueba radica en que es una estimulación *in-vitro* de los linfocitos T y no hay producción de un efecto Booster como ocurre con la PPD ya que cada estimulación se realiza en un plasma nuevo extraído al paciente y no expuesto con anterioridad a los antígenos (Richeldi, 2006)

1 14 - Estadística de tuberculosis

1 14 1- Situación mundial de la tuberculosis

La tuberculosis es la segunda causa mundial de muerte, después del sida a nivel mundial, producida por un agente infeccioso conocido como *Mycobacterium tuberculosis* En 2013, 9 millones de personas enfermaron de tuberculosis y 1,5 millones murieron por esta enfermedad En los países de bajos ingresos es una de las principales causas de muerte a corto, largo y mediano plazo Las edades con mayor mortalidad oscilan entre los 15, 44 y 65 años La incidencia infantil también es de gran preocupación ya que en el 2013 se logró captar que alrededor de 550 000 niños enfermos de TB y más 80 000 presentaban VIH La cuarta parte de los enfermos de VIH mueren a causa de la tuberculosis unido a esto el desarrollo de multirresistentes ha llegado alrededor de 48 000 personas a nivel mundial Una de las principales metas de la OMS a nivel mundial para el año 2015, es que

con todo el sistema operativo y esfuerzo de los diferentes países los casos de TB disminuyan más del 45% logrado en el 2013 (OMS 2015) Ver tabla N°2

1 14 2- Situación de la tuberculosis en las Américas

Se estima que en el año 2011 se produjeron unos 268,400 casos nuevos de TB en las Américas, lo que equivale a 28 casos por 100 000 habitantes. En México se produjeron 26,000 casos nuevos de TB en el 2011 más de la mitad (58%) de los 44 900 casos nuevos de TB estimados para toda la subregión. Los restantes casos se resultaron en Guatemala (9 000 20%), Honduras (3 400, 7,6%), Nicaragua (2 400, 5 3%), y los siguientes países: El Salvador, Panamá, Costa Rica y Belice (en conjunto, 4 100 casos, 9,1%). La incidencia estimada de TB fue más alta en Guatemala (61 por 100 000) y Panamá (48), y más baja en Costa Rica (12) y México (23) Ver Figura N°2 y N°3

1 14 3 - Estadísticas de tuberculosis en Panamá

En Panamá en el 2012 se reportó un total de 1465 casos de TB. Dentro de las áreas de mayor incidencia de casos esta en primer lugar la Comarca Guna Yala seguido por Bocas del Toro, Comarca Ngöbe Bugle, Colon, Panamá Este Ver figura N°4

1 15- Hipótesis

Existe riesgo de exposición ambiental al *Mycobacterium tuberculosis* en el personal de salud de la Provincia de Colon

1 16- Objetivos

General

Evaluar el riesgo de exposición ambiental a *Mycobacterium tuberculosis* en el personal en dos hospitales de la Provincia de Colon a través de muestreo ambiental y por biomarcadores

Específicos

1 -Detectar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* en el aire del área hospitalaria en la Provincia de Colon

2 -Determinar la exposicion del personal de salud a *Mycobacterium tuberculosis* en el ambiente del area hospitalaria en la Provincia de Colon

3- Evaluar la eficiencia de Interferon Gamma como biomarcador para la deteccion de exposicion a *Mycobacterium tuberculosis*

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2 0- Entrega de protocolo al Departamento Nacional de Docencia e Investigacion de la Salud

Para la ejecucion de la investigacion, solicitamos la aprobacion del comite de bioetica de la investigacion del Departamento Nacional de Docencia e Investigacion de la Salud de la CSS El protocolo de investigacion fue evaluado y aprobado por la por la jefa del Departamento Nacional de Docencia e Investigacion en Salud la Dra Ingrid Sacz Llorens en enero del 2014 Ver Anexo N°1

2 1 1- Poblacion y muestra

Para este estudio utilizamos una muestra de 200 funcionarios o personal de salud que laboran en el Hospital Amador Guerrero, el edificio de MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero) Centro de Salud de Sabanitas, Centro de Salud Patricia Duncan Centro de Salud de Complejo Hospitalario Manuel Amador Guerrero de la Caja de Seguro Social

2 1 2- Proceso de consentimiento informado y encuesta

Al personal de salud, se le invito a participar voluntariamente del estudio Antes de la toma de muestra cada voluntario leyo cuidadosamente el consentimiento informado donde aceptaba participar del proyecto y se le respondieron todas sus dudas acerca del mismo Ver Anexo N° 2 Luego de esto a cada uno se le aplico una encuesta para recabar datos de importancia para el estudio Ver Anexo N° 3 Una vez terminado este a cada voluntario se le entrego una copia del consentimiento informado, firmado por los responsables del proyecto De inmediato el tecnologo medico procedio a tomar la muestra de sangre

2 2-Preparacion del medio 7H11 para el muestreo ambiental

2 2 1-Agar Middlebrook 7H11

Agar base 7H11 con un aditivo se utiliza para la prueba de aislamiento, cultivo y la sensibilidad de Mycobacterias Para la preparacion del agar Mildebrook 7H11 de tipo comercial se utilizo las recomendaciones del proveedor (Sigma, composicion del medio caseina hidrolizada, sulfato de amonio, fosfato disodico, citrato de sodio, sulfato de magnesio acido L-Glutamico, citrato de amonio ferrico, pyridoxina, biotina, verde de

malaquita) compuestos esenciales para crecimiento de *Mycobacterium*. Además el medio requiere de un aditivo ODAC (albumina, dextrosa, catalasa), la adición de anti fungico cicloexamida, y la adición de glicerol para mejor especificidad

2.2.2- Preparación del aditivo ODAC (albumina, dextrosa, catalasa)

En un vaso químico de 1000 ml coloque 50 ml de agua desionizada más 2.5 g de BSA (albumina de suero bovino), 1.0g de dextrosa, 0.0015g de catalasa y lo agregamos a los 50ml de agua desionizada y se filtro con un filtro de 0.45µm

2.2.3- Preparación del Agar Middlebrook 7H11

Pese 10,25 g de Middlebrook 7H11 agar base en 450 ml de agua destilada, agregue 50 ml del aditivo y 2.5 ml de cicloexamida a una concentración de 20 µg/ml. Servimos de 3 a 5 ml de medio en platos Petri de 94 x 16mm

Control de calidad del agar Middlebrook 7H11

- Al laboratorio de cultivos de TB en Colon le facilite dos platos con el agar 7H11 ya preparado para realizar la prueba de la eficiencia en la preparación del medio para el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*
- Para cada lote de medio preparado se utilizaron dos platos de control que los cuales no debían ser expuestos para verificar que el medio no presentara ninguna contaminación

2.3 - Metodología de muestreo

Se diseñó un modelo experimental para el muestreo ambiental, el cual se realizó en los edificios del Hospital Amador Guerrero de Colon de la Caja de Seguro Social y el edificio de MINSA (antiguo Hospital Amador Guerrero). Las áreas de ambos edificios las clasificamos en tres tipos de riesgo según lo establecido en la literatura. Los niveles de riesgo que establecidos fueron altos, medio y bajo. Ver tabla N°5 y N°6

2.3.1- Toma de muestras ambiental

- Para el muestro ambiental realizamos una evaluación previa del edificio de MINSA y del Hospital Amador Guerrero para planificar y seleccionar las áreas a muestrear según el diseño experimental

- El Hospital Amador Guerrero cuenta con seis pisos de estos el piso 5 es de cirugía de hombre y mujeres y esta área es restringida la cual no pudimos muestrear. El piso 6 es la sala de cuidados intensivos también es área restringida y no tuvimos acceso a muestreo. Los pisos 1, 2, 3, 4 tuvimos acceso para el muestreo lo que abarcó un 70% del Hospital. Las áreas muestreadas fueron las siguientes

 - Cuarto de urgencia general
 - Neumología sala de intensivos
 - Área de procedimiento toma de muestra de esputo
 - Pasillo de sala de espera de Ortopedia y ginecología
 - Áreas de consulta de ortopedia
 - Pasillo de urgencia general
 - Sala de pediatría
 - Recepción general
- El edificio de MINSA consta de tres pisos de los cuales logramos muestrear el 1, 2, 3 lo que correspondía a un 80 % del edificio. En este edificio solo es de atención médica no hay salas de hospitalización, intensivos, ni salas de urgencias. Las áreas muestreadas fueron las siguientes

 - Enfermería
 - Laboratorio de tinción de GB
 - Medicina general y ginecología
 - Odontología
 - Pasillo de asistencia general
 - Laboratorio clínico
 - Recepción general
 - Área de solicitud de cupos
 - Oficina de médicos
- En cada uno de los edificios ubicamos de las tres zonas de riesgo. Para cada zona de riesgo seleccionamos tres áreas (1, 2, 3) para realizar el muestreo ambiental dependiendo de las características de cada una. En cada área realizamos dos muestreos en diferentes fechas y colocamos tres platos replicas (R1, R2, R3) al mismo tiempo. Ver figuras Nº 15, 16

- Los platos fueron colocados por un periodo de 35 a 45 minutos utilizando la tecnica de sedimentacion en plato
- Colocamos los platos evitando que fueran tocados movidos o contaminados Los platos fueron colocados lejos de ventana que dieran al exterior, pisos o fuentes externas de contaminacion
- Una vez culminado el periodo de muestreo los platos fueron tapados y colocados en una incubadora a 37°C por un periodo de 21 dias Este periodo fue necesario para observar el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*
- Al finalizar el periodo de incubacion se realizo el conteo de las colonias y los hongos por cada plato y se reporto el numero de UFC
- Se realizo la revision de los platos para identificar por morfologia de colonias y por tincion de Ziehl-Neelsen la presencia de *Mycobacterium tuberculosis*

2 4 - Tincion de Ziehl-Neelsen

- Tome las colonias con morfologia similar a la de *Mycobacterium tuberculosis*, y en un porta objetos hicimos un extendido en una gota de agua y fijandola con calor Coloque la placa sobre las varillas del puente con el extendido y numeracion hacia arriba Ver figura N°5
 - Cubri completamente la placa con el colorante de carbol fucsina Ver figura N°6
 - Calente la placa con un mechero con alcohol hasta la produccion de vapores visibles Aqui, evitamos que el colorante hierva o este se seque sobre la placa para evitar la formacion de diversos cristales
 - Despues de la emision de vapores, lavamos la placa con agua destilada y dejamos escurrir la placa en forma inclinada
 - Decolore la preparacion utilizando alcohol acido hasta la desaparicion del colorante visible (2 minutos aproximadamente) Ver figura N°7
 - Cubri completamente la preparacion con el colorante de contraste azul de metileno por 1 minuto Ver figura N° 8
- Enjuagamos el azul de metileno con agua destilada y escurrimos la placa a temperatura ambiente Despues de seca la placa colocamos unas gotas de aceite de inmersion sobre el extremo mas cercano del extendido

2.5 - Prueba de interferón gamma

2.5.1- Toma de muestra de sangre.

- A cada uno de los voluntarios el flebotomista le tomó 3 tubos de sangre de 1.5 ml cada uno, en los tubos del Kit de QuantiFeron -TB Gold. Estos incluyen tubos sin antígenos (Tapa Gris), tubos de antígeno TB (tapa roja) tubos de control interno con mitógeno (tapa morada).
- Invertí 10 veces cada tubo y asegurándonos que la sangre recubriera toda la superficie interna del tubo para solubilizar los antígenos de las paredes. (Evitando provocar el rompimiento del gel del fondo de los tubos.).
- Incubé los tubos a 37 °C por 24 horas en forma vertical. En un periodo no mayor de 16 horas después de la toma de la muestra. No refrigere, ni congele las muestras de sangre.
- Centrifugue los tubos a una temperatura de 21°C a 2000g por 10 minutos. El tampón de gelatina separara las células del plasma.
- Tomé el plasma sobrenadante y lo alicuotamos en tubos de 2.0 ml y lo congelamos a -20.

2.5.2 - Preparación de la curva estándar.

- Reconstituí el estándar liofilizado del kit añadiendo el volumen de agua desionizada o destilada que se indica en la etiqueta del frasco del estándar. Mezele con suavidad para evitar la formación de espuma y lograr así una solubilización completa. Después que reconstituí el estándar con el volumen indicado se obtuve una solución con una concentración de 8,0 UI/ml. Nota: el volumen para reconstitución del estándar del kit varía de un lote a otro.
- Utilicé el estándar reconstituido del kit para obtener una dilución en serie de 1-4 de IFN- γ en diluyente verde (GD) Ver figura # 9. La dilución la realice por duplicado. Etiquete 8 tubos con S1, S2, S3, S4 y agregamos 150 μ l

diluyente verde (GD) Agregue 150 µl del estandar del kit al tubo S1 y lo mezclamos bien. Transferi 50 µl del tubo S1 al S2 y luego transferi 50 µl del tubo S2 al S3

2.5.3- Cuantificación de interferon gamma por ELISA

- Para la prueba de ELISA, reconstitui el conjugado 100X concentrado y liofilizado del Kit con 300 µl de agua desionizada o destilada. Mezclamos suavemente para evitar la formación de espuma y lograr así una solubilización completa del conjugado.
- Prepare la cantidad necesaria de conjugado 100X para las 12 tiras de los 96 pocillos de los platos de ELISA. En un tubo coloque 60 µl del conjugado más 6.0 ml del diluyente verde (GD).
- Añadi 50 µl de conjugado recién preparado listo para usar a los pocillos de la placa de ELISA mediante una pipeta multicanal.
- Las muestras de plasma fueron descongeladas y homogenizadas. Luego añadi 50 µl de muestras de plasma a los pocillos correspondientes.
- Elabore un mapa para ordenar las muestras en cada uno de los pocillos rotulando el plasma del tubo nulo con la letra N, el tubo mitogeno con la letra M y el tubo antígeno con la letra A. Ver figura N°10.
- Mezcle el conjugado y las muestras de plasma/estándares durante 1 minuto en un agitador de microplacas. Tape el plato y lo incubamos a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 120 ± 5 minutos.
- Dilui una parte del tampón de lavado 20X concentrado con 19 partes de agua desionizada o destilada y mezclamos bien.
- Al finalizar el periodo de incubación, lave los pocillos con 400 µl de tampón de lavado 6 veces.
- Seque el exceso de tampón de lavado y agregue 100 µl de solución enzimática de sustrato a cada pocillo y mezcle con un agitador de microplacas.
- Tape la placa y la incube a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos alejados de la luz.

- Al culminar los 30 minutos de incubación añada 50 μ l de solución enzimática de parada a cada pocillo y mezclamos
- Mida la densidad óptica (DO) de cada pocillo a los 5 minutos de detener la reacción mediante un lector de microplacas con un filtro de 450 nm

Capítulo III

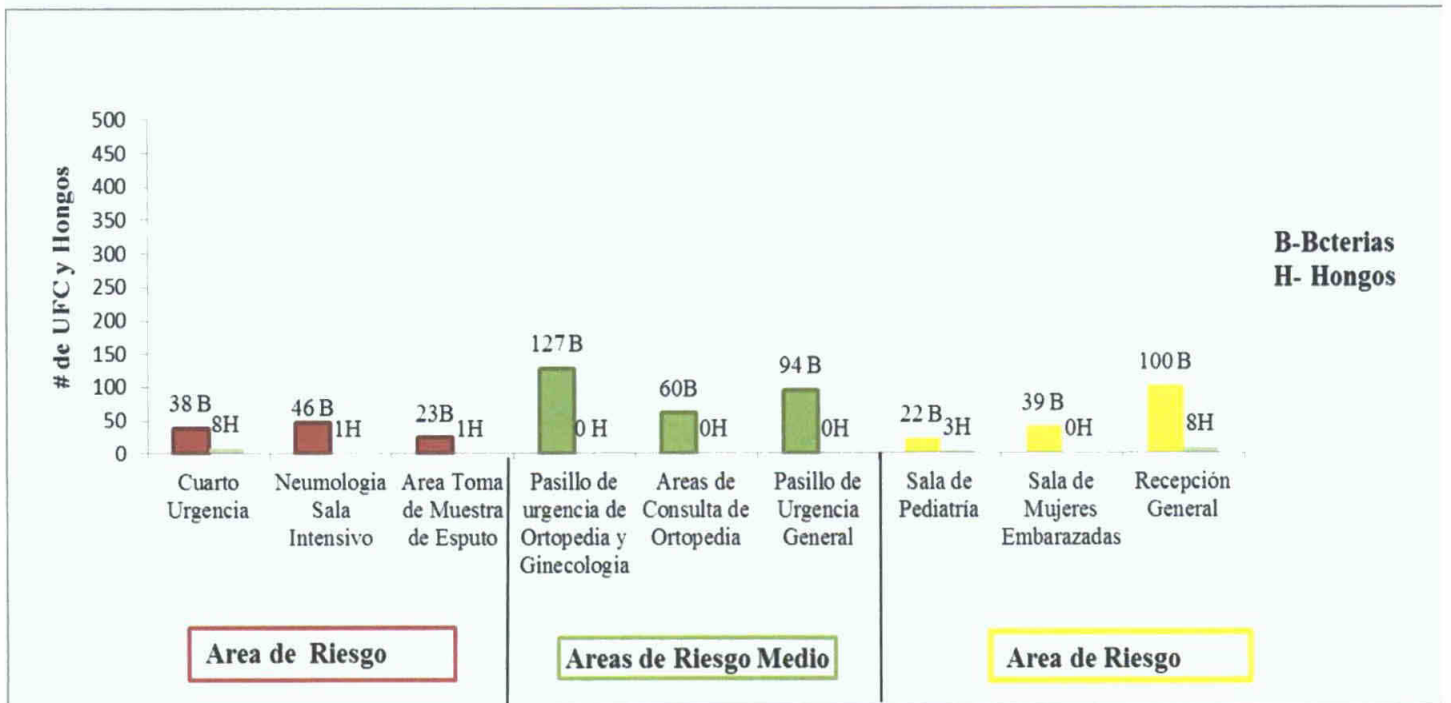
Resultados

3.1-Resultados del muestreo ambiental

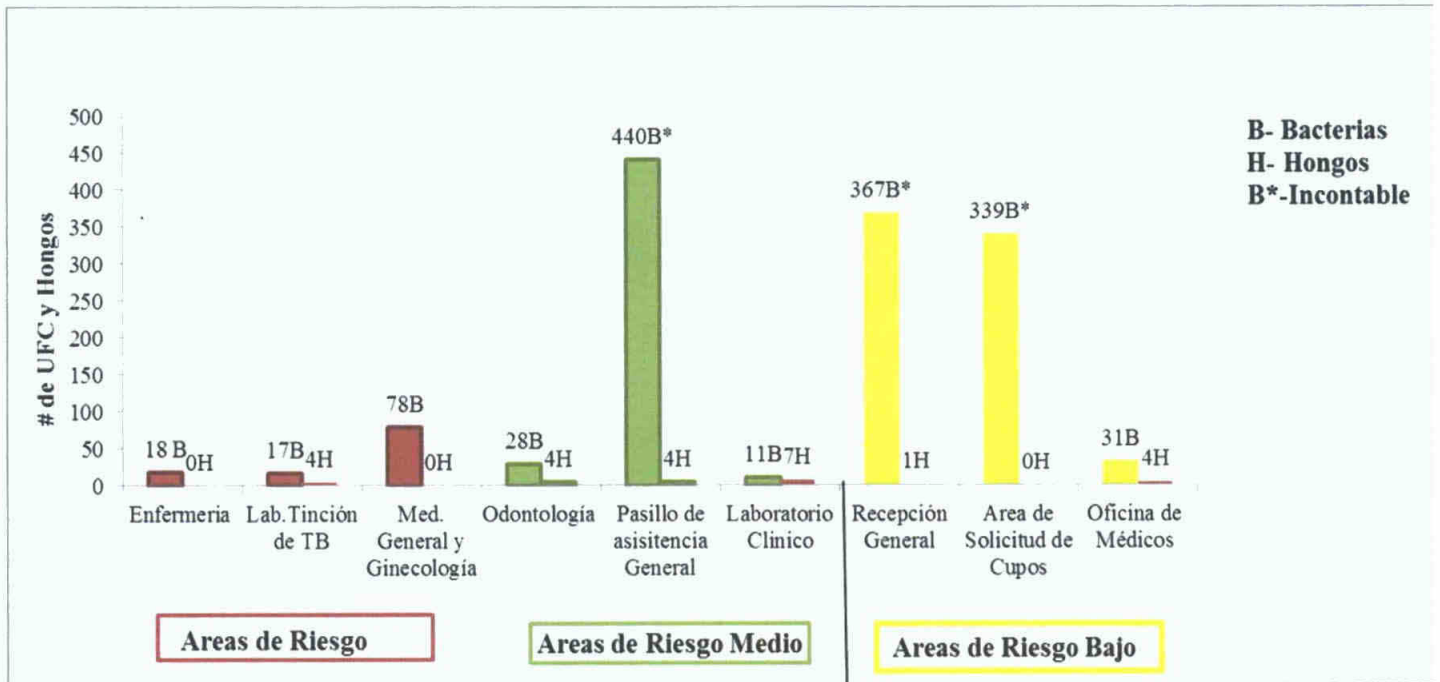
Resultados del muestreo ambiental del edificio MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero) y el Hospital Amador Guerrero.

Para el muestreo ambiental las áreas del edificio MINSA y el Hospital Amador Guerrero fueron clasificadas dentro de tres niveles de riesgo Alto, Medio, Bajo según lo establecido en la literatura. A cada una de las áreas se le realizó dos muestreos y 3 réplicas por área. Cada área tenía tres platos por muestreo distribuidos en la sala. Se muestrearon tres salas por área de riesgo para un total de nueve (9) áreas y 54 platos más dos (2) platos de control. Se promediaron los tres platos y se sacó un número de UFC y de hongos totales por cada sala. Ver las tablas N° 7 y 8. Gráfica N°1, 2.

Gráfica N°1 Promedio del muestreo ambiental del Hospital Amador Guerrero.



Gráfica N°2 Promedio del muestreo ambiental del Edificio de MINSA.



3.1.1-Evaluación física de las infraestructuras de las áreas del muestreo ambiental.

