

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA
LABORATORIO CLINICO



LA BACILOSCOPIA DE KOCH, EN PACIENTES SINTOMATICOS
RESPIRATORIOS, QUE CONSULTARON EN ALGUNOS CENTROS
ASISTENCIALES DE SALUD EN LA REGION CENTRAL DEL MINISTERIO
DE SALUD PUBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL Y SU UTILIDAD EN EL
DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR.

PRESENTADO POR:

Miguel Angel Ayala Martinez
Jesús Aramis Ramos Portillo
Carlos Antonio Villalta Revelo

PREVIO A LA OPCION DEL TITULO DE:

Licenciado en Laboratorio Clinico

ABRIL DE 1988



T
616.0757
A973

Ej. 1

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA - LABORATORIO CLINICO



INVENTARIO: 10105329

" LA BACILOSCOPIA DE KOCH, EN PACIENTES SINTOMATICOS RESPIRATORIOS, QUE CONSULTARON EN ALGUNOS CENTROS ASISTENCIALES DE SALUD EN LA REGION CENTRAL DEL - MINISTERIO DE SALUD PUBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL Y SU UTILIDAD EN EL DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR "

PRESENTADO POR:

MIGUEL ANGEL AYALA MARTINEZ
JESUS ARAMIS RAMOS PORTILLO
CARLOS ANTONIO VILLALTA REVELO

Seminario presentado ante el Jurado Calificador de la - Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de El Salvador, en satisfacción parcial de los requerimientos previos a la obtención del título de Licenciado en - Laboratorio Clínico.

DR. CARLOS E. CASTRO AGUILAR
A S E S O R

ABRIL - 1988

ASESOR

Dr. Carlos E. Castro Aguilar

JURADO CALIFICADOR

Dra. Lidia E. de Nieto

Lic. Gloria de Valladares

Lic. Lucrecia de Medina

LUGAR DE PRACTICAS

Laboratorios de la Región Central de Salud,
Ministerio de Salud Pública y Asistencia -
Social.

AGRADECIMIENTO.

Nuestro profundo agradecimiento al Doctor Carlos E. Castro Aguilar, porque sin su valiosa ayuda y acertada asesoría - no habría sido posible la realización de este trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible el haber terminado la presente investigación.

I N D I C E

	Páginas.
Introducción	1
El Bacilo Tuberculoso	10
Zona Geográfica investigada	14
Objetivos	17
Materiales y Métodos	18
Resultados	30
Discusión	38
Conclusiones	42
Recomendaciones	43
Glosario	44
Bibliografía	47

I N T R O D U C C I O N

La tuberculosis es una enfermedad tan antigua como el hombre mismo. Existen evidencias de su presencia en las vértebras del hombre Neolítico de Europa y en otros esqueletos humanos correspondientes a la misma época, descubiertos en Asia Central y norte de Rusia (3). También se han encontrado trazas de lesiones tuberculosas en momias egipcias de hace 3,000 años .-

En los primeros tiempos se le daba un origen sobrenatural y fue hasta los tiempos de Hipócrates, en que basándose en la observación clínica y la deducción, se describe la enfermedad por primera vez, surgiendo así, el concepto del origen natural de la enfermedad, considerándola mortal y hereditaria; además de hacer énfasis en que su curación solo era posible en sus fases iniciales, si se cuidaban tres aspectos básicos: ALIMENTACION, CLIMA Y CONDUCTA. En 1819 --- Laennec, señala que sólo existe una tuberculosis, la cual puede presentar dos variedades, una con lesiones en forma de tubérculos, y otra con infiltraciones, iniciándose así, la moderna historia de la tuberculosis; seguido de Jean Antoine Villemin, cirujano veterinario militar francés, quién gracias a experimentos en animales realizados en París, prueba que la tuberculosis " ES UNA ENFERMEDAD CONTAGIOSA" (1); culminando con Robert Koch, médico alemán, quien el 24 de marzo de 1882, descubrió el germen que produce la enfermedad, naciendo así, el concepto bacteriológico, el cual con el tiempo se ha ampliado (21) .