Después de la evaluación física de las áreas de muestreo del Hospital Amador Guerrero y del edificio de MINSA las áreas donde realizamos el monitoreo ambiental pudimos evaluar los siguientes aspectos:

- El espacio físico no es suficiente para la cantidad de personas que son atendidas.
- Las áreas de mucha afluencia de personas como las áreas de espera se encuentra poco ventilada.
- Existen ventanales que permanecen cerrados evitando que se dé una recirculación de aire en estas áreas.
- No hay una buena distribución de las áreas de atención primaria.
- No hay una clara identificación de las áreas de riesgo y grupos pacientes que pueden ser afectados.
- Las temperaturas son bastantes elevadas en la mayoría de las áreas que fueron monitoreadas y por ende hay un aumento de humedad en las horas más calientes del día.

-No existe una cultura en el personal de atención general primaria de utilizar mascarillas de protección (N95) ante posibles pacientes sintomático respiratorio

3.2- Identificación de bacilos alcohol ácido resistente (BAAR)

Durante el muestreo ambiental se obtuvieron diferentes crecimientos en los platos Petri Ver figura N°17,18 , Dentro de estos logramos identificar 2 colonias con morfología similar a la de *Mycobacterium tuberculosis* en la sala de espera de urgencias de ortopedia y ginecología, en el área de recepción y atención urgencia general del Hospital Amador Guerrero Estos bacilos los identificamos con la tinción de Ziehl Neelsen que es específica para bacilos acido alcohol resistentes (BAAR) Ver Figura N° 11

3.3- Resultados de la prueba de interferón gamma.

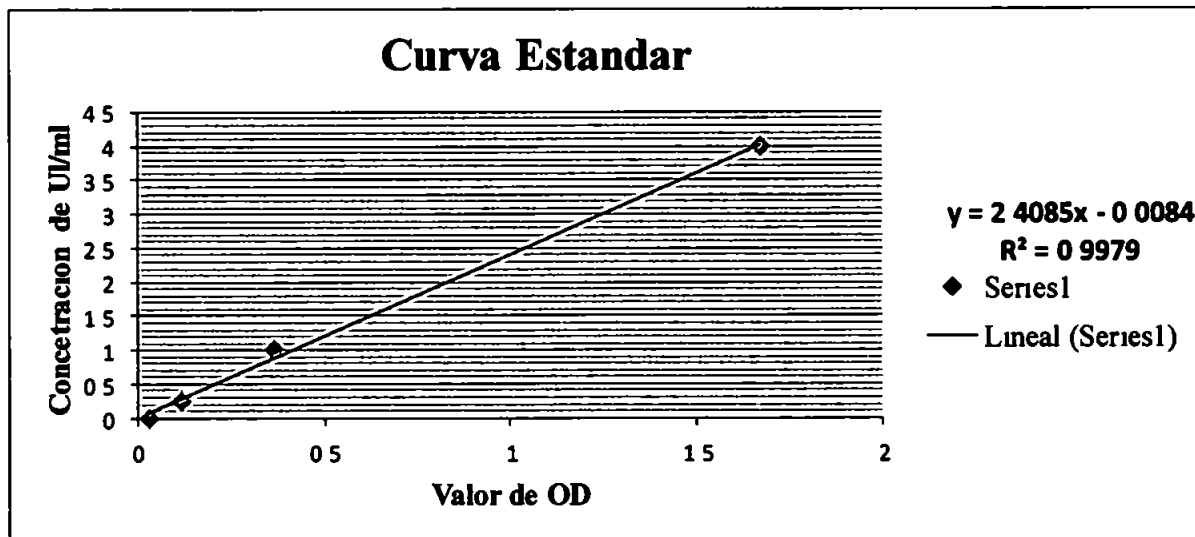
Se tomaron 200 muestras de sangre al personal de salud de las diferentes áreas de riesgo para realizarle la prueba de Interferón Gamma con el Kit de QuantiFeron –TB Gold De las 200 muestras analizadas 71 resultaron positivas para la prueba de interferón gamma esto representa el 36% de la población de estudio

3.3.1 Criterios de interpretación de los valores del kit de QuantiFeron TB-Gold.

Los platos de ELISA fueron leídos a un multilector de ELISA a una densidad óptica (OD) de 450 nm y con un filtro de referencia de 620 nm a 650 nm

Para la interpretación de los resultados fue necesario realizar una curva estándar para obtener la ecuación lineal y así obtener el verdadero valor de interferón Gamma Para ello utilizamos una dilución del estándar de valor positivo de interferón gamma Para cada uno de los kits se utilizó una curva por duplicado y al final realizamos un promedio para cada uno de estos valores Ver Grafica N°3 Las muestras fueron ordenadas en cada uno de los platos de acuerdo a un mapa realizado previamente con el código de cada muestra para diferenciar el nil, antígeno y mitógeno Ver figura N°12

Grafica N°3 Curva Estándar



3.3.2- Ecuación para el cálculo de los valores reales para QuantiFeron TB- Gold

El criterio de interpretación para determinar si un valor es positivo para infección latente de TB, lo obtuvimos reemplazando en la ecuación lineal de la curva estándar el valor del Nill y del Antígeno, y ambos valores deben ser restados para obtener el valor real de Interferón Gamma Ver Ejemplo N°1

Ejemplo N°1

Valores para el PS ILTB-14-001

- Valor del Nill = 0.05 Se reemplaza en la ecuación ($Y = 2.4085X + 0.0084$) obtenida en la curva estándar
 $= (2.4085) (0.05) - 0.0084 = 0.112$
- Valor del Antígeno = 2.63 Se reemplaza en la ecuación de ($Y = 2.4085X - 0.0084$) obtenida en la curva estándar
 $= (2.4085) (2.63) - 0.0084 = 6.32$
- La resta del Antígeno – Nill = 6.068
- El 25% del valor del Nill = 0.03

Según el criterio de aceptación para que un valor se considere ILTB positivo debe cumplir con el parámetro de la tabla N°9 Que establece que para que un valor sea positivo debe ser

menor e igual que 8, pero mayor e igual que 0.35UI/ml y mayor o igual al 25% del valor del Nill.

3.4- Resultados para interferón gamma con el Kit de QuantiFeron- TB Gold.

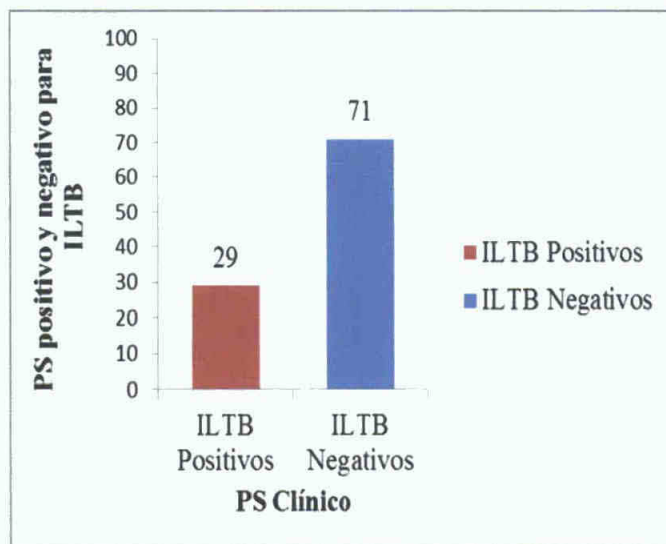
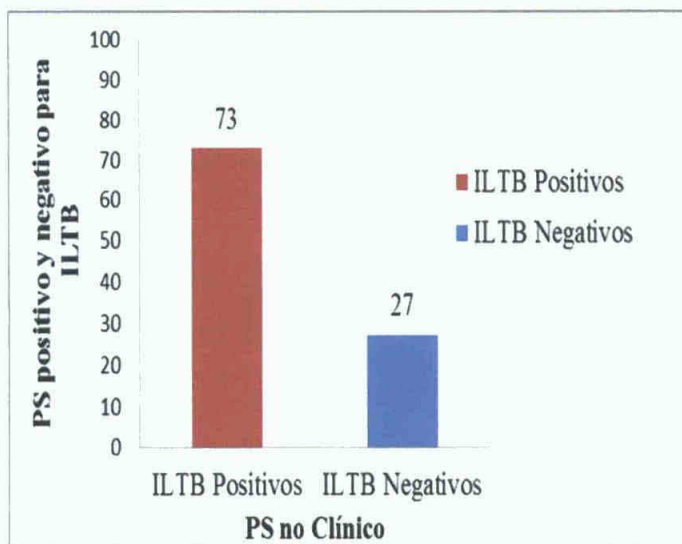
De los 200 trabajadores de la salud que participaron del proyecto 71 resultaron resultados positivos para ILTB o infección latente que corresponde al 35% de la población y 129 resultaron negativos que corresponde al 65% de la población de estudio utilizando el Kit de QuantiFeron TB – Gold. Para estos datos calculamos el promedio, media, mediana, moda y la desviación estándar. Ver Tabla N°10.

3.5 Análisis demográfico

Para el análisis de los datos demográficos, comparamos los resultados de ambas poblaciones la positiva y negativa, mediante el análisis de las respuestas emitidas en las encuestas aplicadas al PS.

De los 200 PS, 85% pertenecen al área clínica (médicos, enfermeras, técnicos de enfermería, laboratoristas, especialistas y técnicos de asistencia general), y un 15% pertenecen al grupo no clínico (repcionistas, regitritos médicos, información general, secretarias y trabajo manual) hubo un mayor interés y voluntariado en el personal clínico que en el grupo no clínico. El 30% de la población de clínicos resultó positivo para ILTB en comparación con los no clínicos un 72% resultó positivo para ILTB. Ver Gráfica N°4

Grafica N°4 Porcentaje del PS clínicos y no clínico, positivos y negativos para ILTB



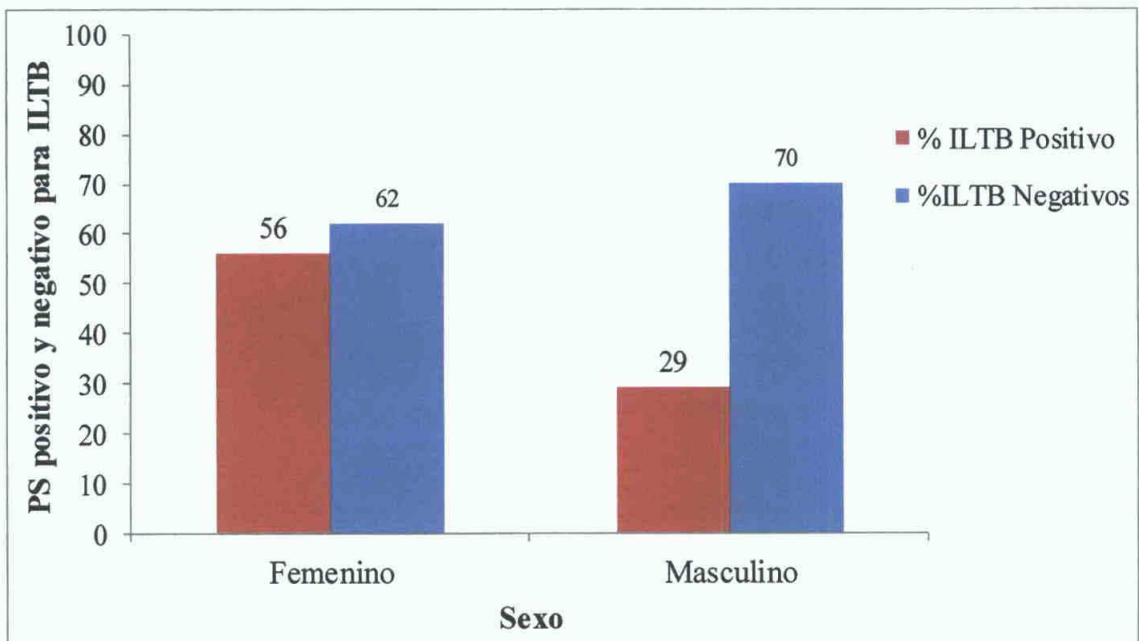
De acuerdo a la clasificación de las áreas según el tipo de riesgo, del PS que resultó positivos para ILTB el 51% pertenecían al área de alto riesgo (cuarto de urgencias, salas de neumología, áreas de procedimiento de toma de esputo para TB, y ginecología). El 30% pertenecían al área de riesgo medio (odontología, laboratorio, consulta de ortopedia, área de pasillo de urgencia general). Un 19% pertenecían al grupo de bajo riesgo (áreas de recepción, registros médicos y oficinas) Ver Gráfica N°5.

Gráfica N°5 Porcentaje del PS positivo para ILTB en las áreas de alto, medio y bajo riesgo

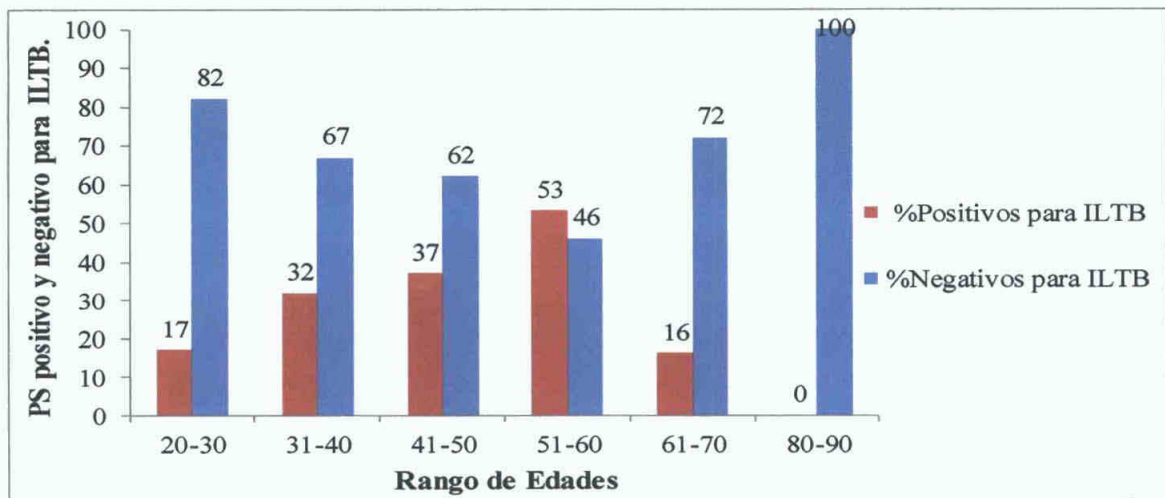


En el personal de salud (PS) el rango de edad con mayor porcentaje de positivos estaba 51-60 con un 53%. De los 200 PS 149 eran femeninos y 51 masculino. El mayor porcentaje de positivos para ILTB estuvo en el sexo femenino con 56% y el masculino con un 15%. El grado de escolaridad con mayor número de PS positivo fue el de maestría con un porcentaje de 77%. Ver tabla N°11, Ver gráfica N° 6, 7,8.

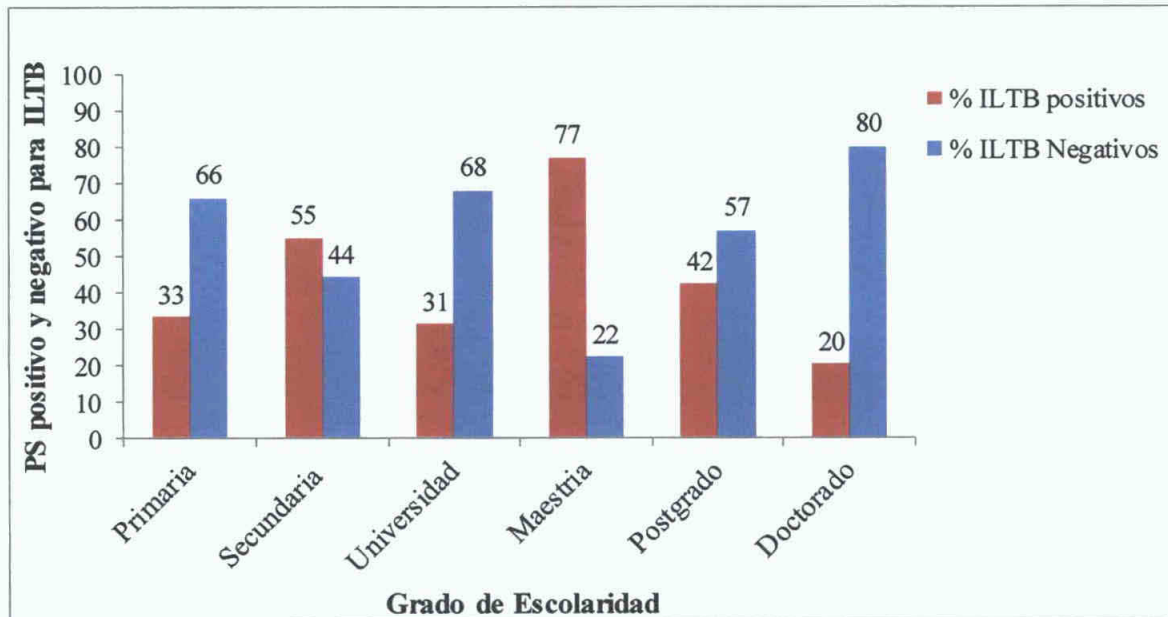
Gráfica N°6 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs sexo.



Gráfica N°7 Porcentajes de PS positivos y negativos para ILTB vs rango de edades.

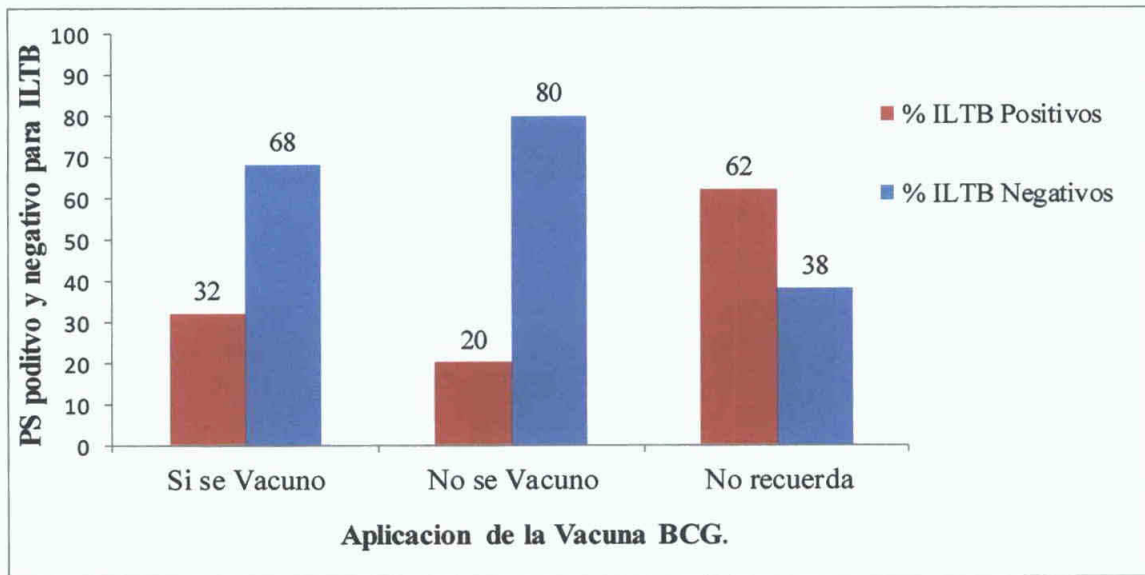


Gráfica N°8 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs grado de escolaridad.

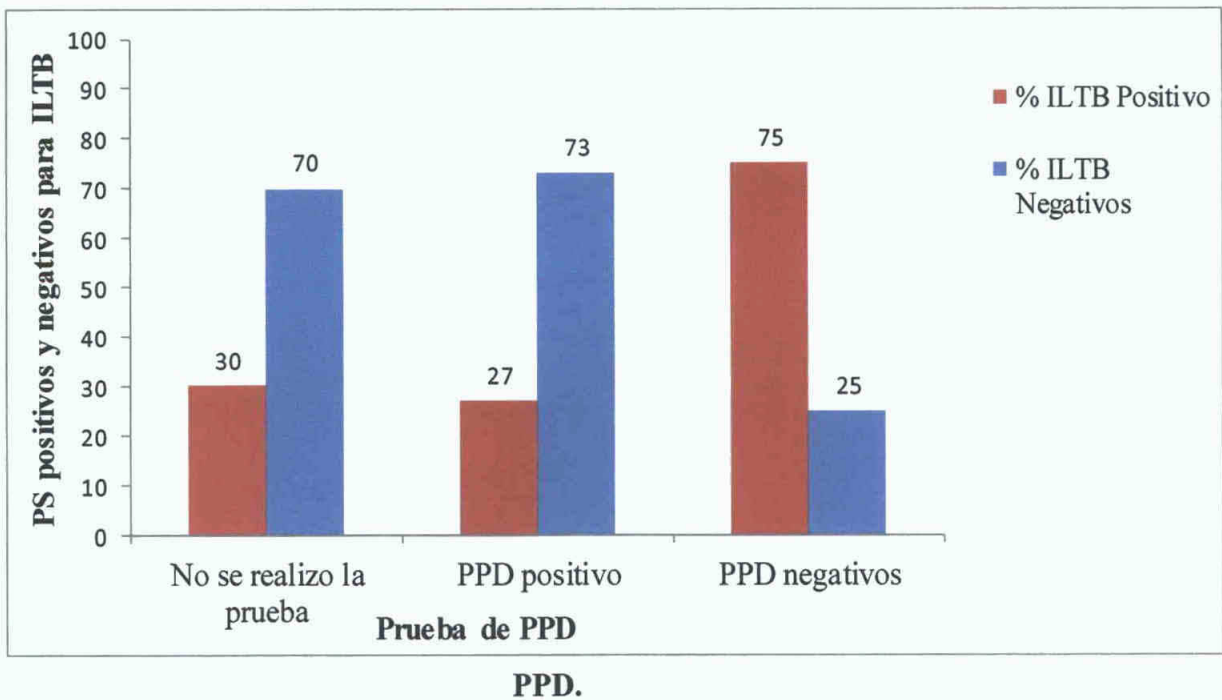


El 100 % del PS reportó prueba de VIH negativo, y un 100% resultaron ILTB positivo. Un 73% del PS reportó haberse puesto la vacuna de BCG; y de estos un 32 % resultó positivo para ILTB, un 20 % de los positivo reportó no haberse puesto la vacuna, y un 62% de positivos no sabe o no recuerda haberse puesto la vacuna. Un 18 % del PS reportó haberse realizado la prueba de PPD. Un 30% del PS positivo para ILTB reportó no haberse realizado la prueba de PPD un 27% del PS positivo para ILTB reaccionó positivo a la prueba de PPD. Un 75% del PS positivo de ILTB reaccionó negativo a la prueba de PPD. Ver tablaN° 12, Ver graficaN° 9, 10.