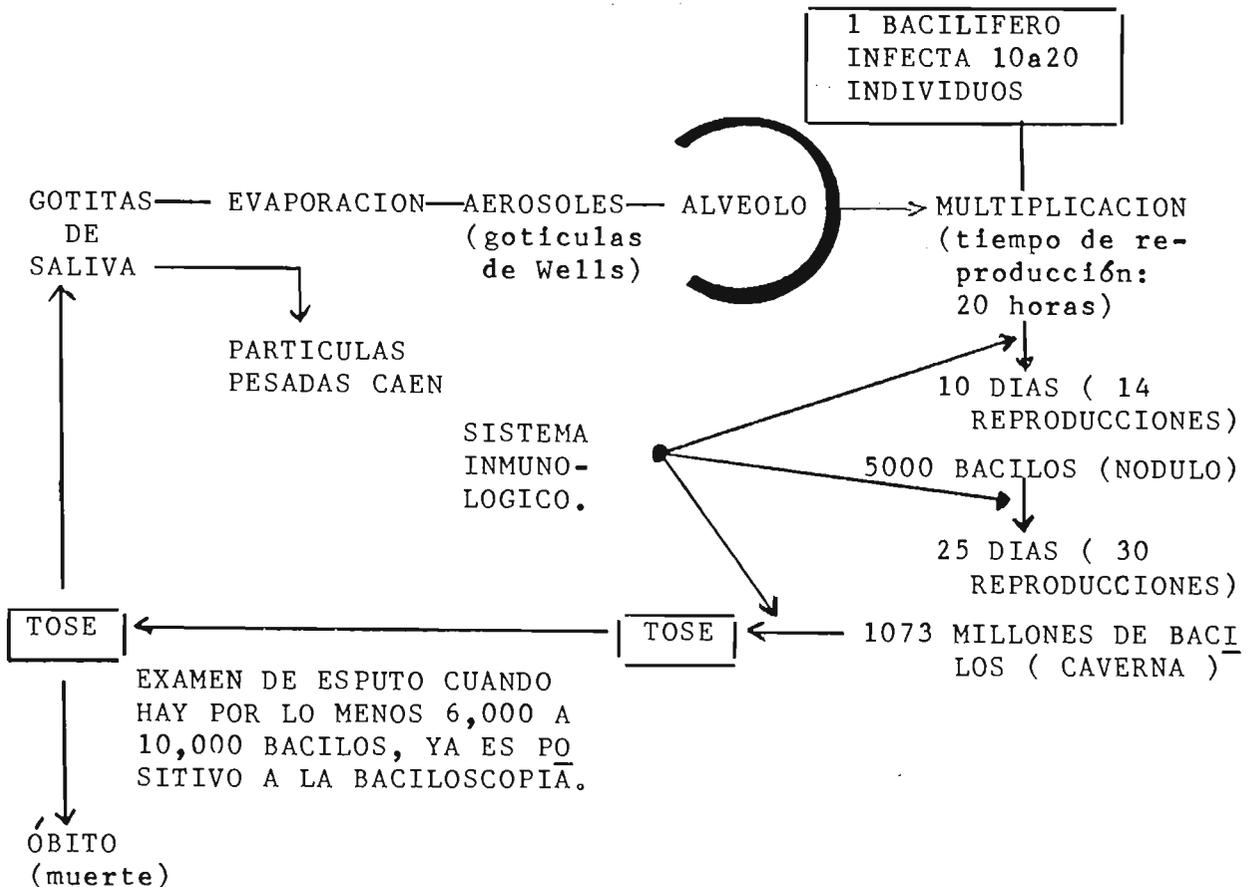
Boddington, por esa misma época señala nuevamente como elementos - esenciales para la curación, LA ALIMENTACION Y EL CLIMA, agregando un nuevo factor: EL AISLAMIENTO DEL ENFERMO PARA EVITAR EL CONTAGIO DE LOS DEMAS (3) .-

Después de la segunda guerra mundial, el tratamiento de la tuberculosis experimenta un gran avance con Selman A. Waksman y sus colaboradores que descubren la Estreptomocina el primer antibiótico eficaz contra la tuberculosis (21) .-

En la actualidad, se acepta que es una enfermedad curable con - tratamiento adecuado, siendo el factor principal en la producción de la enfermedad, la existencia del bacilo de Koch; jugando también un papel importante, el tiempo de exposición y la concentración de los bacilos tuberculosos en el medio. Además existen factores coadyuvantes tales como: el hacinamiento (que es fundamental en la -- transmisión y propagación del bacilo), las características del huésped, su edad, el sexo, la dotación genética, la tensión física y - emocional, los cambios endocrinos, las enfermedades intercurrentes y en especial la desnutrición, que tiene gran efecto sobre las infecciones, siendo un ejemplo clásico la tuberculósis (22,23).-