Gráfica N°9 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs vacunación BCG.



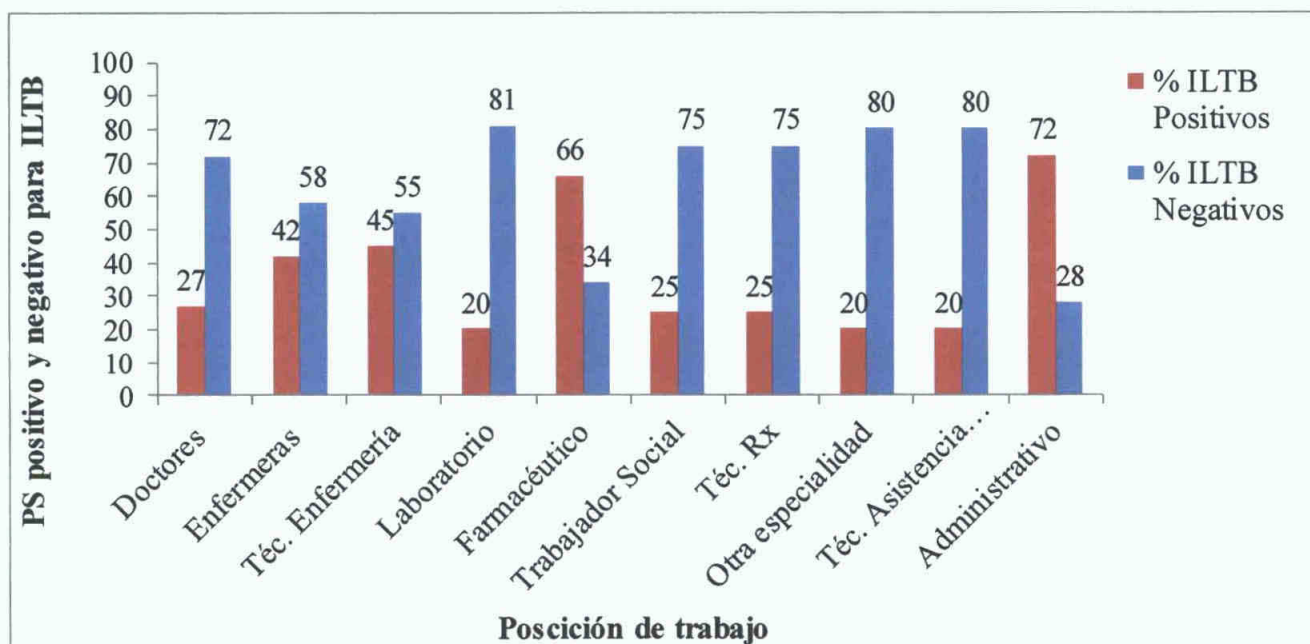
Gráfica N°10 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs prueba de



Del PS encuestados el 20% resultaron médicos y de estos 27.5% resultaron positivo para ILTB, 18% eran enfermeras/os y 41.6% de estos resultó positivo para ILTB. Los técnicos de enfermería tenían un 5 % del PS con un 70% positivo para ILTB, los laboratoristas tenían un 23% del PS con un 19.5% de positivos para ILTB. Los farmacéuticos tenían 1.5% de estos el 66% eran positivos para ILTB, los trabajadores sociales tenían 2% de la población de estos el 25% dio positivo para ILTB. Los técnicos de rayos X tenían un 1% de la población y de estos 50% dio positivos, otras especialidades tenían un 3% de la población y no se reportaron positivos para ILTB.

Asistencia general represento un 8% de la población y de estos 20% de positivos. El grupo de administrativos abarcó un 15 % de la población con 72.4% de positivos para ILTB. Ver tabla Nº 13, Ver gráfica Nº11

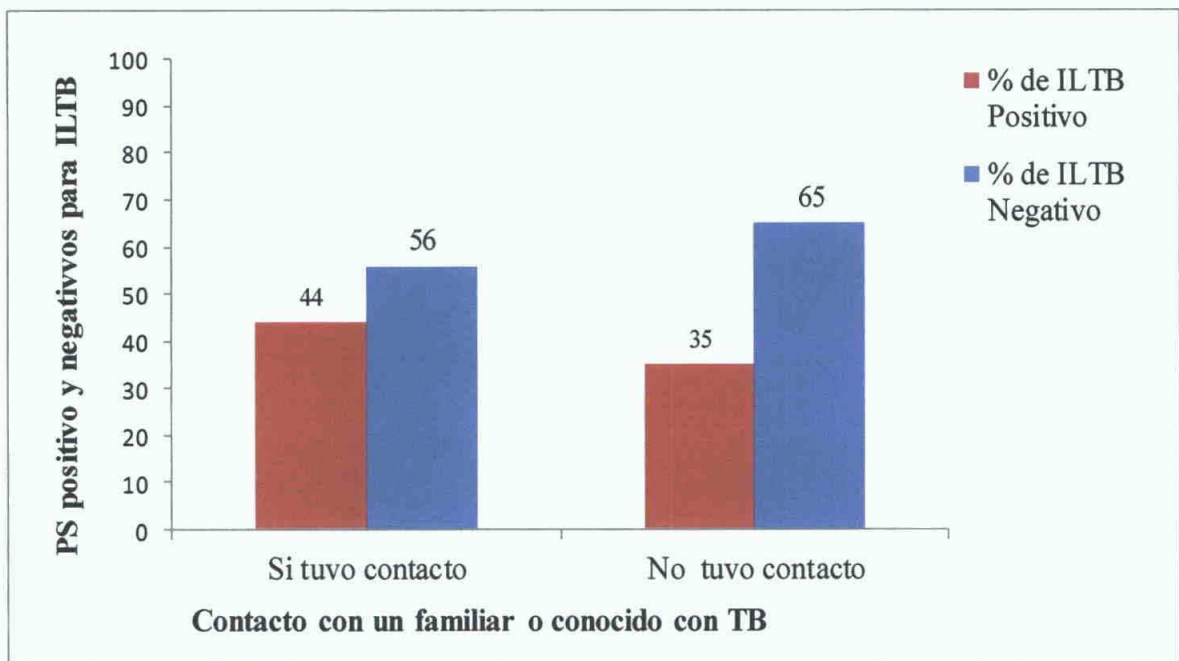
Gráfica Nº11 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs posición de trabajo.



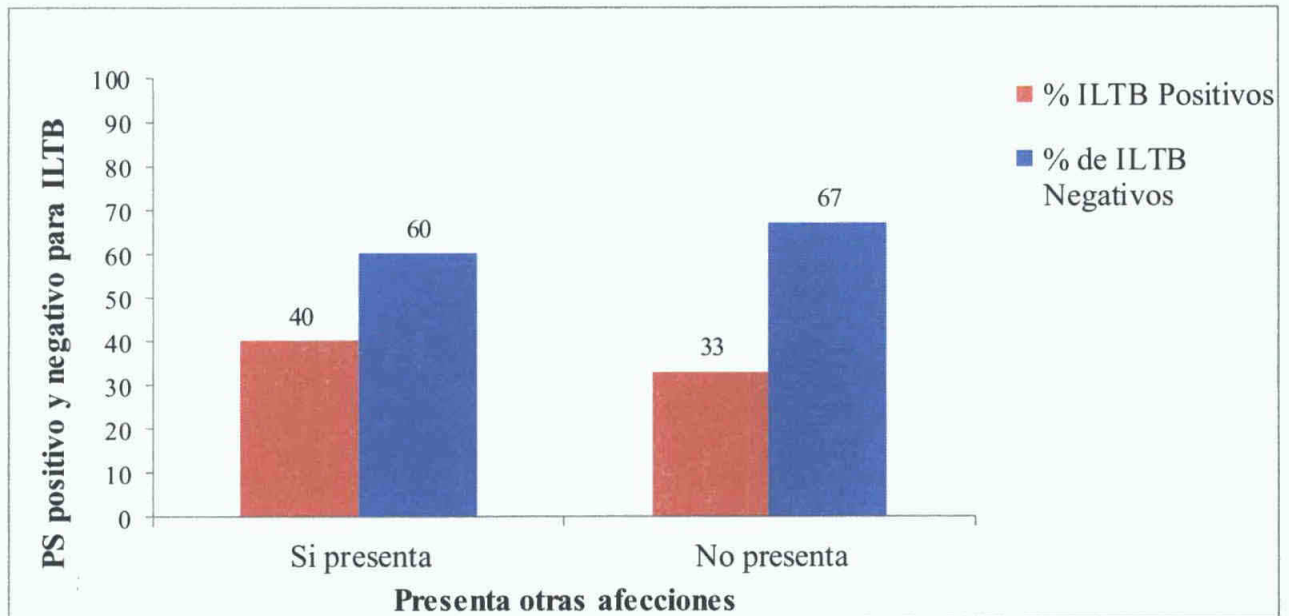
De PS de estudio un 44 % reportó haber estado en contacto con un familiar o conocido con TB, fuera del área hospitalaria y resultaron positivos para ILTB. Un 35 % reportó no haber estado en contacto con personas y conocidos con TB y resultaron positivos para ILTB.

Un 40% de positivos para ILTB reportó otras afecciones y un 33% de positivos para ILTB que no presentaban ninguna afección. Ver tabla N°14, Ver gráficaN° 12, 13.

Gráfica N°12 Porcentaje de PS positivo y negativo para ILTB vs contacto con familiar o conocido con TB.



Gráfica #13 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs presencia de otra afección.

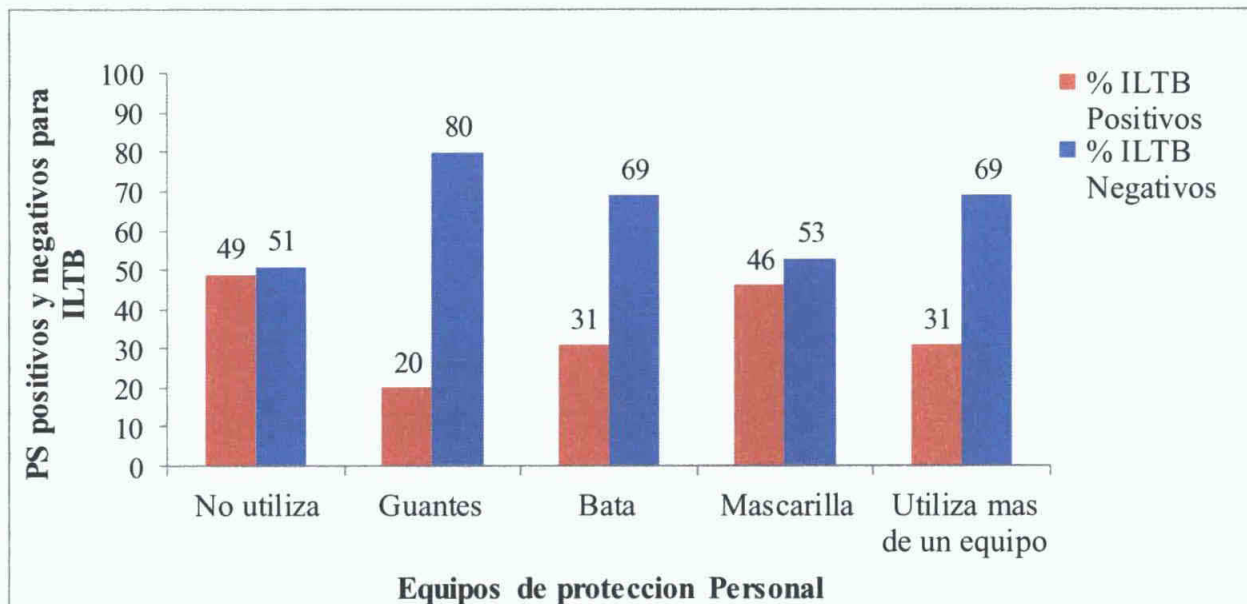


Un 49 % reportó no utilizar equipos de protección personal y resultaron positivos para ILTB, además resultaron positivos para ILTB un 20 % que respondió solo utilizar guantes, 31% respondió 46% respondió solo utilizar mascarilla y un 31% reportó que usaba más de un equipo de protección.

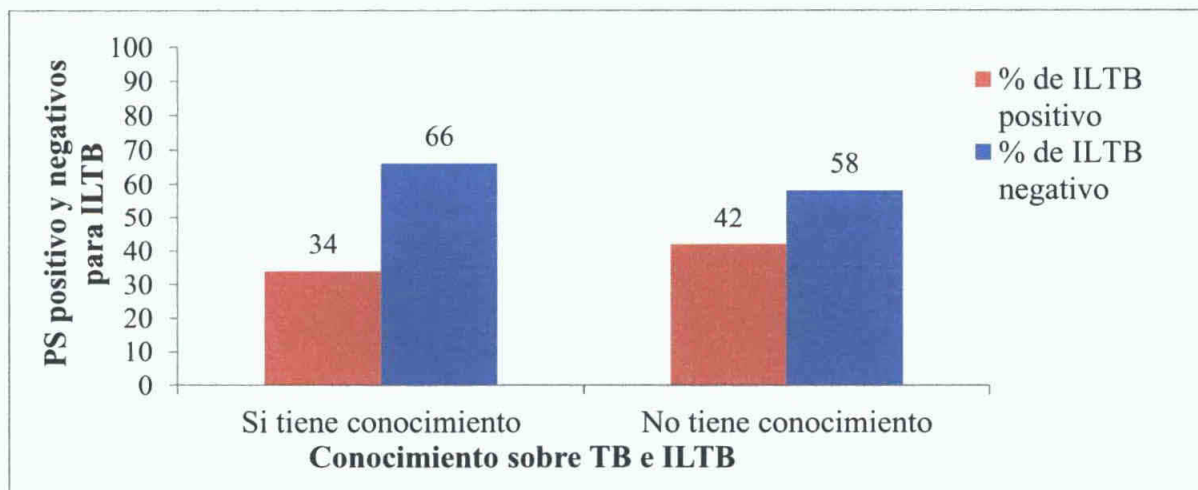
El 34% que reportó conocimiento sobre TB e ILTB resultó positivo. Y un 42 % que reportó no conocer sobre TB e ILTB resultaron positivos para ILTB.

En relación al conocimiento sobre los riesgos del personal de salud un 34 % de la población dio positivo para ILTB y un 41% de positivos para ILTB que reportó no conocer sobre los riesgos Ver tabla N° 15, Ver gráfica N°14 y 15.

Grafica Nº14 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs utilización de equipo de protección personal.



Grafica #15 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs conocimiento sobre TB y ILTB.



Un 35% del PS en estudio que respondieron realizarse exámenes médicos resultaron positivos para ILTB, un 38% que no se realiza exámenes médicos resultaron positivos para ILTB Ver tabla N°16

Dieron positivos para ILTB un 38% que reporto tos intensa por periodos largos de tiempo, 50% que reporto sudoracion nocturna, 66% que reporto perdida de peso, y un 32% que reporto debilidad y cansancio Un 55% del PS que reportó no presentar ningun sintoma resultaron positivos para ILTB Ver tabla N°16

Capítulo IV

Discusión de Resultados

La exposición del *Mycobacterium tuberculosis* a los trabajadores de la salud (PS) es un problema mundial. Se ha estimado en países de bajos y medianos ingresos que la prevalencia de infección tuberculosa latente en el PS puede llegar a ser un problema en las diferentes áreas de los hospitales (Joshi, Reingold, Menzies, & Pai, 2006). Existen diferentes países en donde el problema de TB está relacionado a las diferentes áreas hospitalarias, a sus infraestructuras y los métodos de ventilación que poseen. Investigaciones como las de Perú en donde tratan de determinar la mejor forma de ventilación para las áreas hospitalarias especialmente donde se atienden pacientes con TB en diferentes hospitales del país. Estos estudios concluyen que la maximización de ventilación natural a través de puertas y ventanas disminuye el riesgo de contagio, ya que cuesta poco y es de libre mantenimiento espacialmente en áreas tropicales. En comparación con ventilaciones mecánicas de hospitales modernos de techos bajos y pocas ventanas, sus sistemas mecánicos son más costosos y de mayor riesgo de contagio. Este estudio al igual que el nuestro hace énfasis en áreas como departamentos de emergencia y salas de espera compartidas donde debería estar la mayor cantidad de sistemas de ventilación e iluminación natural, por el alto número de personas que aun no tienen un diagnóstico (Escombe et al., 2007). Existen otras investigaciones que determinan que la ingeniería del diseño de un hospital nuevo es mucho más rentable en cuanto a salud si se pensara en modelos de hospitales antiguos donde había una mejor ventilación natural. En comparación con nuevas infraestructuras muy eficientes y modernas pero con presiones de aires que no cumplen su función de recambio y se mantiene asilamiento y poca iluminación natural, aumentando el riesgo de transmisión de enfermedades respiratorias incluyendo la TB. Como lo expresa Peter Wilson en su estudio sobre la ventilación natural como herramienta útil para prevenir la propagación aérea de la TB, en donde el aire de las salas se debe cambiar 10-12 veces cada hora para asegurar suficiente dilución de la carga bacteriana. Los cambios por debajo de este nivel, ocurren por deficiencias en los sistemas de aire y por mal mantenimiento.

El uso de mascarillas en áreas comunes como sala de espera y urgencias no es común ya que son áreas donde se encuentran personas antes de un diagnóstico previo. En esta investigación Peter Wilson determinó que el riesgo de transmisión fue mucho más baja en las habitaciones con mayor cantidad de ventanas abiertas que en las áreas con costosos

sistemas mecánicos de ventilación. Por razones obvias, el bajo costo de la ventilación natural parece ser la mejor opción de ventilación de presión negativa en los países tropicales. Esta realidad se asemeja mucho a las áreas y sistemas de salud de nuestro estudio, ya que la mayor concentración de pacientes y personal se encuentran en las salas comunes y las salas de urgencia, que contaban con menos ventanas que otras áreas (Wilson, 2007). Organizaciones como la CDC (Centers for Disease Control and Prevention) han desarrollado investigaciones en donde explican la importancia de la comparación de resultados de pruebas moleculares en personal de salud y pacientes, con el estado de las áreas de los centros hospitalarios. Debido a que en sus investigaciones han detectado que los factores ambientales aumentan el riesgo para la probabilidad de la transmisión de *Mycobacterium tuberculosis* en los hospitales. Ya que la mayoría de los nuevos centros hospitalarios cuentan con espacios cerrados con poca ventilación, lo que se traduce como una falta de extracción de núcleos de gotitas infecciosas, especialmente en las áreas de broncoscopia y áreas de inducción de esputo. Unido a esto, la insuficiente limpieza de los sistemas de recirculación de aire. Existen diferentes niveles de control ambiental para minimizar el riesgo de contagio en las áreas hospitalarias. El control ambiental primario según la publicación de la CDC, controla las fuentes de infección usando la ventilación de escape local. En nuestra investigación logramos determinar según los resultados del monitoreo ambiental que las salas de neumología poseían mayor cantidad de ventanas abiertas que las áreas de urgencias y de asistencia general. En estas salas con ventilación natural no logramos en el muestreo ambiental recuperar posibles bacilos de *Mycobacterium tuberculosis*, no obstante sí en las áreas de pasillos de urgencia general y ortopedia. En el edificio de MINSA antiguo Hospital Amador Guerrero, cuenta con un gran número de ventanales en las áreas de atención y en estas áreas tampoco recuperamos colonias de posibles bacilos de *Mycobacterium tuberculosis*. Lo que determina que esta línea de defensa ambiental es una herramienta eficaz para reducir el riesgo de infección en los centros hospitalarios y el número de personal de salud expuesto.

Otros niveles de protección serían filtros HEPA en áreas especializadas y la utilización controlada de luz ultravioleta UVGI. Un nivel más exhaustivo de protección sería el uso adecuado de los respiradores como las mascarillas N95 (P. Paul A. Jensen, Lauren A. Lambert, Michael F. Iademarco, & Renee Ridzon, 2005). Otras investigaciones

como las de Jiamjarasrangsı, muy similar a la nuestra, en donde se logró demostrar el riesgo de contagio ambiental de TB en áreas de urgencia de un hospital universitario en Bangkok. En este estudio se realizaron muestreos ambientales a estas áreas teniendo en cuenta su sistema de ventilación. En el periodo de 2004-2005 se detectaron 4 casos de PS de estas áreas de urgencia que presentaban tuberculosis, sin antecedentes de familiares o conocidos fuera del área laboral que padecieran de la misma. Entre este personal estaban enfermeras y auxiliares de enfermería, dato que es muy similar a nuestros resultados. En esta investigación determinaron que los recambios de aire por hora estaban por debajo de lo establecido por la OMS. Donde concluyen que las áreas de urgencias y traumas son las de mayor riesgo de mantener bacilos de TB activos en las partículas que flotan sino no hay un recambio y sistema de ventilación adecuado (Jiamjarasrangsı, Urth, & Srisintorn, 2006).

Grandes países con un alto índice de TB como India, es marcado el problema de riesgo de transmisión nosocomial en el PS. En su investigación determinan que el nivel de contagio está relacionado con la ocupación del PS, el seguimiento de las medidas de control ambiental. Aunque reconocen que los centros con mayor número de casos no detectados a tiempo ni con el adecuado tratamiento aumentan el riesgo de transmisión nosocomial. Unido al alto costo de implementación de medidas de contención, pocas instalaciones en países de bajos ingresos pueden permitirse el lujo de llevarlos a la práctica. Es por ello que países como la India tratan de seguir intervenciones propuestas como en control ambiental que es una herramienta de bajo costo para reducir transmisión nosocomial en lugares donde los recursos son limitados. Y en esta investigación se revela que estas recomendaciones mejoran el diagnóstico precoz y rápido tratamiento de la TB. Con el objetivo principal de hacer énfasis en la transmisión nosocomial que es ignorada, dadas las limitaciones de recursos, pero varios factores demuestran que TB nosocomial debe ser abordada, incluso en esas zonas. Teniendo como preocupación no solo a pacientes que han sido expuestos sino también la salud laboral, que podrían afectar de forma adversa a servicios de salud a través del tiempo (Joshi et al, 2006). Otro estudio realizado por la escuela de Salud Pública de la Universidad de Berkeley California y la de Montreal Canadá, hacen énfasis en la relación que existe en la transmisión nosocomial y la incidencia de PS con infección latente de TB. Y esto lo atribuyen a un problema de descuido en la atención al PS y la deficiencia en las estrategias preventivas que se ha establecido por las

diferentes organizaciones Mas de 42 articulos se revisaron en esta investigacion en donde se extrajeron los datos sobre la incidencia, prevalencia y factores de riesgo para la enfermedad entre el PS Las prevalencia de ILTB en el PS en estas revisiones fue de 54% y el mayor riesgo fue relacionado con las áreas de trabajo, dando mayor incidencia en las instalaciones de emergencia y centros de internación de pacientes con TB El personal más propenso las enfermeras, tecnicos y asistentes de sala En esta extensa revision demuestran que TB es un problema ocupacional significativo entre el PS La evidencia disponible refuerza la necesidad de diseñar e implementar programas de control de infecciones de tuberculosis simples, eficaces y asequibles en centros de salud Este estudio tambien demuestra la importancia de seguir realizando estudios como el nuestro para analizar el estado de los centros hospitalarios del pais Dado que coincidimos en nuestros resultados hay incidencia esta en estas salas mencionadas y en el grupo de enfermeras y personal clinico y una alta incidencia en el personal administrativo (Joshi et al , 2006) La detección de bacilo en el aire es importante para determinar que si existe un transmisión nosocomial nivel ambiental Investigaciones como las realizadas en el Gung Memorial Hospital en la Ciudad de Taichung, Taiwan, Republica de China, en donde probaron con la utilización de los filtros ubicados en los sistemas de aire para detectar el bacilo La obtencion de colonias en el ambiente es un poco tediosa por el tiempo de crecimiento y la necesidad de especificidad de medio Aunque es la mejor forma de obtener posibles bacilos para hacer la deteccion En sus resultados lograron encontrar bacilos positivos en los filtros de los aires de ventilacion mecanica, en áreas muy similares en donde nuestro estudio detecto bacilos positivos, estas áreas fueron aislamiento y las areas de atencion ambulatoria Es por ello que concluyen que la calidad del aire interior de todo el entorno del hospital debe ser supervisados por seguridad del personal de atencion de salud y el publico en general(Wan, Lu, & Tsai, 2004)

Otro estudio muy similar al nuestro fue realizado en servicio de salud publica en Gauteng, Sudáfrica en donde se atienden alrededor de 170 pacientes en jornadas de trabajo de 7am a 4pm Estos pacientes son de estado desconocido es decir que asisten al servicio de urgencias en el hospital por diferentes afecciones entre ellas enfermedades respiratorias En este estudio participaron personal médico, enfermeras y flebotomista Una de las características es que se realizaron muestreos ambientales en 11 áreas del hospital como

objetivo para detectar *Mycobacterium tuberculosis* en el aire apoyado con identificación por PCR en tiempo real y tinciones. Uno de los principales resultados es que en áreas de paciente inmunocomprometidos se detectó una compleja relación entre la infectividad de un individuo y la concentración aérea de *Mycobacterium tuberculosis*. Otro factor detectado que ayuda a la transmisión aérea de *Mycobacterium tuberculosis* son las tasas de ventilación, la humedad, la temperatura, el mal uso de las mascarillas, la falta de aplicación de desinfección aérea (filtro HEPA, UVGI, luces) y la duración de la exposición. Otro hallazgo de gran importancia en este estudio fue el caso de la oficina de Tecnología e Informática que se encontraba en planta de arriba a una distancia considerable de las atenciones médicas, que por muestro ambiental se detecta la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* en donde los investigadores establecen que puede ser debido a que el flujo del policlínico se dirige al espacio exterior en función de las corrientes de aire. Y hacen énfasis con este resultado que las áreas que no son de atención médica también constituyen un riesgo potencial para la transmisión de *Mycobacterium tuberculosis* al personal administrativo. También se demuestra en nuestros resultados con la población administrativa del hospital. Esto se debe a la falta de mantenimiento o rediseño del sistema de ventilación, el cual se percibió que ninguno funcionaba correctamente en el momento de muestreo y el mantenimiento no estaba disponible en los últimos ocho años. Estos muestreos ambientales son más eficientes cuando también se logran utilizar métodos como biomarcadores que detecten la infección latente o el bacilo en el PS que trabaja en esas áreas. En sus conclusiones al igual que en las de nuestro estudio, determinan que es útil el muestreo ambiental unido a biomarcadores. Que demuestran la exposición del PS a *Mycobacterium tuberculosis* en el centro de atención hospitalaria. Que es importante identificar las áreas de riesgo que no han sido reconocidas con anterioridad como áreas de riesgo para el PS y los trabajadores no clínicos de los hospitales (Gerald H. Mazurek et al., 2010) (Matuka et al., 2015). La comparación entre métodos también son herramientas esenciales para determinar la relación que hay entre los muestreos ambientales e identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en ambientes hospitalarios. Como el estudio realizado por Pei-Shih Chen en donde recolectaron 22 muestras de aire en áreas hospitalarias de pacientes con tuberculosis y las compararon con muestras de ADN de esputo logrando determinar una marcada relación. En donde concluyen que la vigilancia ambiental es vital para determinar el control de la

tuberculosis en los centros hospitalarios y el riesgo a los que están expuestos el PS (Chen & Li, 2005)

La incidencia de infección latente en el personal de salud y el riesgo de que lleguen a desarrollar la enfermedad, ha llevado a que muchos países alrededor del mundo se preocupen y desarrollen un sin número de investigaciones en los centros hospitalarios para poner en alerta a las autoridades de salud. Al igual que nuestra investigación busca identificar el riesgo para el PS en los centros hospitalarios. Por ello quisimos hacer una comparación de todas estas investigaciones con nuestros resultados. Entre estas investigaciones están la realizada en Cuba por el Instituto Tropical de Medicina Pedro Kouri, en donde buscaron determinar la prevalencia de infección latente en el hospital general de Santiago de Cuba. Ellos trabajaron con un total de 371 PS obteniendo como resultados la mayor incidencia de infección latente con un 21,8% a al personal médico seguido de un 19,6% de enfermeras y 3,3% para los administrativos. Basado en sus resultados concluyen que incluso a niveles bajos, la transmisión de la TB en este hospital podría estar asociada con la exposición al riesgo a nivel ambiental, y recomiendan medidas de control de las infecciones en el hospital y seguimiento y profilaxis al PS (Borroto et al., 2011). En Polonia otro grupo de investigadores también tenían como objetivo determinar infección latente de tuberculosis en personal clínico y no clínico y así determinar el nivel de riesgo utilizando QFT. A los 155 participantes se les realizó un cuestionario para obtener información sobre posibles factores de riesgo para infección latente entre estos detalles demográficos, socioeconómicos, aplicación de BCG, y su grado de exposición como área de trabajo. El 21% presentó infección latente, estando el riesgo más elevado asociado a lugares de trabajo. Teniendo los laboratoristas un 50%, médicos 34% y enfermeras 30% y administrativos un 15%, coincidiendo también este estudio con nuestros resultados en base al laboratorio. Ellos concluyen que el PS está en un mayor riesgo de exposición, solicitando herramientas de prevención y de diagnóstico temprano (Demkow et al., 2008). Un estudio realizado en por Mille AK, 2002. Y sus colaboradores en Ohio, USA, en donde hicieron una extensa evaluación entre el riesgo potencial de los trabajadores y su exposición a tuberculosis en los centros hospitalarios. Con un total de 2,362 trabajadores que participaron del estudio que conocían que estaban en riesgo de infección latente, de estos un 5,8% dio positivo para infección latente. Un grupo de 886 trabajadores que desconocían estar

expuestos presentaron un 20% de positivos para infección latente. Los trabajadores con mayor riesgo de exposición a *Mycobacterium tuberculosis*, se encontraron en elevado riesgo las enfermeras, técnicos de laboratorio, farmacéuticos, oficinistas, y la sala de emergencia. En esta investigación concluyen que el personal en contacto directo con el paciente y los diferentes grupos de trabajadores se encuentran en un alto riesgo de infección latente por área de trabajo (Miller, Tepper, & Sieber, 2002). El riesgo de infección latente en el personal de salud también está relacionado a grupos específicos de trabajo, como lo presenta un análisis del Hospital universitario de South Korea. En donde se realizó un estudio de seis años comparando la prevalencia de tuberculosis con un total de 8433 participantes. La prevalencia de infección latente obtenida para médicos fue de 0,58%, enfermeras generales 1,81% y el resto de los empleados 0,95%. Para las enfermeras que trabajaban con departamentos relacionados a TB el riesgo aumentó a 3,4% más que para otros departamentos. Y las enfermeras que trabajan relacionadas directamente con la tuberculosis el aumento fue de 5,1%. Este grupo concluye que el riesgo incluye al personal general del hospital pero se vio más enfatizado en los departamentos relacionados con la TB, acertando en que sí existe un alto riesgo de infección latente en las áreas nosocomiales (K-W Jo et al., 2008). Otro estudio de mucha relevancia por sus resultados fue el realizado por un grupo de investigadores de la universidad de Israel. En este estudio lograron determinar que todos los trabajadores de los centros hospitalarios están en riesgo. Trabajaron con un total de 450 PS utilizando encuestas para analizar los posibles factores de riesgo como edad, áreas de trabajo, perfiles de exposición a pacientes, características ambientales y su relación con el bacilo de Calmette-Guérin. Un total de 93 PS dieron positivos para infección latente, pero la diferencia en este estudio fue que el grupo con mayor incidencia fue el de trabajadores del área de limpieza de edad avanzada y en un entorno de trabajo con una alta afluencia de pacientes. Debido a esto concluyeron que el ambiente con alto volumen de pacientes es uno de los de mayor riesgo para el PS (Sherman et al., 2011).

Un estudio realizado en Alemania ha alertado a las autoridades sanitarias debido a que el riesgo de infección de TB en el PS ha cambiado profundamente en los últimos años. Estudios moleculares epidemiológicos y estudios de IGRA, y la revisión exhaustiva del personal en riesgo los ha llevado a la conclusión de que la infección es causada en el lugar

de trabajo En lugares como Hamburgo, 80 % de los casos de TB en el PS fueron causados por infecciones en el lugar de trabajo igual que el 43% de los caso de Holanda Estos investigadores ponen en evidencia de los riesgos de las salas de espera y laboratorios, y un aumento del riesgo de infeccion por los paramédicos, en las salas de emergencia Otro grupo de alto riesgo es el PS que está en estrecha relación con ancianos, personas sin hogar, usuarios de drogas, y hasta migrantes Es por ello que la infeccion latente puede ser reconocida como un riesgo profesional para el PS, aumentado las estrategias de prevención en estos paises de manera legalizada (Nienhaus, 2009, Wang, Liu, & Chin, 2007) El riesgo del PS tambien depende de la incidencia de casos y las áreas de mayor riesgo de TB, unido las condiciones socioeconómicas En paises como Serbia se han realizados estudios en centros hospitalarios en donde lograron evaluar por categorias el riesgo de exposicion del PS Evaluaron la relacion entre areas de cuidados pulmonares, no pulmonares y personal general En sus resultados 24 PS desarrollaron tuberculosis activa en un periodo de 13 años La tasa de incidencia media fue de 413 2 por cada 100 000 PS Las areas de mayor incidencia fueron las de atencion pulmonar Las enfermeras y tecnicos fueron los de mayor riesgo 7 8 veces mayor al resto del personal Ellos concluyen que PS se encuentra en un alto riesgo de transmisión nosocomial tomando en cuenta el riesgo relativo que es calculado de acuerdo a la incidencia de casos de TB en el centro Hospitalario (Skodric-Trifunovic, Markovic-Denic, Nagorni-Obradovic, Vlajinac, & Woeltje, 2009) Una de las áreas mas notificadas de incidencia de infeccion latente en el PS son las areas de urgencia Como lo reporta Malaysia en una investigacion cuyo objetivo era determinar la incidencia de los factores asociados a la infeccion de TB en el PS Evaluaron un total de 769 PS con una reevaluacion de un año utilizando QFT En donde obtuvieron una incidencia de infeccion latente de 9 9% por cada 100 PS El mayor riesgo relativo lo obtuvo el departamento de urgencias con 2 18 reportado como altamente significativo En donde concluyen que las medidas de control de infección tienen que fortalecerse especialmente en las areas de incidencia elevada de TB, utilizando estudios de conversión y reversión como metodos de interpretacion cuantitativa segura , que no se vea influenciada por la BCG (Girardi et al , 2009, Rafiza & Rampal, 2012) El Instituto de Medicina de la Universidad de Tokio tambien lleva acabo estudios sobre el riesgo del PS en los centros hospitalarios como el del Hospital de IMSUT Ellos trabajaron con un total de 165 PS, 18 de estos trabajadores dan

resultado positivo para infección latente que correspondía a 11% de prevalencia. Lo que los llevo a la conclusión que la tasa de positividad en el PS es mayor que en la población en general (Adachi et al , 2013). Un estudio realizado en el Hospital de Santiago de Chile en donde se desconocía la prevalencia de infección latente en el PS, y el riesgo que corren en desarrollar tuberculosis activa. Un grupo de 76 PS participaron de un estudio piloto descriptivo para determinar la incidencia de infección latente. Un total de 22 PS resultaron positivos para QFT que correspondía a un 26.3%. El 50% de este grupo pertenecían al programa nacional de tuberculosis. 38% correspondía al personal que trabaja en áreas relacionadas a esputo inducido y procesos de TB, 15.7% al PS que no tenía factores de riesgo. Uno de los datos de este estudio que es la relación con la edad es muy similar al de nuestro estudio ya que la infección latente aumento en relación directa con la edad del sujeto. Concluyen que el monitoreo de infección latente en el PS explora las limitaciones y posibles escenarios para la detección de una progresión a enfermedad de tuberculosis (Hernandez et al , 2014, Saleiro et al , n.d.). Uno de los objetivos en los que coinciden la mayoría de los estudios es en estimar la prevalencia y determinar los riesgos y factores de riesgo de infección para el PS utilizando IGRA y datos del PS, como herramientas de detección temprana de progresión de TB. Como el estudio de Rusia, en donde además de PS de planta también incluyen estudiantes de medicina. Un total de 630 PS entre estudiantes y funcionarios participaron del estudio. De estos 32 estudiantes resultaron positivos para infección latente, Del grupo de atención primaria 14 médicos y 20 enfermeras, 2 asistentes, 2 administrativos resultaron positivos. Del grupo de atención a TB 22 doctores, 23 enfermeras, 11 asistentes resultaron positivos. Del resto del PS también incluyendo doctores y enfermeras 90 dieron positivos para infección latente. En donde concluyen que el mayor índice positivo está en médicos y enfermeras pero que también los estudiantes están en riesgo, y que QFT tiene un papel útil en el proceso de selección PS con alto riesgo de infección latente y desarrollar tuberculosis activa (Drobniewski, Balabanova, Zakamova, Nikolayevskyy, & Fedorin, 2007, Vinton et al , 2009).

La importancia de la detección de infección latente en el PS ha llevado a la utilización de varias metodologías para mejorar el proceso de certeza de detección de manera más cuantitativa y efectiva. Investigaciones como las de Kyung-Wook Jo, en Corea del sur donde hacen un estudio comparativo con PPD, y Quantiferon en el PS, además de la

utilización de encuestas para obtener datos demográficos importantes del PS. Un total de 493 PS participaron del estudio, de 152 médicos participantes 63 (41,4 %) y 36 (23,7 %) fueron positivas por TST y QFT-GIT, respectivamente, y de las 341 enfermeras, 119 (34,9 %) y 49 (14,4 %) fueron positivas y TST QFT-GIT resultados, respectivamente. Según el análisis de esta investigación hay una asociación basada en los niveles de riesgo de clasificación hospitalaria con las pruebas positivas de QFT, pero no por PPD. Mientras que la edad y la experiencia de trabajar en los departamentos relacionados con TB se asociaron con un mayor riesgo aun resultado positivo QFT-GIT. Es por ello que esta investigación concluye que existe una alta prevalencia de tuberculosis latente en el PS de Corea del Sur, Teniendo en cuenta la relación entre la experiencia de trabajo y las áreas relacionadas con alto riesgo de infección latente, QFT-GIT es una buena prueba de seguimiento de tuberculosis inactiva (Kyung-Wook Jo et al, 2013). En el trabajo con PS se ha destacado el uso de QFT ya que es una herramienta útil en la identificación del PS en riesgo que no se ve influenciado por la BCG. Así lo expresa el grupo de Babayigit C en donde evaluaron 100 PS del Hospital de Turquía, este grupo de estudio estaba compuesto de médicos enfermeras, laboratorista, paramédicos, anestesiología, radiología y urgencias. De este grupo 19 dieron positivos para QFT un 20% eran doctores, 21 2% enfermeras, 5 9% laboratoristas, 33 3% paramédicos. Identificaron que un 29% que dio positivo para QFT reportó no estar en contacto con pacientes con TB y 17 % positivos para QFT reportaron no estar en contacto con pacientes ni con materiales con TB. Este grupo concluye que como PPD se ve afectado por BCG, coloca a QFT como una opción para la detección de infección latente e identificación de fuentes ambientales nosocomiales de transmisión (Babayigit et al, 2014).

Actualmente la PPD sigue siendo la prueba de elección para el diagnóstico de la infección tuberculosa, a pesar de presentar numerosas limitaciones y actualmente en Panamá su uso está limitado. Puede presentar falsos positivos en sujetos vacunados con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG) lo que disminuye la especificidad de la prueba (Restrepo, 2004). Las nuevas pruebas conocidas de forma genérica como interferón- γ release assays (IGRAs). En principio de estas pruebas superarían las limitaciones de la PPD ya que emplean otros antígenos que no están presentes en la cepa de la vacuna BCG y la interpretación de los resultados es más objetiva ya que son test *in vitro* en los que se

realizan determinaciones cuantitativas. Existe numerosas investigaciones a nivel mundial como las mencionadas anteriormente en donde se está trabajando con QuantiFERon – TB – Gold para detección de infección latente en el personal de salud, cuyo principal riesgo es la exposición al bacilo en el ambiente nosocomial. El riesgo atribuible para la enfermedad de la tuberculosis en trabajadores sanitarios, en comparación con el riesgo en la población general, varío de 25 a 5 361 por 100 000 por año. Un mayor riesgo de contraer la enfermedad de la tuberculosis era asociado a ciertos lugares de trabajo como instalaciones de hospitalización de TB, laboratorio, medicina interna, e instalaciones de emergencia. En el área de categorías profesionales los técnicos de radiología, enfermeras, asistentes de sala, paramédicos y auxiliares clínicos (Joshi et al , 2006). En comparación con nuestro estudio coincidimos en estas las instalaciones de salud con PS positivos para infección latente. Rusia es uno de los 22 países de alta carga de TB. En un estudio realizado por Francis Drobniowski y sus colaboradores buscaban exponer la identificación de los individuos, en particular los PS con infección tuberculosa latente y así poder determinar la tasa de infección, para ayudar a controlar la tuberculosis a través de la quimioprofilaxis y mejorar las estrategias de infección cruzada institucionales. Trabajaron con una muestra de 630 entre estudiantes de medicina, doctores, enfermeras, laboratorios y la parte administrativa, en donde un 10.1% de su población positiva para QFT eran estudiantes de medicina, un 25.5% de la población en grupo de atención primaria y un 55% correspondía a doctores y enfermeras que trabajaban directamente con pacientes con TB. Este estudio concluye que los ensayos de QFT tienen un papel útil en la detección de los trabajadores sanitarios con un alto riesgo de infección latente y que son vacunados con BCG (Drobniowski et al , 2007).

Otros estudios más recientes como el Mongolia, China en el 2012 en donde trabajaron con 917 PS utilizando QFT y PPD. Los investigadores obtuvieron como resultado 67% de población positiva para QFT a diferencia de un 45% de población positiva utilizando PPD. En este estudio concluyeron la importancia de demostrar que la infección tuberculosa, utilizando un IGRA está fuertemente asociada con la exposición en el ambiente hospitalario (He et al , 2012). De igual forma en nuestro estudio complementamos el muestreo ambiental y el análisis basado en QFT. Un trabajo realizado en Georgia en donde establecen que la TB es un importante riesgo laboral en los países de

bajos y medianos ingresos es importante evaluar las tasas y los factores de riesgo de la prevalencia y la infección latente en el personal de salud. En este estudio se evaluaron PS que trabajaban en centros de TB y centros de atención general. De los 319 trabajadores sanitarios que participaron del proyecto el 55% trabajan en centros especiales para TB resultaron positivo para QFT. En cambio un 30% que laboraban en centros de asistencia general presentaron resultados positivos. Estos datos ponen de relieve la necesidad de una mayor aplicación de las medidas de control de infecciones de TB (Whitaker et al, 2013). Otro estudio de gran importancia es el de Hanoi, Viet Nam en el cual de un muestra de 300 trabajadores de la salud resultó con un 47.3 % de positivo para infección latente mediante la pruebas de IGRA. En este estudio resalta que la prevalencia de la infección tuberculosa estimado por IGRA, es mucho más que alta entre los trabajadores sanitarios en el y su relación con el medio ambiente en el hospital. En las comunidades con historia heterogénea de la vacuna BCG, IGRA parece estimar la infección de TB con mayor precisión que cualquier otro criterio. Otro de los puntos importantes de esta investigación fue que la edad afecta fuertemente la prevalencia de la infección tuberculosa (Lien et al, 2009, Whitaker et al, 2013). Un estudio muy reciente y de gran relevancia fue el realizado por el grupo de Egyptian Society of Chest Diseases and Tuberculosis, en donde a través de un análisis complejo de QuantiFERON TB en diversos grupos controles, logran determinar que QFT-Gold IT tiene una sensibilidad 100%, una especificidad de 100% de valor predictivo positivo del 100%. Este estudio también logra determinar que QFT-Gold IT tiene una excelente sensibilidad y especificidad que es no afectada por la vacuna BCG u otras variables (Abdel-Samea, Ismail, Fayed, & Mohammad, 2013).