La tuberculosis es una enfermedad transmisible, crónica, que ataca a toda la población y de la cual su manifestación clínica aparece - en la mayoría de los casos, mucho tiempo después que el individuo ha sido infectado. De ahí la importancia de descubrir el agente etiologico en su nivel más temprano para que su tratamiento sea adecuado.-

La tuberculosis pulmonar, es el ejemplo clásico de una infección transmitida por el aire. Cuando una persona con tuberculosis pulmonar abierta tose, en especial si la tos es fuerte o explosiva, se expulsan muchas gotitas de diferentes tamaños que contienen bacilos tuberculosos. Las más pequeñas son invisibles, evaporándose de manera casi instantanea, convirtiéndose en núcleos todavía más pequeños que se dispersan en el aire, moviéndose según se mueve éste. - Si el ataque de tos tiene lugar en un espacio cerrado y sin ventilar, el número de núcleos de gotitas (de menos de 10 micras), se incrementa con la tos repetida y también aumenta la posibilidad de que algunos puedan ser inhalados por otras personas (1,25) .-



La infección primaria consiste en un foco parenquimatoso pequeño o un racimo de pequeños infiltrados con linfadenitis regional en hilios y mediastino, de grado variable, que suelen acompañarse de pocos o de ningún síntoma; usualmente uno sólo en el pulmón, pero en ocasiones puede ser múltiple, habitualmente se sitúa justo bajo la pleura. El agrandamiento puede, por lo tanto, comprometer la pleura sobre la superficie del pulmón (26).-

El término infección primaria progresiva, denota que hay evolución directa del infiltrado inicial, al grado de hacerse un proceso neumónico y caseoso. Difiere de la tuberculosis apical crónica, en que la adenopatía hilar es notoria y que la enfermedad afecta los campos pulmonares medio e inferior (26).-

La tuberculosis pulmonar en adultos, es sobre todo un proceso apical y parenquimatoso que casi siempre se produce por evolución de focos hematógenos que se crearon en la fase pre-alérgica de la infección primaria. Puede presentarse con rapidez o después de largos períodos de inactividad.-

La tuberculosis pulmonar crónica, comienza como una pequeña placa de neumonía alrededor de estos focos. La inflamación intensa progresa al grado de necrosis caseosa que, mientras permanece intacta, es mecanismo de defensa eficaz del huésped y causa la muerte de la mayor parte de los microbios, sin embargo, el material caseoso de las zonas pulmonares altas, tiene tendencia a licuarse y descargar al árbol bronquial, produciéndose una cavidad en comunicación abierta con el aire inspirado, desde la cual se difunden secreciones vía los bronquios, a otras zonas pulmonares y al medio exterior (26).-

Una vez iniciada la reactivación, la índole progresiva de la tuberculosis en el huésped sensible depende sobre todo de la combinación de éstos tres factores:

1. Tendencia de los focos caseosos apicales a licuarse.
2. Acceso de material licuado o infeccioso al árbol bronquial.
3. Indole aerobia estricta de los gérmenes que tienen por consecuencia la producción de enormes poblaciones bacterianas dentro de cavidades abiertas.-

Algunos factores intercurrentes o genéticos, reacciones de hipersensibilidad intensa y presencia de un gran número de gérmenes, favorecen las reacciones inflamatorias agudas que producen la neumonía confluente .-

Además de la tuberculosis pulmonar, existen dos grupos de tuberculosis extrapulmonar. El primero incluye trastornos por diseminación linfohematógena hacia cualquier órgano del cuerpo (meninges, epidídimo, riñón, osteoarticular etc.) y el segundo grupo comprende trastornos que son complicaciones de la tuberculosis pulmonar y que se producen por diseminación bronquial o gastrointestinal de las secreciones infecciosas o por invasión contigua directa (26) .-

En los tres últimos decenios los países desarrollados han obtenido resultados espectaculares en la lucha anti-tuberculosa.