Todas estas investigaciones mencionadas determinan la importancia del uso de IGRA como un indicador de infección latente de TB en personal de salud y relación al grado de exposición ambiental al *Mycobacterium tuberculosis* en los centros hospitalarios. Nuestro estudio, es el primero en Panamá dirigido al personal de salud y al riesgo de exposición ambiental a la bacteria. En este estudio trabajamos con una muestra de 200 trabajadores de salud. A cada uno de los trabajadores se le aplicó una encuesta para obtener datos demográficos y epidemiológicos de esta muestra. De los 200 PS el 75 % de la población era femenino, contra 25% de la población que era masculino. De esta población un 35% resultó positivo para infección latente de TB contra 65% que resultó negativo. El

rango de edad con mayor población positiva para ILTB que estuvo en el rango de 51-60 con un 53%, resultados muy similares a varios estudios presentados en esta discusión. El 18% de la población tenían educación secundaria y 55% resulto positivo a ILTB, siendo que el de personal de este grupo pertenecía a la parte administrativa y técnicos generales. En comparación con los estudios mencionados anteriormente nuestra población con mayor incidencia de positivos se presenta en personal de salud de atención no clínica con 72 % contra un 29.5% de personal de asistencia clínica. Expresando así que el personal en general del hospitalario en general se encuentra en riesgo. Un 73% de la población respondió haberse puesto la vacuna de BCG y de estos de estos un 32% resultó positivo para de ILTB. El 18% de la población respondió a la encuesta haberse realizado la prueba de PPD. En donde el 73% de la población resulto PPD positivo y ILTB negativo, 27% resulto PPD positivo y ILTB positivo, 25% resulto PPD negativo y ILTB negativo, 75% resulto PPD negativo y ILTB positivo. Debido a que había valores bajos se realizó una prueba de Fisher donde se determinó con IC del 95% un valor de $p=0.0008$ que nos indica que los resultados de ILTB son significativamente diferentes a los de PPD. Se calculo el índice de Kappa que resulto -0.383 lo que determina que hay una concordancia muy pobre entre el valor de ILTB y PPD. Un 44 % resulto positivo para ILTB y reportó haber tenido contacto con un familiar o conocido con TB, un 35% que reportó no haber tenido contacto con un familiar o conocido con TB resultaron positivos para ILTB. Un 56% reportó haber tenido contacto y resultaron negativos para ILTB y un 65% reporto no haber tenido contacto y resultaron negativos para ILTB. Se realizo una prueba de Fisher donde se determino con IC del 95% un valor de $p=0.140$ lo que determina que no hay una asociación significativa entre el PS ILTB positivo y que hayan tenido contacto fuera del hospital con algún familiar o conocido con TB. También obtuvimos el índice de kappa de 0.038 que corrobora que hay una pobre relación entre las variables.

En nuestro estudio dividimos la muestra en personal clínico y no clínico, en donde el personal clínico con ILTB negativo alcanzó un 70.4% y el personal clínico con ILTB positivo alcanzo un 29.5%. El personal no clínico negativo para ILTB alcanzo un 27.5% y el personal no clínico ILTB positivo alcanzó un 72%. Nosotros realizamos una prueba de Fisher donde se determino con IC del 95% un valor de $p=0.00003$ que nos indica que hay una diferencia significativa en entre ambos grupo al riesgo de exposición de TB. El valor

del índice de Kappa es de -0.172 que determina que hay una pobre relación de exposición en ambos grupos

Una de los elementos importantes y claves de nuestro estudio resultó el muestreo ambiental en donde logramos recuperar en la sala de espera de urgencias de ortopedia y ginecología, y en el área de recepción y atención de urgencia general, una colonia respectivamente que identificamos como miembro del género *Mycobacterium* por la tinción de Ziehl Neelsen. De acuerdo a la clasificación de las áreas de riesgo de exposición a TB, estas entran dentro de las áreas de riesgo alto y medio, en donde el riesgo alto obtuvo un 51% de personal salud positivo para ILTB y en el riesgo medio un 30% y en las áreas de bajo riesgo se obtuvo un 19%, resultados similares a los estudios mencionados anteriormente. Realizamos una prueba de Fisher con intervalo de confianza al 95% el valor de $p=0.152$ nos indica que no hay una asociación significativa entre áreas y el índice de Kappa 0.003 nos dice que hay una fuerte relación entre áreas es decir que la mayoría del personal de salud dentro del nosocomio tiene la probabilidad de adquirir la infección latente de TB lo que se corrobora con la mayoría de los resultados obtenidos en nuestro estudio y en los estudios citados en nuestra investigación.

Para mejorar el proceso de muestreo ambiental se puede utilizar métodos de muestreo activo SAS ya que son más eficientes y automatizados que el monitoreo pasivo a la hora de realizar el muestreo y si se necesita mantener un monitoreo continuo de las instalaciones.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y
RECOMENDACIONES

Conclusiones

En conclusion logramos determinar que existe riesgo de exposicion ambiental al *Mycobacterium tuberculosis*, en las instalaciones de salud hacia el PS Ya que el *Mycobacterium tuberculosis* se trata de un agente transmitido a nivel ambiental, cuyas características morfológicas lo hacen resistente al medio ambiente y de facil transporte a nivel de particulas o nucleos de Wells

Se determino que las instalaciones, necesitan mejorar sus infraestructuras ya que carecen de muchas necesidades en cuanto a ventilacion y espacios mas eficientes y mejor distribuidos para atender un numero tan elevados de pacientes, poniendo en riesgo al personal de salud

Con esta investigacion se concluye que el muestreo ambiental es un elemento importante en el diagnóstico de la calidad del ambiente nosocomial y su relación con las estadísticas epidemiológicas enfermedades de transmision respiratoria y de contacto

Gracias al complemento entre las pruebas microbiologicas ambientales y las nuevas herramientas de deteccion de infeccion latente como QuantiFeron TB- Gold, se puede detectar las areas y el PS en mayor riesgo de exposición al *Mycobacterium tuberculosis*

Recomendaciones

Con esta base a los resultados y conclusiones presentados en esta tesis recomendamos

Con los datos obtenidos en esta investigación ponen de relieve la importancia de una mayor aplicación de las medidas de control de infecciones no solo a nivel ambiental sino también la búsqueda de nuevas herramientas que mejoren la detección eficiente de la infección latente de TB. Herramientas como QuantiFeron TB- Gold puedan apoyar el diagnóstico y los muestreos ambientales para dejar en evidencia el riesgo ambiental al que está expuesto el personal de salud.

La alta especificidad de QuantiFeron TB- Gold nos permite recomendarlo como una herramienta para la detección de infección latente de tuberculosis en el PS en nuestro país, ya que permite que los resultados no se vean afectados por la vacuna BCG o por Mycobacterias atípicas. Aumentando el porcentaje de detección de infección latente real en el PS.

Que son necesarias políticas de salud de prevención y detección temprana y profilaxis. Colocando esta prueba de QFT como una herramienta esencial para la detección de infección latente adquirida a nivel ambiental en los centros hospitalarios.

Es necesario el mejoramiento al acceso a estas herramientas preventivas para el personal de salud de los hospitales en Panamá.

Se recomienda realizar monitoreos ambientales activos utilizando la metodología SAS para obtener mejores resultados en la captación de mycobacterias en el ambiente hospitalario.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdallah, A M , Gey van Pittius, N C , Champion, P A D , Cox, J , Luirink, J , Vandembroucke-Grauls, C M J E , Bitter, W (2007) Type VII secretion--mycobacteria show the way *Nature reviews Microbiology*, 5(11), 883–91 doi 10 1038/nrmicro1773
- Abdel-Samea, S a , Ismail, Y M , Fayed, S M a , & Mohammad, A A (2013) Comparative study between using QuantiFERON and tuberculin skin test in diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 62(1), 137–143 doi 10 1016/j.ejcdt 2013 02 003
- Adachi, E , Kogayu, M , Fujii, T , Mae, H , Shimizu, S , Iwai, Y , Koibuchi, T (2013) Tuberculosis examination using whole blood interferon-gamma release assay among health care workers in a Japanese hospital without tuberculosis-specific wards *SpringerPlus*, 2, 440 doi 10 1186/2193-1801-2-440
- Aguilar-González, R R-H C N , Ayala-Labarríos, L A , Rocha-Revilla, J C , Padilla-García, V , & Espinosa-Hernández, T C (2009) *DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE METODOS MOLECULARES* Retrieved from [http //www posgradoeinvestigacion uadec mx/AQM/No1/AQMmicroorganismos html](http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No1/AQMmicroorganismos.html)
- AJ, M (2002) Fate and Transport of Microorganisms in Air In H CJ, C RL, K G, M M, & S LD (Eds), *Manual of Environmental Microbiology* (2nd ed , pp 827–38) Washington DC ASM Press, Retrieved from [https //books google com/books?hl=es&lr=&id=zu2rBAAQBAJ&pgis=1](https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=zu2rBAAQBAJ&pgis=1)
- Andersen, P , Munk, M E , Pollock, J M , & Doherty, T M (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis *Lancet (London, England)*, 356(9235), 1099–104 Retrieved from [http //www ncbi nlm nih gov/pubmed/11009160](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11009160)
- Arango V, S S (n d) Biomarkers for the evaluation of human health risks *Revista Facultad Nacional de Salud Publica*, 30(1), 75–82 Retrieved from [http //www scielo org co/scielo php?script=sci_arttext&pid=S0120-386X2012000100009&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org/co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-386X2012000100009&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Babayigit, C , Ozer, B , Ozer, C , Inandı, T , Duran, N , & Gocmen, O (2014) Performance of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and Tuberculin Skin Test for diagnosis of latent tuberculosis infection in BCG vaccinated health care workers *Medical science monitor international medical journal of experimental and clinical research*, 20, 521–9 doi 10 12659/MSM 889943
- Bansal-Mutalik, R , & Nikaído, H (2014) Mycobacterial outer membrane is a lipid bilayer and the inner membrane is unusually rich in diacyl phosphatidylinositol dimannosides

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(13), 4958–63 doi 10 1073/pnas 1403078111

Bartha, R , & Atlas, R M (2002) *ECOLOGIA MICROBIANA Y MICROBIOLOGIA AMBIENTAL* (Pearson, Ed) (4th ed , p 696) Retrieved from [http //conten.pearson.es/ib/NPcd/IB_BooksVis?cod_primaria=1000187&codigo_libro=2350](http://conten.pearson.es/ib/NPcd/IB_BooksVis?cod_primaria=1000187&codigo_libro=2350)

Beck-Sague, C , Dooley, S W , Hutton, M D , Otten, J , Breeden, A , Crawford, J T , Jarvis, W R (1992) Hospital outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infections. Factors in transmission to staff and HIV-infected patients *JAMA*, 268(10), 1280–6 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1507374](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1507374)

Borroto, S , Gamez, D , Diaz, D , Martinez, Y , Ferrer, A I , Velásquez, Y , González, E (2011) Latent tuberculosis infection among health care workers at a general hospital in Santiago de Cuba *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 15(11), 1510–4, 1 doi 10 5588/ijtld 10 0333

Bottai, D , & Brosch, R (2009) Mycobacterial PE, PPE and ESX clusters: novel insights into the secretion of these most unusual protein families *Molecular microbiology*, 73(3), 325–8 doi 10 1111/j 1365-2958 2009 06784 x

Breathnach, A S , de Ruiter, A , Holdsworth, G M , Bateman, N T , O'Sullivan, D G , Rees, P J , French, G L (1998) An outbreak of multi-drug-resistant tuberculosis in a London teaching hospital *The Journal of hospital infection*, 39(2), 111–7 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9651855](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9651855)

Buregyeya, E , Nuwaha, F , Verver, S , Criel, B , Colebunders, R , Wanyenze, R , Mitchell, E M (2013) Implementation of tuberculosis infection control in health facilities in Mukono and Wakiso districts, Uganda *BMC infectious diseases*, 13(1), 360 doi 10 1186/1471-2334-13-360

Ceccotti, E L (1994) *Clinica estomatologica SIDA, cancer y otras afecciones / Eduardo Luis Ceccotti Medical panamericana* (pp 178–179) Retrieved from [http //www.researchgate.net/publication/44470704_Clnica_estomatolgica__SIDA_cncer_y_otras_afecciones__Eduardo_Luis_Ceccotti](http://www.researchgate.net/publication/44470704_Clnica_estomatolgica__SIDA_cncer_y_otras_afecciones__Eduardo_Luis_Ceccotti)

Centers for disease control and prevention (1989) *Mycobacterium tuberculosis Transmission in a Health Clinic -- Florida, 1988* (pp 256–264) Retrieved from [http //www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001377.htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001377.htm)

- Centers for disease control and prevention (2000) *Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection* (Vol 49, pp 1–71)
- Centers for disease control and prevention (2003) *Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)* (pp 1–48) Retrieved from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5210a1.htm>
- Chen, P -S , & Li, C -S (2005) Quantification of Airborne Mycobacterium tuberculosis in Health Care Setting Using Real-Time qPCR Coupled to an Air-Sampling Filter Method *Aerosol Science and Technology*, 39(4), 371–376
doi 10.1080/027868290945767
- Coffey, C C , Lawrence, R B , Zhuang, Z , Campbell, D L , Jensen, P A , & Myers, W R (2002) Comparison of five methods for fit-testing N95 filtering-facepiece respirators *Applied occupational and environmental hygiene*, 17(10), 723–30
doi 10.1080/10473220290107002
- Cole, E C , & Cook, C E (1998) Characterization of infectious aerosols in health care facilities an aid to effective engineering controls and preventive strategies *American journal of infection control*, 26(4), 453–64 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9721404>
- Cox, christopher S , & Wathes, C M (1995) Stability of airborne microbes and allergens In *Bioaerosols Handbook* (p 656) CRC Press Retrieved from https://books.google.com/books?id=Mm9TUAAt_EoQC&pgis=1
- Craviotto, F G , & Limongi, L (2012) Controversias en el uso del derivado proteico purificado de tuberculina (PPD) y las nuevas tecnicas en la deteccion in vitro de los niveles de interferon gamma (IGRAs) en un pais con alta tasa de infeccion por tuberculosis *Revista americana de medicina respiratoria*, 12(2), 44–53 Retrieved from http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-236X2012000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- D'Agata, E M , Wise, S , Stewart, A , & Lefkowitz, L B (2001) Nosocomial transmission of Mycobacterium tuberculosis from an extrapulmonary site *Infection control and hospital epidemiology*, 22(1), 10–2 doi 10.1086/501817
- Daffe Glycolipids of Recent Clinical Isolates of Mycobacterium tuberculosis 1989 pdf (n d)
- Demkow, U , Broniarek-Samson, B , Filewska, M , Lewandowska, K , Maciejewski, J , Zycinska, K , Kus, J (2008) Prevalence of latent tuberculosis infection in health care workers in Poland assessed by interferon-gamma whole blood and tuberculin skin

tests *Journal of physiology and pharmacology an official journal of the Polish Physiological Society*, 59 Suppl 6, 209–17 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19218645>

Drobniewski, F , Balabanova, Y , Zakamova, E , Nikolayevskyy, V , & Fedorin, I (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia *PLoS medicine*, 4(2), e55 doi 10.1371/journal.pmed.0040055

Eickhoff, T C (1994) Airborne nosocomial infection a contemporary perspective *Infection control and hospital epidemiology*, 15(10), 663–72 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7844338>

Escombe, A R , Oeser, C C , Gilman, R H , Navincopa, M , Ticona, E , Pan, W , Evans, C A (2007) Natural Ventilation for the Prevention of Airborne Contagion *PLoS Medicine*, 4(2), e68 doi 10.1371/journal.pmed.0040068

Fennelly, K P , & Iseman, M D (1999) Health care workers and tuberculosis the battle of a century *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 3(5), 363–4 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10331721>

GAJ, A , Babb JR, T , & LJ, A (1999) Infection and the spread of microorganisms In *Hospital Acquired Infections Principles and prevention* (Vol 43, pp 38–40) BMJ Group Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC502855/?page=1>

Garcia Infecciones respiratorias por micobacterias ambientales 2005 pdf (n d)

Garray, J S (1985) *Atlas de Patologia Del Complejo Bucal* (C Medicas, Ed) (2da ed , pp 131–133) Cuba Retrieved from <http://es.scribd.com/doc/141757042/Atlas-de-Patologia-Del-Complejo-Bucal#scribd>

Gerald H Mazurek, M , John Jereb, M , Andrew Vernon, M , Phillip LoBue, M , Stefan Goldberg, M , & Kenneth Castro, M (2010) *Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect Mycobacterium tuberculosis Infection --- United States, 2010* (p 59(RR05) 1–25) Retrieved from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5905a1.htm>

Girardi, E , Angeletti, C , Puro, V , Sorrentino, R , Magnavita, N , Vincenti, D , Goletti, D (2009) Estimating diagnostic accuracy of tests for latent tuberculosis infection without a gold standard among healthcare workers *Euro surveillance bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 14(43) Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19883555>

- Granich, R , Binkin, N J , Rieder, H L , & Transmisibles, P D E (2002) *Normas para la prevencion de la Tuberculosis* (pp 1–53)
- Gregory, P H (1961) *The microbiology of the atmosphere* (I P London, L Hill, New York, Ed) (pp 217–236) Retrieved from [https //archive org/details/microbiologyofat00greg](https://archive.org/details/microbiologyofat00greg)
- Hattis, D , Russ, A , Goble, R , Banati, P , & Chu, M (2001) Human interindividual variability in susceptibility to airborne particles *Risk analysis an official publication of the Society for Risk Analysis*, 21(4), 585–99 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11726014](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11726014)
- He, G X , Wang, L X , Chai, S J , Klena, J D , Cheng, S M , Ren, Y L , Varma, J K (2012) Risk factors associated with tuberculosis infection among health care workers in Inner Mongolia, China *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 16(11), 1485–91 doi 10.5588/ijtld.12.0193
- Hernandez, M , Casar, C , Garcia, P , Morales, V , Mamani, N , Gomez-Cofre, N , Balcells, M E (2014) [Latent tuberculosis infection screening in healthcare workers in four large hospitals in Santiago, Chile] *Revista chilena de infectologia organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia*, 31(3), 254–60 doi 10.4067/S0716-10182014000300002
- International Organization for Standardization (ISO) (2003) *Cleanrooms and associated controlled environments -- Biocontamination control -- Part 1 General principles and methods* (p 32) Retrieved from [http //www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=25015](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=25015)
- Jiamjarangsri, W , Urth, S , & Srisintorn, W (2006) Nosocomial tuberculosis risk assessment and management recommendation for an emergency department in a university hospital *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*, 89(10), 1733–41 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17128850](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17128850)
- Jo, K-W, Woo, J H , Hong, Y , Choi, C -M , Oh, Y -M , Lee, S D , Shim, T S (2008) Incidence of tuberculosis among health care workers at a private university hospital in South Korea *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 12(4), 436–40 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18371271](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18371271)
- Jo, Kyung-Wook, Hong, Y , Park, J S , Bae, I -G , Eom, J S , Lee, S -R , Shim, T S (2013) Prevalence of Latent Tuberculosis Infection among Health Care Workers in

- South Korea A Multicenter Study *Tuberculosis and respiratory diseases*, 75(1), 18–24 doi 10.4046/trd.2013.75.1.18
- Joshi, R , Reingold, A L , Menzies, D , & Pai, M (2006) Tuberculosis among health-care workers in low- and middle-income countries a systematic review *PLoS medicine*, 3(12), e494 doi 10.1371/journal.pmed.0030494
- Kruuner, A , Danilovitch, M , Pehme, L , Laisaar, T , Hoffner, S E , & Katila, M L (2001) Tuberculosis as an occupational hazard for health care workers in Estonia *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 5(2), 170–6 Retrieved from [http //www ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11258511](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11258511)
- Kumar, V , Cotran, R S , & Robbins, S (2000) *ROBBINS PATOLOGIA ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL* (M G Hill, Ed) (6th ed , pp 370–373) Retrieved from [http //www casadellibro.com/libro-robbins-patologia-estructural-y-funcional-6-ed/9788448602505/677244](http://www.casadellibro.com/libro-robbins-patologia-estructural-y-funcional-6-ed/9788448602505/677244)
- Lien, L T , Hang, N T Le, Kobayashi, N , Yanai, H , Toyota, E , Sakurada, S , Keicho, N (2009) Prevalence and risk factors for tuberculosis infection among hospital workers in Hanoi, Viet Nam *PloS one*, 4(8), e6798 doi 10.1371/journal.pone.0006798
- Mancher, J , HA, A , HA, B , DK, M , & PR, M (1999) *Bioaerosols Assessment and Control* (ACGIH, Ed) (pp 1–5) Retrieved from [https //www acgih.org/forms/store/ProductFormPublic/bioaerosols-assessment-and-control](https://www.acgih.org/forms/store/ProductFormPublic/bioaerosols-assessment-and-control)
- Matuka, O , Singh, T S , Bryce, E , Yassi, A , Kgasha, O , Zungu, M , O'Hara, L (2015) Pilot study to detect airborne Mycobacterium tuberculosis exposure in a South African public healthcare facility outpatient clinic *The Journal of hospital infection*, 89(3), 192–6 doi 10.1016/j.jhin.2014.11.013
- Miller, A K , Tepper, A , & Sieber, K (2002) Historical risks of tuberculin skin test conversion among non-physician staff at a large urban hospital *American journal of industrial medicine*, 42(3), 228–35 doi 10.1002/ajim.10108
- Muller, B , Durr, S , Alonso, S , Hattendorf, J , Laisse, C J M , DC , S P , Zinsstag, J (2013) Zoonotic Mycobacterium bovis–induced Tuberculosis in Humans - Volume *Emerging infectious diseases*, 19(6) Retrieved from [http //wwwnc cdc.gov/eid/article/19/6/12-0543_article](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/19/6/12-0543_article)