Estos logros han sido posibles gracias a la quimioterapia y a una abundancia de recursos de personal, técnicos y financieros. De todas formas debe advertirse que aún cuando se ha conseguido una considerable reducción del problema de la tuberculosis en los países en cuestión, la enfermedad aún persistirá durante muchos años aunque con una frecuencia cada vez menor.-

Desgraciadamente en los países en desarrollo la situación epidemiológica apenas ha mejorado o no ha mejorado en absoluto, ya que cada año se dan de cuatro a cinco millones de casos de tuberculosis pulmonar intensamente infecciosos con baciloscopia positiva; con un número igual de casos menos infecciosos incluidos los que solo son positivos al cultivo, así como los casos negativos al cultivo que constituyen la forma más frecuente de enfermedad pulmonar en niños. Por consiguiente, cada año unos diez millones de personas desarrollan una forma de tuberculosis y por lo menos tres millones fallecen de esta enfermedad (24).-

Se ha señalado que en los países en desarrollo el riesgo de infección es de unas veinte a cincuenta veces mayor que en los países desarrollados (24).-

En El Salvador, según el anuario del Salud Pública en cifras de 1982, un 60 % de la población vive en el área rural y suburbana, donde el saneamiento ambiental es inadecuado; pero la causa principal que favorece la propagación y transmisión del bacilo, es el hacinamiento familiar.-

Aunque se observa una tendencia descendente y paralela entre la morbilidad total y la de casos bacilíferos, es probable un subregistro y una sub-estimación del problema de la tuberculosis en el país. Si estimamos en 1 % el riesgo de infección anual, la verdadera incidencia estaría cerca del doble de lo registrado (20) .-

La tasa de mortalidad muestra una tendencia interesante al descenso, aunque también padece de los mismos problemas antes señalados.-

Entre los métodos usados para detectar el agente causal están:

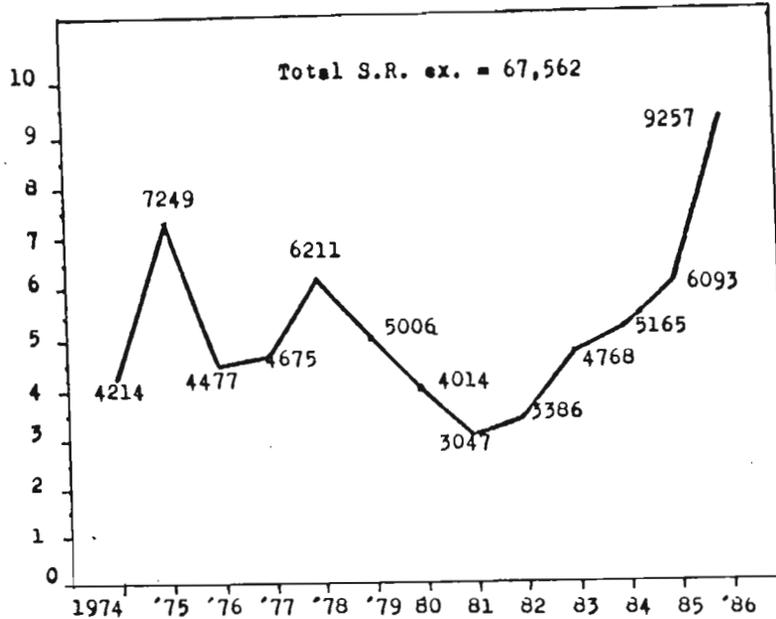
1. Cultivo de M. tuberculosis. Método muy sensible y específico y de elevado costo.
2. Baciloscopía de Koch (específica para BAAR), método barato, de gran penetración.
3. Biopsia de lesiones presuntivas de tuberculosis pulmonar. Bastante sensible, pero de muy alto costo.

Métodos auxiliares para denotar positividad de enfermedad.

- a) Radiografía de Tórax. (ver cuadro de Rx TABLA II).
- b) Prueba de la tuberculina. (Infección, no enfermedad; por el uso del BCG, su utilidad máxima está en la epidemiología) (12) .-

EN LA ACTUALIDAD SE CONSIDERA QUE LA TUBERCULOSIS ES UNA ENFERMEDAD DE DIAGNOSTICO EMINENTEMENTE BACTERIOLOGICO (17-16-13).-

SINTOMATICOS RESPIRATORIOS EXAMINADOS DURANTE
TRECE AÑOS, DE 1974 A 1986. (Fuente : Programa
Nacional del Control de la Tuberculosis Pulmonar,
El Salvador). Fig. 1.-



BACILOSCOPIAS EN LOCALIZACION DE CASOS DURANTE
TRECE AÑOS, DE 1974 A 1986. (Fuente : Programa
Nacional del Control de la Tuberculosis Pulmonar,
El Salvador). TABLA I.