- Murray, P R , Rosenthal, K S , & Pfaller, M A (2009) *Microbiologia Medica + Student Consult* (6a ed , p 947) Elsevier España Retrieved from [https //books google com/books?id=GZ1-JI9AmI8C&pgis=1](https://books.google.com/books?id=GZ1-JI9AmI8C&pgis=1)
- Nienhaus, A (2009) [Tuberculosis in healthcare workers] *Pneumologie (Stuttgart, Germany)*, 63(1), 23–30 doi 10 1055/s-0028-1100828
- OMS (2015) *Tuberculosis* (p Nota descriptiva N° 104) World Health Organization Retrieved from [http //www who int/mediacentre/factsheets/fs104/es/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/)
- Paul A Jensen, P D , PE, & CIH and Millie P Schafer, P D N (1998) SAMPLING AND CHARACTERIZATION OF BIOAEROSOLS *Niosh Manual of analytical methods*, 82–112
- Paul A Jensen, P , Lauren A Lambert, M , Michael F Iademarco, M , & Renee Ridzon, M (2005) *Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, 2005* (pp 54(RR17),1–141) Retrieved from [http //www cdc gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5417a1 htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5417a1.htm)
- Pelczar, M J , Chan, E C S , & Krieg, N R (1993) *Microbiology Concepts and Applications* (McGraw-Hill, Ed) Retrieved from [http //www abebooks com/servlet/BookDetailsPL?bi=13316516301&searchurl=tn=microbiology+concepts+and+applications&an=michael+joseph+pelczar+e+c+s+chan+n+oel+r+krieg](http://www.abebooks.com/servlet/BookDetailsPL?bi=13316516301&searchurl=tn=microbiology+concepts+and+applications&an=michael+joseph+pelczar+e+c+s+chan+n+oel+r+krieg)
- Pimienta-Rodriguez, E T , Rodriguez-Valdes, C , Sarzo-Gomez, M , & Vallin-Plou, C (2012) Producción de los antígenos ESAT-6 y CFP-10 de Mycobacterium tuberculosis y evaluación de sus potencialidades en el serodiagnóstico de la tuberculosis activa en una población cubana *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 43(2), 1–8 Retrieved from [http //www redalyc org/articulo oa?id=181223782003](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181223782003)
- Potts, M (1994) Desiccation tolerance of prokaryotes *Microbiological reviews*, 58(4), 755–805 Retrieved from [http //www pubmedcentral nih gov/articlerender fcgi?artid=372989&tool=pmcentrez &rendertype=abstract](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=372989&tool=pmcentrez&rendertype=abstract)
- Rafiza, S , & Rampal, K G (2012) Serial testing of Malaysian health care workers with QuantiFERON®-TB Gold In-Tube *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 16(2), 163–8 doi 10 5588/ijtld.11.0364
- Regulations, eCFR — C of F (2015) APPROVAL OF RESPIRATORY PROTECTIVE DEVICES *Title 42, Chapter I, Subchapter G, Part 84* Retrieved September 18, 2015, from [http //www ecfr gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&r=PART&n=42y1_01767](http://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&r=PART&n=42y1_01767)

- Restrepo, B I (2004) Nuevas herramientas para la detección de la tuberculosis latente, 24
- Richeldi, L (2006) An update on the diagnosis of tuberculosis infection *American journal of respiratory and critical care medicine*, 174(7), 736–42 doi 10.1164/rccm.200509-1516PP
- Richeldi, L (2009) Diagnosing latent tuberculosis infection guess who's coming to dinner? *American journal of respiratory and critical care medicine*, 180(1), 1–2 doi 10.1164/rccm.200904-0562ED
- Riley, R L , Mills, C C , Nyka, W , Weinstock, N , Storey, P B , Sultan, L U , Wells, W F (1995) Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis A two-year study of contagion in a tuberculosis ward 1959 *American journal of epidemiology*, 142(1), 3–14 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7785671>
- Saleiro, S , Santos, A R , Vidal, O , Carvalho, T , Torres Costa, J , & Agostinho Marques, J (n d) [Tuberculosis in hospital department health care workers] *Revista portuguesa de pneumologia*, 13(6), 789–99 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18183330>
- Sandiford, C P , Tee, R D , & Taylor, A J (1994) The role of cereal and fungal amylases in cereal flour hypersensitivity *Clinical and experimental allergy journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 24(6), 549–57 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7522943>
- Schaal, K P (1991) Medical and microbiological problems arising from airborne infection in hospitals *The Journal of hospital infection*, 18 Suppl A, 451–9 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1679815>
- Schluger, N W , & Rom, W N (1998) The host immune response to tuberculosis *American journal of respiratory and critical care medicine*, 157(3 Pt 1), 679–91 doi 10.1164/ajrccm.157.3.9708002
- Schweigert, M K , Mackenzie, D P , & Sarlo, K (2000) Occupational asthma and allergy associated with the use of enzymes in the detergent industry--a review of the epidemiology, toxicology and methods of prevention *Clinical and experimental allergy journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 30(11), 1511–8 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11069558>
- Shelton, B G , Kirkland, K H , Flanders, W D , & Morris, G K (2002) Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States, 68(4), 1743–1753 doi 10.1128/AEM.68.4.1743

- Sherman, H A , Karakis, I , Heimer, D , Arzt, M , Goldstein, W , Bouhnik, L , & Maimon, M N (2011) Housekeeping health care workers have the highest risk for tuberculin skin test conversion *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 15(8), 1050–5 doi 10 5588/ijtld 10 0344
- Skodric-Trifunovic, V , Markovic-Denic, L , Nagorni-Obradovic, L , Vlajinac, H , & Woeltje, K F (2009) The risk of occupational tuberculosis in Serbian health care workers *The international journal of tuberculosis and lung disease the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 13(5), 640–4 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19383199](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19383199)
- Srikanth, P , Sudharsanam, S , & Steinberg, R (2008) Bio-aerosols in indoor environment Composition, health effects and analysis *Indian Journal of Medical Microbiology*, 26(4), 302 doi 10 4103/0255-0857 43555
- Stetzenbach, L D (2005) *Airborne Bacteria Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections* (B W J Mahy, V ter Meulen, S P Borriello, P R Murray, G Funke, S H E Kaufmann, D D Despommier, Eds) (pp 185–194) Chichester, UK John Wiley & Sons, Ltd
- Su, J , Liu, H -Y , Tan, X -L , Ji, Y , Jiang, Y -X , Prabhakar, M , Zhang, G -X (2015) Sputum Bacterial and Fungal Dynamics during Exacerbations of Severe COPD *PLoS one*, 10(7), e0130736 doi 10 1371/journal.pone.0130736
- Vadrot, C , Bex, V , Mouilleseaux, a, Squinazi, F , & Darbord, J -C (2004) Detection of Mycobacterium tuberculosis complex by PCR in hospital air samples *The Journal of hospital infection*, 58(4), 262–7 doi 10 1016/j.jhin.2004.04.026
- Vinton, P , Mirshahi, S , Johnson, P , Jenkin, G A , Jolley, D , & Biggs, B -A (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test and tuberculin skin test for identification of latent Mycobacterium tuberculosis infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection *Infection control and hospital epidemiology*, 30(3), 215–21 doi 10 1086/595695
- Wan, G -H , Lu, S -C , & Tsai, Y -H (2004) Polymerase chain reaction used for the detection of airborne Mycobacterium tuberculosis in health care settings *American journal of infection control*, 32(1), 17–22 Retrieved from [http //www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14755230](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14755230)
- Wang, L , Liu, J , & Chin, D P (2007) Progress in tuberculosis control and the evolving public-health system in China *Lancet (London, England)*, 369(9562), 691–6 doi 10 1016/S0140-6736(07)60316-X

Whitaker, J A , A Whitaker, J , Mirtskhulava, V , Kipiani, M , Harris, D A , Tabagari, N ,
Blumberg, H M (2013) Prevalence and incidence of latent tuberculosis infection
in georgian healthcare workers *PloS one*, 8(3), e58202
doi 10 1371/journal pone 0058202

Wilson, P (2007) Is natural ventilation a useful tool to prevent the airborne spread of TB?
PLoS medicine, 4(2), e77 doi 10 1371/journal pmed 0040077

Zlojtro, M , Jankovic, M , Samarzija, M , Zmak, L , Jankovic, V K , Obrovac, M ,
Jakopovic, M (2015) Nosocomial pseudo-outbreak of *Mycobacterium gordonae*
associated with a hospital's water supply contamination a case series of 135 patients
Journal of water and health, 13(1), 125–30 doi 10 2166/wh 2014 061

TABLAS

Tabla #1 Microorganismos asociados a bioaerosoles.

	Hongos	Bacterias	Virus
Numero de Organismos más reportados	<i>Aspergillus spp</i> <i>Mucorales (Rhizopus spp)</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Measles (rubeola) virus</i> <i>Varicella-zoster virus</i>
Microorganismos Poca Frecuencia	<i>Acremonium spp</i> <i>Fusarium spp</i> <i>Pseudoallescheria boydu</i> <i>Scedosporium spp</i> <i>Sporothrix cyanescens</i>	<i>Acinetobacter spp</i> <i>Bacillus spp</i> <i>Brucella spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Group A Streptococcus</i>	<i>Smallpox virus (variola)</i> <i>Influenza viruses</i> <i>Respiratory syncytial virus</i> <i>Adenoviruses</i> <i>Norwalk-like virus</i>
Microorganismos transportados por la naturaleza	<i>Coccidioides immitis</i> <i>Cryptococcus spp</i> <i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Coxiella burnetu</i>	<i>Hantaviruses</i> <i>Lassa virus</i> <i>Marburg virus</i> <i>Ebola virus</i> <i>Crimean-Congo virus</i>
Organismos en investigación	<i>Pneumocystis carini</i>	-	-

(Centers for Disease Control and Prevention, 2003)

Tabla #2 Comparación de métodos directos e indirectos para determinar la exposición a *Mycobacterium tuberculosis* en el ambiente

	Métodos directos				Método indirecto
	Sedimentación	Recogida en medio acuoso	Filtración	Impactación	Biomarcadores inmunológicos
Bajo Costo	si	no	no	no	si
Manejabilidad	si	si	si	no	si
Deseccación	si	si	si	si	no
Mediciones cuantitativas	no	si	si	si	si
Contaminación	incierto	si	si	incierto	no
Separación por tamaño de partícula	No es selectivo	no	no	Depende del equipo	No es necesario es selectivo para TB
Reproducibilidad	No es específico	si	si	si	si
Preparación de Medios	si	si	Requiere medios pre-preparados	Si/ Requiere de medios pre-preparados	No es necesario hacer cultivo de la bacteria
Tiempo de Obtención de resultados	8 a 12 semanas	8 a 12 semanas	8 a 12 semanas	8 a 12 semanas	De 24 a 48 horas
Valoración de ambientes asépticos.	Es inespecífico	si	no	Si depende del equipo	Es efectivo en cualquier ambiente

(P D Paul A Jensen et al , 1998)

Tabla # 3 Diferencias entre infección latente y enfermedad tuberculosa

<p>Una persona con la infección latente de tuberculosis</p>	<p>Una persona con la enfermedad de tuberculosis</p>
<p>No tiene ningún síntoma, no se siente mal</p>	<p>Presenta síntomas que pueden incluir tos, dolor en el pecho, tos con sangre o esputo, debilidad o fatiga pérdida de peso, falta de apetito escalofríos, fiebre, sudores nocturnos</p>
<p>La prueba cutánea o de sangre a veces no indica que tiene una infección por tuberculosis</p>	<p>La prueba cutánea o de la prueba de sangre indica que tiene una infección por tuberculosis</p>
<p>Radiografía de tórax normal y un resultado negativo al frotis de esputo</p>	<p>Radiografía de tórax anormal o resultado positivo al frotis o el cultivo de esputo</p>
<p>Necesita tratarse la infección de tuberculosis latente para evitar que se convierta en enfermedad de tuberculosis</p>	<p>Necesita tratarse la enfermedad</p>

Tabla # 4 Especificidad de ESAT-6 y CFP-10 en las mycobacterias

<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	Antigenos		Mycobacterias ambientales	Antigenos	
	ESAT-6	CFP-10		ESAT-6	CFP-10
<i>M tuberculosis</i>	+	+	<i>M abscesus</i>	-	-
<i>M africanum</i>	+	+	<i>M avium</i>	-	-
<i>M bovis</i>	+	+	<i>M bander</i>	-	-
Cepas contenidas en vacuna					
Gothenburg	-	-	<i>M chelonae</i>	-	-
Moreau	-	-	<i>M fortuitum</i>	-	-
Tice	-	-	<i>M gordonae</i>	-	-
Tokyo	-	-	<i>M intracellulare</i>	-	-
Danish	-	-	<i>M kansasii</i>	+	+
Glaxo	-	-	<i>M malmoense</i>	-	-
Montreal	-	-	<i>M scrofulaceum</i>	-	-
Pasteur	-	-	<i>M smegmatis</i>	-	-
			<i>M szulgai</i>	+	+
			<i>M terrae</i>	-	-
			<i>M xenopi</i>	-	-

**Servicio de Neumología, Hospital Universitario Central de Asturias-Instituto
Nacional de Silicosis, Oviedo, España, 2011.**

Tabla#5 Diseño experimental de Muestreo edificio de MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero.

Área de Muestro	Muestreo #1	Muestreo #2
Riesgo Alto	# de Replicas	# de Replicas
1-Enfermería	R1,R2,R3	R1,R2,R3
2-Lab. Tinción de TB	R1,R2,R3	R1,R2,R3
3- Med. General Ginecología	R1,R2,R3	R1,R2,R3
Riesgo Medio		
1-Odontología	R1,R2,R3	R1,R2,R3
2-Pasillo de asistencia general	R1,R2,R3	R1,R2,R3
3-Lab. Clínico.	R1,R2,R3	R1,R2,R3
Riesgo Bajo		
1-Recepción General	R1,R2,R3	R1,R2,R3
2-Área de Solicitud de Cupos	R1,R2,R3	R1,R2,R3
3-Oficina de Médicos	R1,R2,R3	R1,R2,R3

Tabla # 6 Diseño experimental de Muestreo Hospital Amador Guerrero

Área de Muestro	Muestreo #1	Muestreo #2
Riesgo Alto	# de Replicas	# de Replicas
1-Cuarto de urgencia general	R1,R2,R3	R1,R2,R3
2-Neumología sala de Intensivo	R1,R2,R3	R1,R2,R3
3-Área de procedimientos toma de muestras de esputos.	R1,R2,R3	R1,R2,R3
Riesgo Medio		
1-Pasillo de urgencia de Ortopedia y Ginecología	R1,R2,R3	R1,R2,R3
2-Áreas de consulta de ortopedia.	R1,R2,R3	R1,R2,R3
3-Pasillo de Urgencia general.	R1,R2,R3	R1,R2,R3
Riesgo Bajo		
1-Sala de pediatría.	R1,R2,R3	R1,R2,R3
2-Sala de mujeres embarazadas.	R1,R2,R3	R1,R2,R3
3- Recepción General	R1,R2,R3	R1,R2,R3

Tabla #7 Resultados promedio del muestreo Ambiental del edificio MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero)

Área de Muestreo	Total de UFC	Total de colonias de hongos.	Total de UFC	Total de colonias de hongos
Riesgo Alto	\bar{X} Muestreo 1	\bar{X} Muestreo 1	\bar{X} Muestreo 2	\bar{X} Muestreo 2
1-Enfermería	18UFC	-	19UFC	-
2-Lab. Tinción de TB	16UFC	4 colonias	18UFC	-
3- Med. General Ginecología	88UFC	-	68UFC	1 Colonia
Riesgo Medio				
1-Odontología	22UFC	4 colonias	34UFC	-
2-Pasillo de asistencia general	Incontable	-5 colonias	Incontable	3 Colonias
3-Laboratorio Clínico.	17UFC	-	6UFC	7 Colonias
Riesgo Bajo				
1-Recepción General	Incontable/295UFC	-	Incontable/250 UFC	1 Colonias
2-Área de Solicitud de Cupos	238UFC	-	Incontable/248 UFC	-
3-Oficina de Médicos	17UFC	1 colonia	45UFC	4 Colonias

**Tabla # 8 Resultados promedio del muestreo Ambiental del Hospital Amador
Guerrero.**

Área de Muestro	Total de UFC	Total de colonias de hongos.	Total de UFC	Total de colonias de hongos
Riesgo Alto	\bar{X} Muestreo 1	\bar{X} Muestreo 1	\bar{X} Muestreo 2	\bar{X} Muestreo 2
1-Cuarto de urgencia general	38UFC	-	38UFC	8 colonias
2-Neumología sala de Intensivo	59UFC	-	33UFC	1 colonia
3-Área de procedimientos toma de muestras de esputos.	27UFC	-	20UFC	1 colonia
Riesgo Medio				
1-Pasillo de urgencia de Ortopedia y Ginecología	197UFC	-	58UFC	-
2-Áreas de consulta de ortopedia.	50UFC	-	70UFC	-
3-Pasillo de Urgencia general.	126UFC	-	62UFC	-
Riesgo Bajo				
1-Sala de pediatría.	27UFC	-	17UFC	3 colonias
2-Sala de mujeres embarazadas.	34UFC	-	45UFC	-
3- Recepción General	110UFC		90UFC	8 colonias

Tabla #9 Criterio de interpretación de los Valores para Interferón Gamma medidos por el Kit de QuantiFeron- TB Gold.

Nulo (UI/ml)	Antígenos TB menos Nulo(UI/ml)	Mitógeno menos Nulo(UI/ml)	Resultados de QFT	Resultados Interpretación
≤8.0	<0.35	≤0.5	Negativo	Infección por <i>M. tuberculosis</i> Improbable
	≥0.35 y <25% del valor del nulo	≥0.5	Negativo	Infección por <i>M. tuberculosis</i> Improbable
	<0.35 y <25% del valor del nulo	Cualquiera	Positivo	Infección por <i>M. tuberculosis</i> probable.
	<0.35	< 0,5	Indeterminado	Resultados indeterminados para la prueba de antígenos TB
	≥0.35 y <25% del valor del nulo	< 0,5	Indeterminado	Resultados indeterminados para la prueba de antígenos TB
>8.0	Cualquiera	Cualquiera	Indeterminado	Resultados indeterminados para la prueba de antígenos TB

Tabla #10 Análisis estadísticos de Resultados obtenidos para los 200 PS medidos con QuantiFeron TB- Gold.

	Negativos	Positivos
Tamaño de la muestra	129	71
Media aritmética (\bar{x}):	0.02UI/ml	3.06UI/ml
Mediana:	0.02UI/ml	2.00UI/ml
Moda:	0.00UI/ml	0.54UI/ml
Menor valor:	-2.28UI/ml	0.37UI/ml
Mayor Valor	0.34UI/ml	11.63UI/ml
Rango:	2.63UI/ml	11.26UI/ml
Rango intercuartílico:	0.12UI/ml	3.67UI/ml
Primer cuartil:	-0.01UI/ml	0.72UI/ml
Tercer cuartil:	0.11UI/ml	4.40UI/ml
Varianza (s^2):	0.06UI/ml	8.76UI/ml
Desviación estándar (s):	0.25UI/ml	2.95UI/ml
Desviación cuartil:	0.06UI/ml	1.83UI/ml
Desviación media:	0.10UI/ml	2.32UI/ml

Resultados demográficos del Personal de Salud con resultados positivos para Interferón Gamma utilizando el Kit QFT.

Tabla #11 Porcentajes de edad, sexo y grado de escolaridad.

Edad	Total	Positivos para ILTB	Negativos para ILTB
20-30	29	5 (17%)	24 (82%)
31-40	49	16(32%)	33(67%)
41-50	54	20(37%)	34(62)
51-60	45	24(53%)	21(46%)
61-70	22	6(16%)	16(72%)
80-90	1	0	1(100%)
Sexo	Total	Positivo para ILTB	Negativos para ILTB
Femenino	149	37(56%)	93(62%)
Masculino	51	15(29%)	36(70%)
Educación	Total	Positivo para ILTB	Negativo para ILTB
Primaria	61	2(33%)	4(66%)
Secundaria	36	20(55%)	16(44%)
Universidad	108	34(31%)	74(68%)
Maestría	18	14(77%)	4(22%)
Postgrado	21	9(42%)	12(57%)
Doctorado	10	2(20%)	8(80%)

Tabla #12 Porcentajes Demográficos para las Pruebas de VIH, PPD y BCG de los 200 PS.

Prueba de VIH	Total	Positivo para ILTB	Negativos para ILTB
Positivos	0	0	0
Negativos	200	71(35%)	129 (65%)
Vacuna BCG	Total	Positivo	Negativo
Si se vacuno	145	47(32%)	98 (67%)
No se vacuno	21	4(20%)	17(80%)
No recuerda la vacuna	32	20 (62%)	12(38%)
Prueba PPD	Total	Positivo	Negativo
No se realizó PPD	165	50(30%)	115(70%)
PPD Positivo	11	3(27%)	8(73%)
PPD Negativos	24	18(75%)	6(25%)

Tabla #13 Porcentaje Demográfico de las diferentes profesiones del PS.

Profesión	Total	Positivos para ILTB	Negativos ILTB
Doctores	40	11(27.5%)	29(72.5%)
Enfermeras	36	15(41.6%)	21(58.3%)
Tec. Enfermería	11	5(45.0%)	6(54%)
Laboratorio	46	9(19.5%)	37(80.4%)
Farmacéuticos	3	2(66%)	1(33%)
Trabajador Social	4	1(25%)	3(75%)
Tec. Rayos X	4	1(25%)	3 (75%)
Otras especialidades	10	2(20%)	8(80%)
Tec. Asistencia General	15	3(20%)	12(80%)
Administrativo	29	21(72.4%)	8(27.5%)

Tabla Nº14 Porcentaje Demográfico de la relación con algún familiar o conocido con TB, y presencia de alguna otra afección.

Contacto con un familiar o conocido con TB	Total	Positivos para ILTB	Negativos para ILTB
Si tuvo contacto	23	10(44%)	13(56%)
No tuvo contacto	175	61(35%)	114(65%)
Otras enfermedades	Total	Positivos para ILTB	Negativos para ILTB
Si padece	65	26(40%)	39(60%)
No padece	135	4(33%)	90(67%)

Tabla #15 Porcentaje demográfico del uso de equipos de Protección Personal y el conocimiento sobre TB y ILTB y Riesgos del PS

Utiliza Equipos de Protección Personal	Total	Positivos para ILTB	Negativos para ILTB
No utiliza	41	20(49%)	21(51%)
Guantes	5	1(20%)	4(80%)
Bata	16	5(31%)	11(69%)
Mascarilla	13	6 (46%)	7(53%)
Más de un equipo	123	39(31%)	80(69%)
Conocimiento sobre TB y ILTB	Total	Positivo para ILTB	Negativos para ILTB
Si conoce	160	54(34%)	106(66%)
No Conoce	40	17(42%)	23(58%)
Conocimiento sobre riesgos del PS	Total	Positivo para ILTB	Negativos para ILTB
Si conoce	176	61(34%)	115(66%)
No Conoce	24	10(41%)	14(59%)

Tabla #16 Porcentaje demográfico frecuencia de exámenes médicos y presencia de síntomas de TB.

Se realiza exámenes Médicos	Total	Positivos para ILTB	Negativos para ILTB
Si se realiza	166	58(35%)	108(65%)
No se Realiza	34	13(38%)	21(62%)
Algún Síntoma no habitual	Total	Positivos para ILTB	Negativos para ILTB
Tos Intensa por largo periodo de Tiempo	13	5(38%)	8(62%)
Sudoración Nocturna	4	2(50%)	2(50%)
Pérdida de Peso	3	2(66%)	1(34%)
Falta de Apetito	0	0%	0%
Debilidad o Cansancio	22	7(32%)	15(68%)
Todos los síntomas	9	0	9(100%)
Sin Síntomas	150	55(37%)	95(63%)

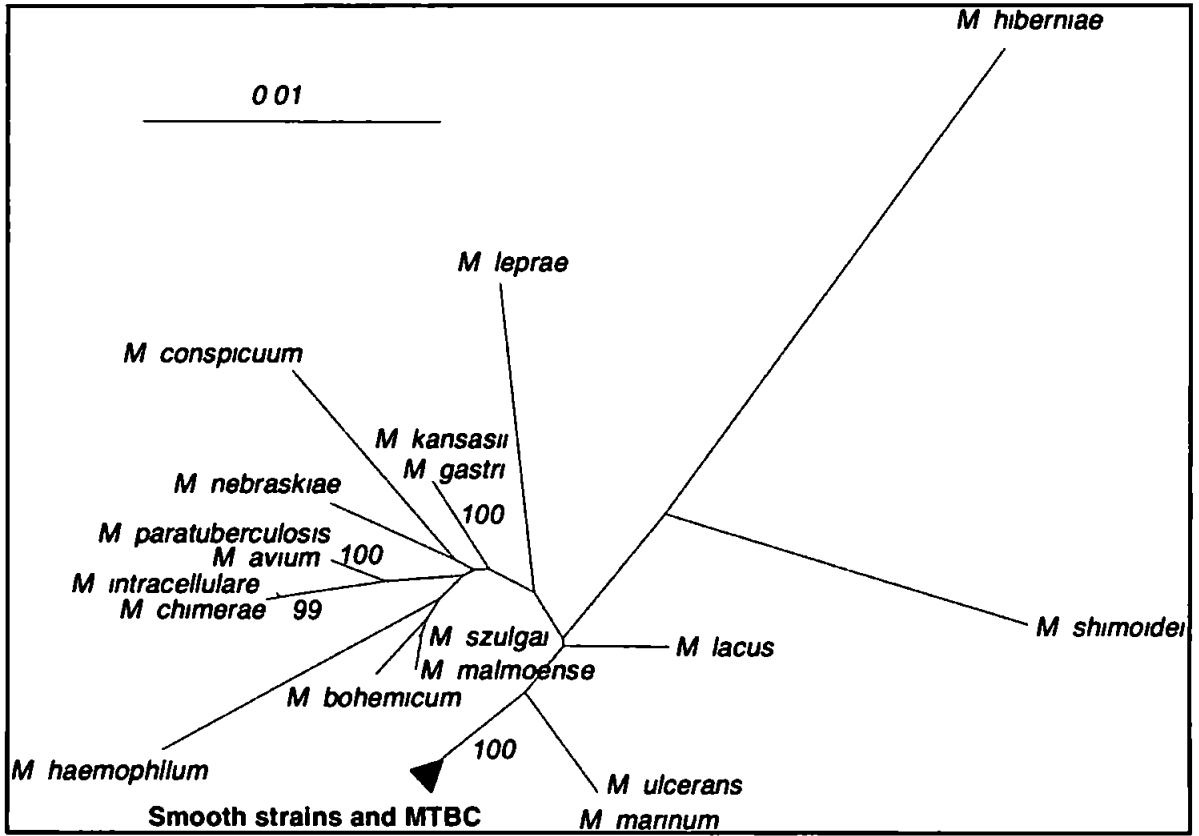
Tabla #17 Equipos de muestro ambiental activo SAS.

Equipo	Especificaciones
<p data-bbox="276 407 478 436">Sistema S.A.S</p> 	<p data-bbox="906 373 1445 680">.Un volumen de aire es aspirado y conducido a través de una superficie perforada sobre una placa conteniendo un medio de cultivo adecuado. Este método es útil para la captación de bacterias y hongos.</p>
<p data-bbox="276 894 539 924">Captador Burkard</p> 	<p data-bbox="906 861 1445 1222">Este método se basa en el impacto de una masa de aire sobre una superficie captadora. El aire entra por un orificio anterior e impacta sobre una superficie dispuesta verticalmente, constituida por una cinta transparente, impregnada por sustancias adhesivas</p>
<p data-bbox="276 1453 496 1482">Captador MCV</p> 	<p data-bbox="906 1449 1445 1873">El aire es aspirado, a través de un filtro de acetato de celulosa (Millipore). Este de filtro permite la identificación de las partículas ya que se transparenta con aceite de inmersión. Consta de una cámara filtradora con dispositivo de veleta, una bomba electromagnética de membrana para la aspiración de aire a</p>

Equipo	Especificaciones
	bajo volumen.
<p data-bbox="277 310 646 342">air IDEAL de Biomérieux</p> 	<p data-bbox="911 310 1449 617">El biocolelector IDEAL® de Biomérieux es útil para el control microbiológico del aire en los laboratorios, hospitales y farmacias. Es fácil de utilizar y se acopla bien a los sistemas establecidos de identificación bacteriana.</p>

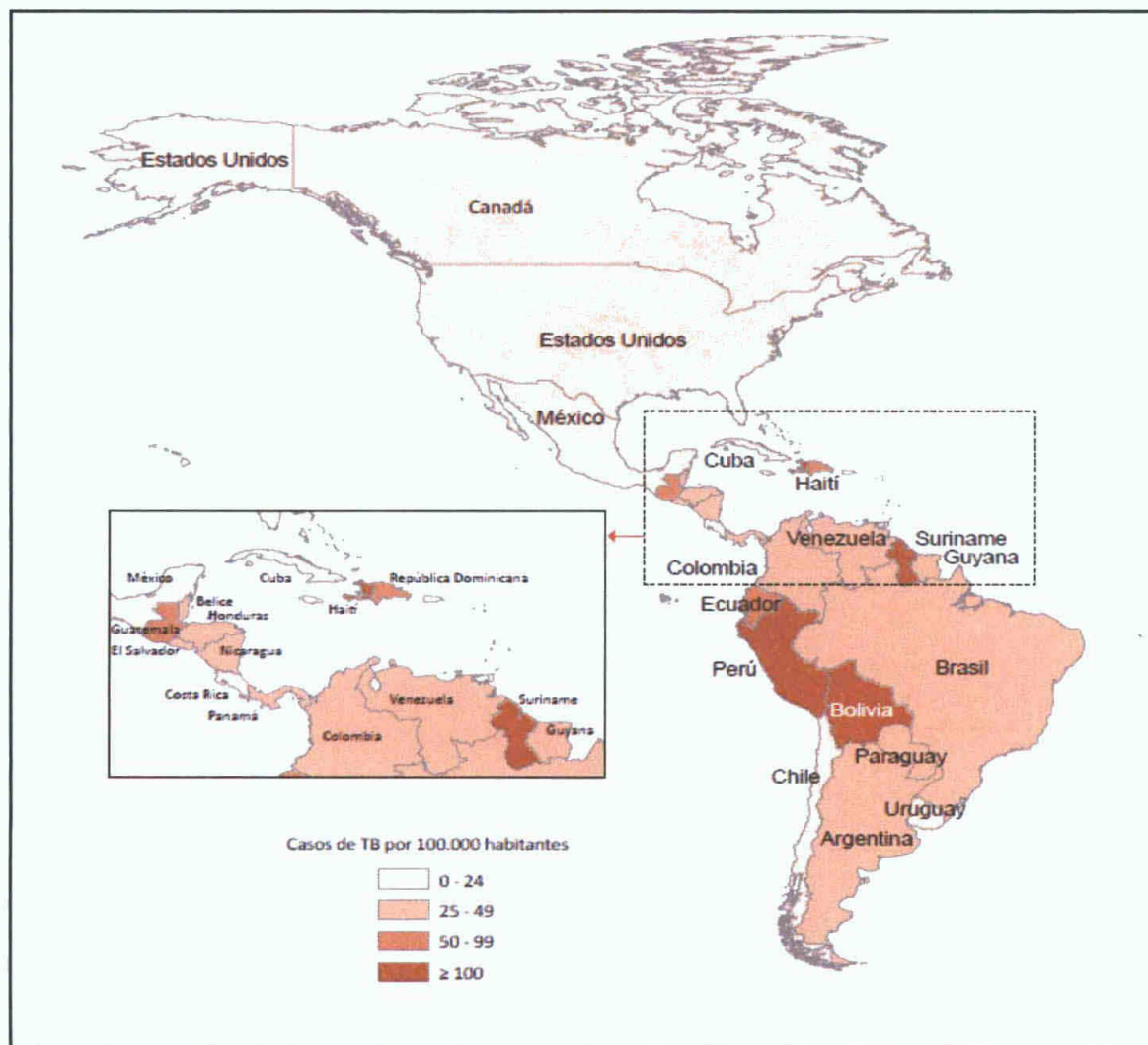
Figuras

Figura #1 Árbol Filogenético de Mycobacterium



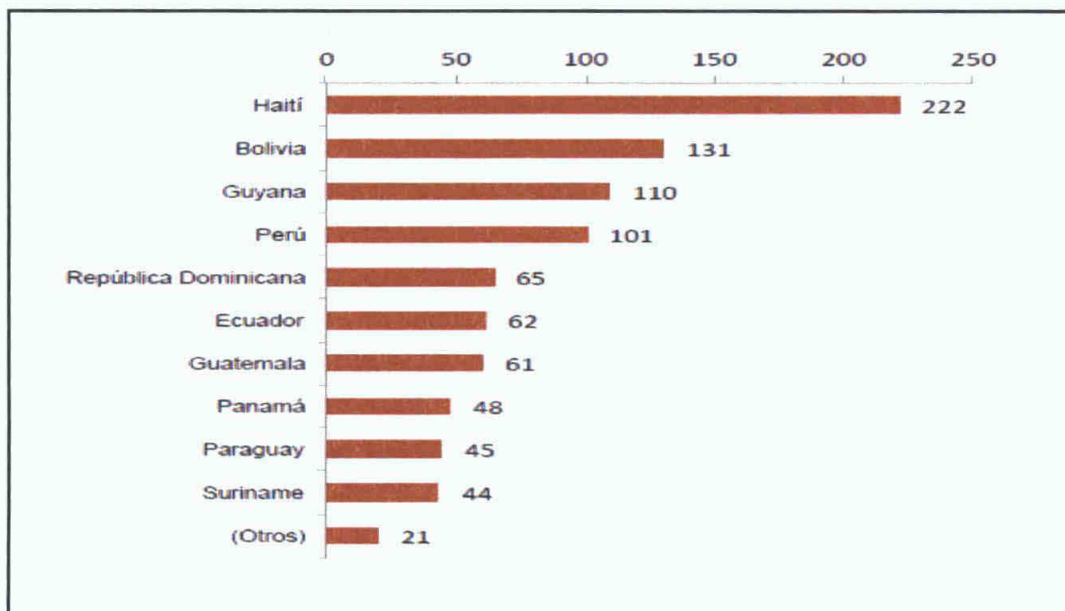
Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller, 2009

Figura #2 Incidencia estimada de TB por 100.000 habitantes en las Américas, 2011



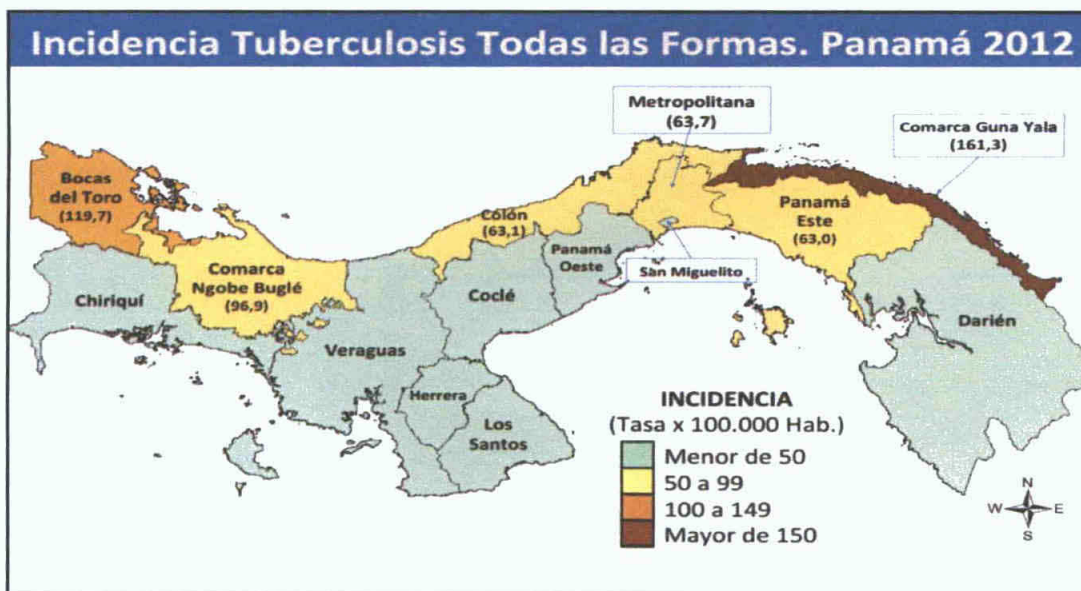
Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe regional 2012.

Figura #3 Región de las Américas: Los diez países principales por Incidencia Estimada de TB por 100.00 habitantes.



Organización Mundial de la Salud. (OMS) Informe regional 2012.

Figura #4 Tasa de Incidencia de Tuberculosis en todas las formas en Panamá.



Dra. Cecilia de Arango, Sección del programa de control de TB, MINSA.
Tinción de Ziehl-Neelsen

Figura #5 Extensión de la colonia.

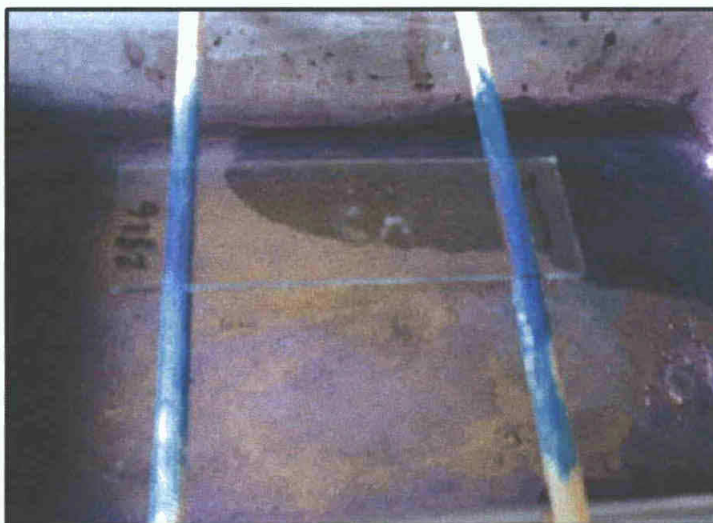


Figura #6 Placa con el Carbol fascina.

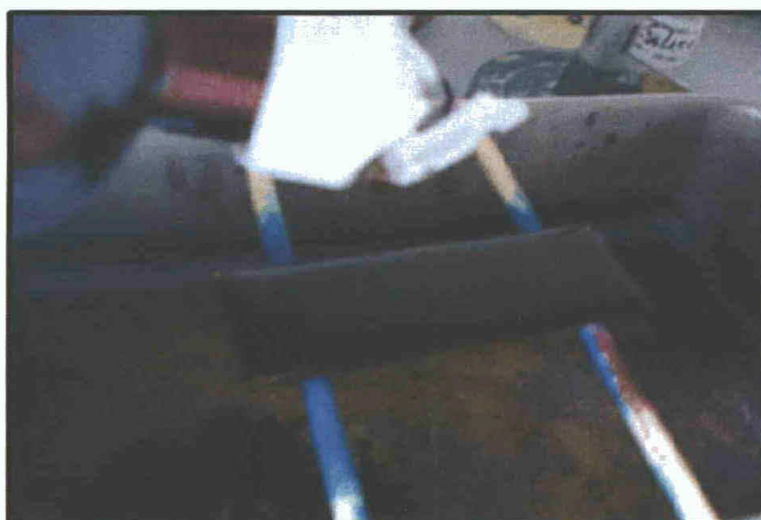


Figura #7 Decoloración de la muestra con alcohol ácido.



Figura #8 Adición del colorante de contraste Azul de Metileno



Figura #9 Dilución en serie del estándar.

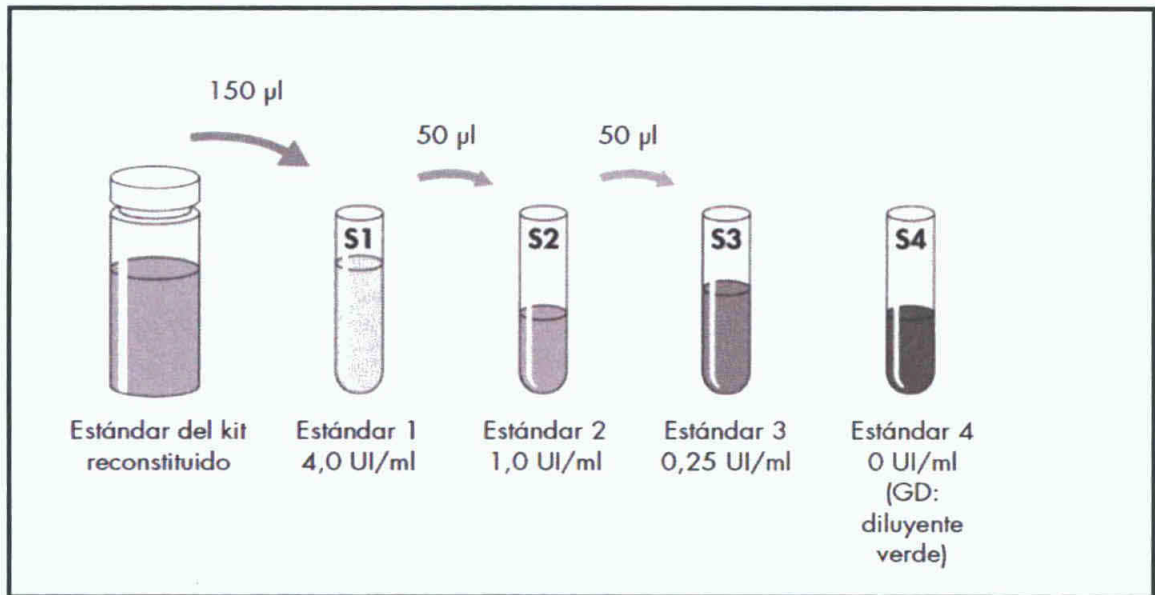


Figura #10 Identificación de bacilos de *M. tuberculosis* por tinción de Ziehl Neelsen en el muestreo ambiental del Hospital Amador Guerrero de Colón

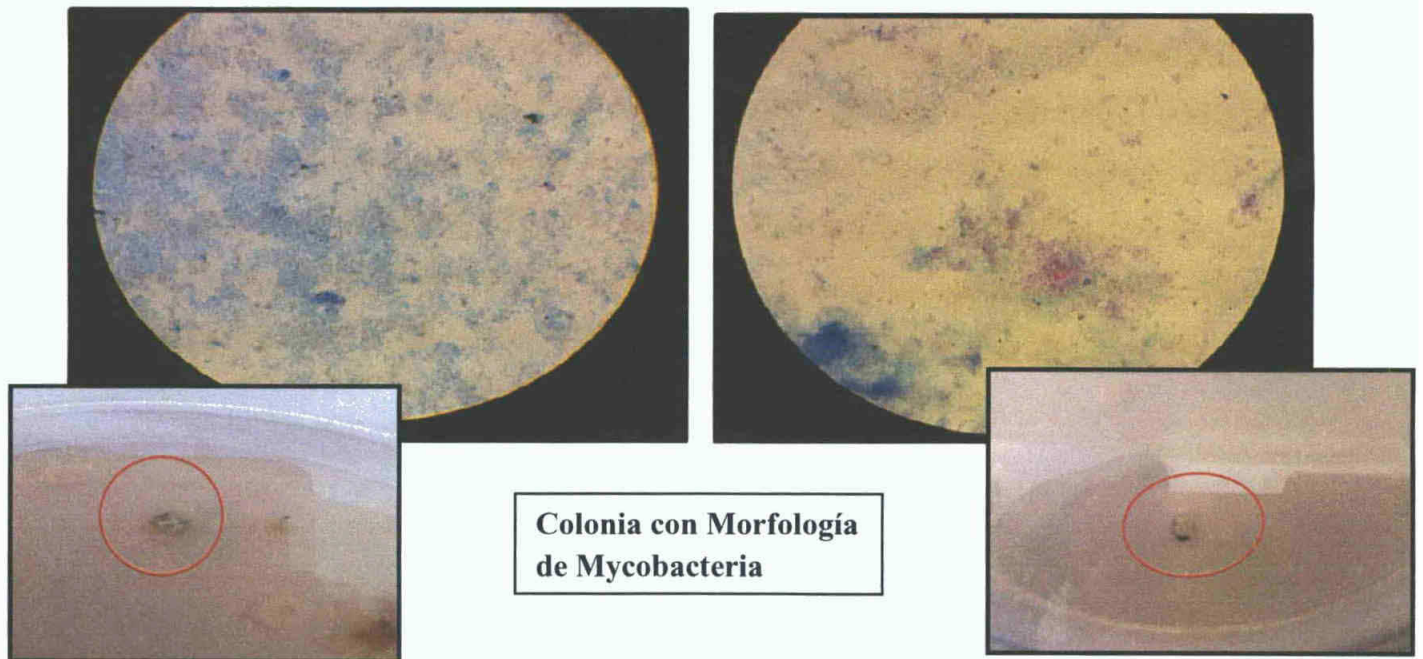
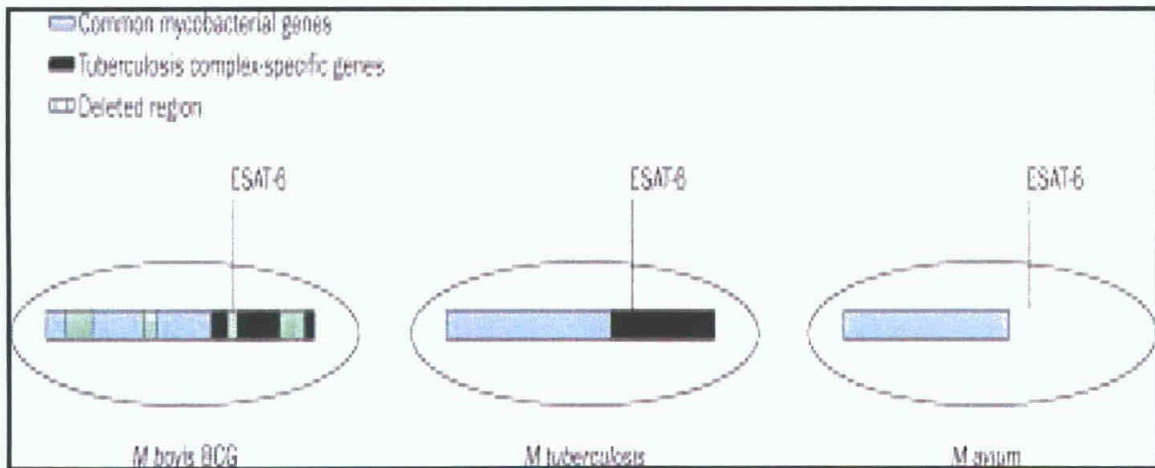


Figura #11 Orden de las muestras en el plato de ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	1A	1M	S1	S1	S1	13N	13A	13M	21N	21A	21M
B	2N	2A	2M	S2	S2	S2	14N	14A	14M	22N	22A	22M
C	3N	3A	3M	S3	S3	S3	15N	15A	15M	23N	23A	23M
D	4N	4A	4M	S4	S4	S4	16N	16A	16M	24N	24A	24M
E	5N	5A	5M	9N	9A	9M	17N	17A	17M	25N	25A	25M
F	6N	6A	6M	10N	10A	10M	18N	18A	18M	26N	26A	26M
G	7N	7A	7M	11N	11A	11M	19N	19A	19M	27N	27A	27M
H	8N	8A	8M	12N	12A	12M	20N	20A	20M	28N	28A	28M

N = Nill, A= Antígeno, M = Mitogeno, S = Estándar.

Figura 12. Esquema de la composición genética de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* y del bacilo de Calmette-Guerin respecto a la presencia o ausencia de *Early Secretory AntigenTarget*



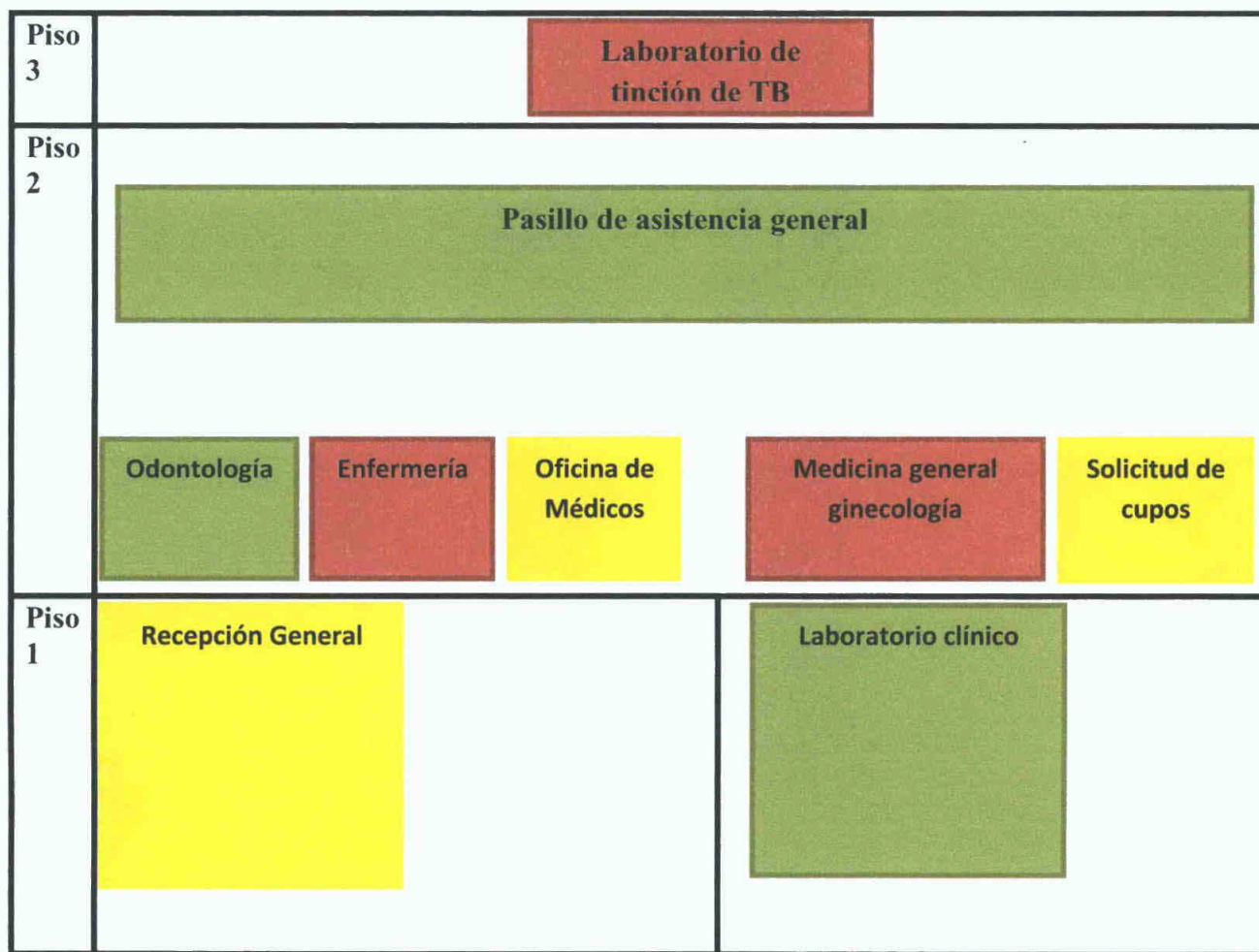
(Andersen P, et al 2000)

Figura #13 Ubicación de las áreas de Muestreo del edificio del Hospital Amador Guerrero

Piso 6	CUIDADOS INTENSIVOS	
Piso 5	AREA DE CIRUGIA DE HOMBRES SALA 2	AREA DE CIRUGIA DE MUJERES SALA 3
Piso 4	Neumología Sala de Intensivo Sala 8	Área de procedimiento de toma de muestra de esputo
Piso 3	Sala de mujeres embarazadas puerperio Sala 4	
Piso 2	Sala de Pediatría Sala 11	
Piso 1	Cuarto de Urgencia General Sala de Espera de urgencia General	Sala atención de ortopedia Recepción General Sala de espera de Ortopedia y Ginecología
		Área De Ginecol

Áreas de riesgo alto
 Áreas de riesgo medio
 Áreas de riesgo bajo
 Áreas restringidas

Figura #14 Ubicación de las áreas de Muestreo del edificio del MINSA



Áreas de riesgo alto
 Áreas de riesgo medio
 Áreas de riesgo bajo
 Áreas restringidas

Figura Nº 15 Mascarillas Quirúrgicas



Figura Nº16 Mascarillas N-95

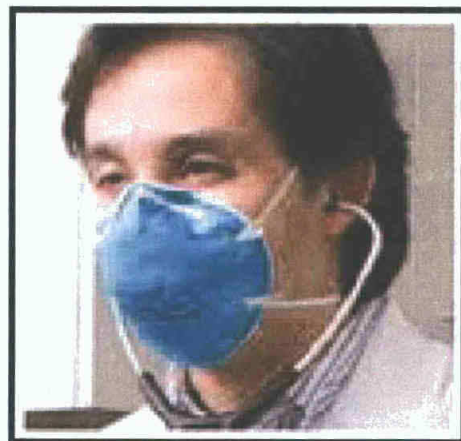
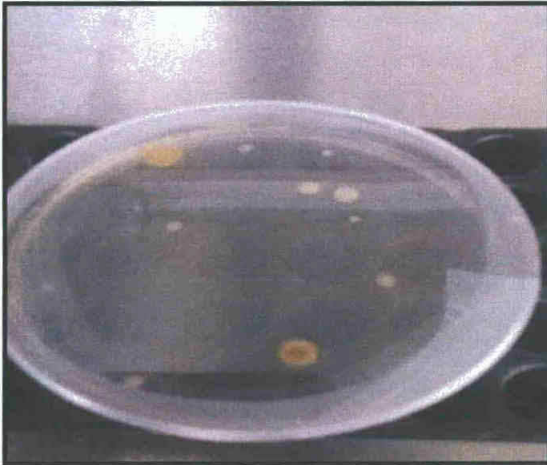
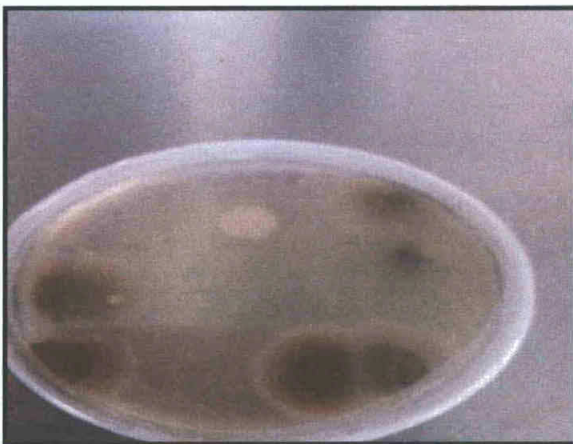


Figura N°17 Resultados del muestreo ambiental por sedimentación en platos Petri.

Edificio de MINSA



Hospital Amador Guerrero



Anexos

Panamá, 9 de mayo 2014

Licenciada

INGRID SAENZ LLORENS

Coordinación Nacional de Docencia

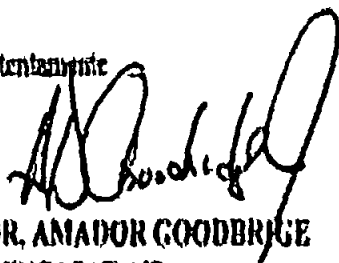
E. S. D

Estimada Licda. Saenz Llorens

Se le hace entrega de los siguientes documentos, correspondientes para el permiso para el desarrollo del proyecto de investigación de Tesis estudio piloto para evaluar la actividad diagnóstica de Interferón Gamma, como biomarcador de la exposición del personal de salud del Hospital Amador Guerrero, presentado por la Licda. Dilcia Sambrano.

- Nota No. FCNET/M077/2014, dirigida a la Licda. Ingrid Sáenz Llorens.
- Nota No. 462/CB/ICFES/14, carta del Instituto conmemorativo Gorgas de Estudios de la salud.
- Ficha técnica versión 1.0 diciembre 2011
- Hoja de consentimiento informado.
- Protocolo Monitoreo de biomarcadores para evaluar el riesgo de exposición e infección de Tuberculosis en el personal de salud en la región de Colón.
- Formulario para la presentación de Proyecto de Investigación conducentes a la tesis de grado

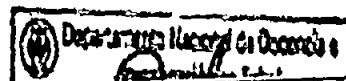
Atentamente



DR. AMADOR GOODBRIDGE
INDICASAT AIP



LICDA. DILCIA SAMBRANO





CAJA DE SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN EJECUTIVA NACIONAL DE LOS SERVICIOS Y PRESTACIONES EN SALUD
SUB DIRECCIÓN NACIONAL DE DESARROLLO E INNOVACIÓN DE LOS SERVICIOS DE SALUD
DEPARTAMENTO NACIONAL DE OCUPACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD

Panamá, 14 de mayo de 2014
N° DENADOI-N-557 2014


Licenciada
Dilcia Sambrano
Investigadora Principal
E S M

Respetada Investigadora..

Luego de revisado el protocolo de investigación titulado "Estudio piloto para evaluar la actividad diagnóstica de Interferón Gama, como biomarcador de la exposición del personal de salud del Hospital Amador Guerrero", nos es grato informarle que fue autorizada por la Dra. Ingrid Sáez Llorenz, Jefa del Departamento de Ocupación e Investigación en Salud, para abordar al personal de salud del hospital y reclutarlos para el estudio

Adjunto les estamos haciendo entrega de la nota original con el visto bueno mencionado. Le recordamos que al finalizar el estudio, deben remitir a esta sección una copia del informe final. El código de su estudio es DENADOI-SIBIS-01-26-11-14, favor hacer referencia del mismo para cualquier consulta y al entregar el informe final

Saludos y éxitos


Dra. Nydia Flores Chirri, MSPM
Jefa de la Gestión de Investigación y
Bioética de la Investigación en Salud



Estudio piloto para evaluar la utilidad diagnóstica de Interferón gamma como biomarcador de infección latente de tuberculosis en personal de salud de Colón.

Formulario de registro de datos de voluntarios

INSTRUCCIONES Marque con una cruz en el espacio en blanco, la respuesta que aplique o llene el espacio en la información solicitada

datos demográficos

- Centro u hospital donde labora CHMAG-CSS, HRAG-MINSA otro _____
- Edad _____ 3-Sexo Masculino, Femenino
- Nacionalidad panameño, otra _____
- Grado de escolaridad Primaria, Secundaria, Universitaria, Maestría, Post grado, Doctorado
 - a Dirección donde reside actualmente _____
 - b Lugares donde ha residido previamente _____ Cuantos años _____

factores de riesgo

- Convive o ha convivido con algún familiar o conocido con tuberculosis Sí. ___ No ___
 - a -Grado de parentesco Conyugue, Hermano/a, Hijo/a, Tío/a, Sobrino/a, Primo/a, Suegro/a, Conocido
- Horas de convivencia diaria _____ Convivencia ocasional Sí ___ No ___

Antecedentes clínicos

- a Sufre de - Alergias, - Afección hepática, Diabetes, Fumador activo
- b Resultado de prueba VIH Positivo Negativo Fecha MM/AAAA
- c Resultado de tuberculina (PPD) Positivo Negativo Fecha MM/AAAA
- d Ha presentado alguno de los siguientes síntomas Tos intensa por largo periodo de tiempo
Sudoración nocturna Pérdida de peso Falta de apetito Debilidad o cansancio

**** Al firmar este consentimiento, Usted no pierde ningún derecho legal y recibirá copia de este formulario firmado ****

DD / MM / YYYY
Fecha

Centro de Colección

Colón
Ciudad de ubicación

Versión 1 0

Resumen del Proyecto

Monitoreo de biomarcadores para evaluar del riesgo de exposición e infección de Tuberculosis en el personal de salud en la región de Colón

La Tuberculosis (TB) es un problema de salud importante a nivel mundial del cual no escapa nuestro país. La situación se ha vuelto más severa debido al surgimiento de bacterias resistentes a múltiples fármacos y al aumento de casos infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Ambos, TB y el VIH afectan a varios millones de personas a nivel global y juntos matan a más personas que cualquier otra enfermedad infecciosa. Por tal motivo, se hace necesario el estudio de nuevas pruebas de laboratorio que sirvan para monitorear el tratamiento de TB, tanto en personas con sistemas inmunes saludables y comprometidos como el caso de las personas VIH positivos. Personas con sistemas inmunes comprometidos no poseen células sanguíneas que les protejan de infecciones con microbios. Así, estas nuevas alternativas diagnósticas permitirán evaluar la efectividad de los tratamientos con medicamentos más rápidamente.

En Panamá, estamos comenzando una nueva iniciativa de investigación para estudiar la respuesta inmune contra la bacteria que produce la TB, conocida como *Mycobacterium tuberculosis*. La respuesta inmune involucra la reacción del cuerpo humano en contra de bacterias y virus. El presente estudio será usado para evaluar tres (3) biomarcadores inmunológicos para vigilar la bioseguridad del personal de salud (PS) expuesto a pacientes con TB. Estos biomarcadores son proteínas secretadas por las células sanguíneas y son útiles para identificar personas que han sido infectadas con la bacteria que causa la TB. Con su participación en este estudio, podremos obtener valores de referencia epidemiológica, inmunológicas y/o datos microbiológicos que permitan ayudar a distinguir los resultados normales de aquellos que no lo son. En concreto, buscamos establecer valores de referencia normales en los trabajadores de la salud, lo cual es necesario para facilitar la implementación de programas de vigilancia médica periódica.

Para lograr este objetivo, planeamos obtener muestras de sangre para realizar estudios de metabolitos secretados en el suero o plasma cada seis meses durante dos años. El consentimiento informado, los datos del PS en ficha técnica y las correspondientes muestras se recolectarán en las clínicas de TB aquí en Colón, se almacenarán en el laboratorio del Complejo Hospitalario Amador Guerrero (CHMAG) por un año, y los análisis se realizarán en ese laboratorio y en el Instituto de Investigaciones Científicas INDICASAT-AIP en Ciudad del Saber, Panamá. Así, podremos entender su comportamiento en PS saludables y aquellos con infección latente de TB (ILTB). Específicamente, las muestras se utilizarán para determinar parámetros inmunológicos en los individuos que participen en el estudio. Estos parámetros inmunológicos son sustancias secretadas por el sistema inmune para combatir una infección bacteriana o viral. Además, haremos uso de las muestras para optimizar pruebas de rutina y pruebas de investigación especializadas. Las muestras se utilizarán solamente para los fines y propósitos de este estudio.

Con su participación en este estudio podremos ayudar a mejorar la Bioseguridad del Personal de Salud de Colón. Específicamente, le hemos seleccionado a Usted como representante del total de PS que están expuestos a pacientes que padecen TB en Colón. Así, podremos validar nuevos Biomarcadores que permitan detectar PS con ILTB. Igualmente, su participación en este estudio será muy útil para identificar conductas de riesgos y preparar recomendaciones.



✓

1 1 1 1 1

Exposición laboral

8- Puesto de trabajo actual _____ Fecha de inicio _____

9-Indique áreas de trabajo anteriores y duración

Área de trabajo	Años	Área de trabajo	Años
Laboratorio de analisis clinicos		Sala de ginecología	
Anatomia Patologico		Administracion	
Sala de Neumologia		Asistente General	
Sala de Medicina Interna		Urgencias	
Otro		Otro	

Conocimientos y protección contra TB e ILTB

10- Indique si usted ha tenido una formación adecuada referente a

- a Riesgos biológicos en el lugar de trabajo Si ___ No ___
- b Técnicas correctas de protección personal Si ___ No ___
- c Medidas de seguridad en el área de trabajo Si ___ No ___

11-Conoce usted los riesgos a los cuales está expuesto el personal de salud? Si ___ No ___

- a Se le ha informado sobre esos riesgos Si ___ No ___ (si la respuesta es si en que momento)
- b En caso afirmativo, indique cuando se le informo_
 - Al incorporarse al trabajo Al cambiar de puesto Periodicamente

12- Que equipos de protección personal utiliza

No usa Batas abiertas por delante, Batas abiertas por atras, Batas con puños elasticos, Mascarillas c
quirofano, Mascarillas de protección biológica, Guantes, Gafas de seguridad, Gorros, Otros
especifique _____

13- Ha recibido Vacunación con BCG Si ___ No ___ Fecha _____

14- Indique si el empleador le hizo exámenes médicos antes de entrar a trabajar Si ___ No ___

15- Indique si el empleador le realiza exámenes médicos periódicos Si ___ No ___

Con que frecuencia _____

16- Desearia mayor informacion sobre la infección latente de tuberculosis? Si ___ No ___

para intervenciones futuras Este estudio espera que usted proporcione una muestra sanguínea de 10 ml en cuatro ocasiones, incluyendo al inicio y cada seis meses durante dos años La toma de muestra puede traer posibles complicaciones como equimosis, dolor y demás propias de las extracciones sanguíneas Los resultados de estas pruebas de biomarcadores y del estudio en sí serán presentados en un seminario para todos los participantes del estudio Al final del estudio, las muestras y los datos de identificación personal podrán ser almacenados hasta por diez años Los mismos podrán ser utilizados para otros estudios sobre biomarcadores de TB Luego de pasados los diez años, las muestras y datos serán destruidos y eliminados por el Investigador Principal En este estudio, usted tiene derecho a solicitar la destrucción o el anonimato de sus muestras o registros que puedan considerarse delicados No hay riesgos de su participación en este estudio, sin embargo, la determinación de la prueba de tuberculina puede provocar enrojecimiento e induración de la piel por cuatro días Por su participación en este estudio no tiene beneficios directos Los resultados de este estudio permitirán identificar quienes están en riesgo de desarrollar TB

Este consentimiento informado ha sido evaluado y aprobado por el Comité de Bioética de la Investigación del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (CBI-ICGES) Usted puede dirigir cualquier pregunta o dudas sobre el estudio y su participación al Investigador Principal Dr Amador Goodridge, Investigador del Instituto de Investigaciones Científicas Avanzadas y Servicios de Alta Tecnología (INDICASAT-AIP), a los teléfonos 517-0700 o 517-0738 Igualmente puede contactar a la Dra Rosalba González, presidente del CBI-ICGES a los teléfonos 527-4823, 527-4842, 6814-5452 en caso de dudas sobre los derechos como participantes del estudio

Acceso a la Información médica y confidencialidad Las personas que tienen acceso a esta información incluyen Dr Amador Goodridge del INDICASAT-AIP, Dra Ana de Chávez del Programa Regional de Tuberculosis en Colón (PRTB-Colon), Lic Odemaris Luque del PRTB-Colon, Dr Lee Riley de la Universidad de California en Berkeley (UCB), Dra Rosalba González CBI-ICGES

Consentimiento para participar del estudio

- 1 Declaro que he leído y comprendido la explicación del presente estudio
- 2 Entiendo que mi participación es voluntaria y que tengo la libertad de retirarme de este estudio sin que sean afectados mis cuidados médicos y derechos legales
- 3 Permiso el acceso a mis archivos médicos siempre y cuando se mantengan estrictas normas de confidencialidad
- 4 Estoy de acuerdo en formar parte del presente estudio
- 5 He recibido suficiente información y he podido hacer cualquier pregunta libremente
- 6 He sido informado por el investigador cuyo nombre y apellido se detalla a continuación

_____	_____	_____
Nombre del Paciente	Fecha	Firma
_____	_____	_____
Nombre de quien toma el consentimiento	Fecha	Firma
_____	_____	_____
Investigador	Fecha	Firma



FIRMA *Rosalba González*
 FECHA 6 May-14