Años	B K (pos)	B K (pos) %
1974	590	14.8
1975	617	8.5
1976	329	7.35
1977	317	6.8
1978	370	5.95
1979	299	5.9
1980	362	9.01
1981	333	10.9
1982	332	9.8
1983	364	7.63
1984	436	8.44
1985	391	6.4
1986	474	5.12
Total	5214	7.71

RADIOGRAFIA DE TORAX EN LOCALIZACION DE CASOS
 DURANTE TRECE AÑOS, DE 1974 A 1986. (Fuente :
 Programa Nacional del Control de la Tuberculosis
 Pulmonar, El Salvador). TABLA II.

Años -----	Rx. Tomadas	Sosp. Ex.BK.	Casos encontrados	$\frac{\text{Rx.}}{\text{Casos}}$
1974	192756	4416	767	0.39
1975	192788	3842	750	0.39
1976	181645	3774	552	0.30
1977	179518	2755	579	0.32
1978	180842	1793	587	0.32
1979	152806	1739	460	0.30
1980	147310	2133	448	0.30
1981	146588	2260	472	0.32
1982	146513	1776	446	0.30
1983	169716	1909	458	0.26
1984	166142	2215	396	0.24
1985	136909	2622	422	0.31
1986	103303	3991	479	0.46
Total	2,099842	35225	6816	0.32

GENERALIDADES SOBRE EL BACILO TUBERCULOSO

Las Mycobacterias, son microorganismos de forma bacilar, miden aproximadamente 5 micras de largo por 0.5 micras de espesor. No pueden ser clasificadas como microorganismos Gram positivos - o Gram negativos (6, 8). El bacilo tuberculoso pertenece al orden de los Actinomycetaceae, familia de las Mycobacteriaceae y al género Mycobacterium. Está clasificado, según Runyon, dentro del complejo tuberculoso como una micobacteria de crecimiento lento no pigmentadas en la luz ni en la oscuridad (3, 9) .-

CLASIFICACION DE LAS MICOBACTERIAS SEGUN RUNYON.

<u>Grupos</u>	<u>Especie</u>
COMPLEJO TUBERCULOSO	<u>M. tuberculosis.</u> <u>M. bovis.</u>
FOTOCROMOGENOS I	<u>M. kansasii.</u> <u>M. marinum.</u> <u>M. simeae.</u>
ESCOTOCROMOGENOS II	<u>M. flavescens.</u> <u>M. szulgai.</u> <u>M. gordonae.</u> <u>M. scrofulaceum.</u> Grupo F.
NO CROMOGENOS III	Complejo <u>avium-intracellulare.</u> <u>M. xenopi.</u> Complejo <u>terrae.</u> <u>M. triviale.</u> <u>M. gastri.</u>
CRECIMIENTO RAPIDO IV	Complejo <u>M. fortuitum.</u> Otros del grupo IV.

Además de muchas formas saprófitas, el grupo comprende organismos patógenos: Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium leprae, que causan infecciones crónicas con lesiones de tipo granuloma-infeccioso .-

Los bacilos tuberculosos, son bastante resistentes a la desecación, sobreviviendo por largos periodos en esputos secos. La reproducción del Mycobacterium tuberculosis es lenta, se realiza cada 20 horas, a diferencia de otras bacterias que lo hacen cada 20 a 40 minutos. La reproducción es intracelular, este hecho dificulta la quimioterapia y favorece la resistencia microbiana .-

Este grupo de bacterias se tiñen con dificultad, pero una vez teñidas, resisten la decoloración por ácidos o por alcoholes y por lo tanto son llamadas: Bacilos Acido Alcohol Resistentes (BAAR). La ácido resistencia depende de la integridad de la estructura de la pared celular que incluso, permite que se colorean los bacilos muertos y latentes, toda vez que dicha estructura no haya sido destruida. Esto es debido al alto contenido de lípidos, (aproximadamente el 40 % del contenido de la bacteria es grasa, principalmente ácido Micólico) la cual las hace impermeables. Una vez teñidas con los colorantes básicos, no se pueden decolorar. El alcohol ácido decolora rápidamente a las bacterias, excepto a las mycobacterias (6,2) .-

Se emplea la técnica de Ziehl Neelsen para la identificación de las bacterias Acido-Alcohol Resistentes (1,18) .-

Si el examen se hace sobre una muestra de origen humano (esputo), la posibilidad de que los bacilos Acido-Alcohol Resistentes (BAAR) descubiertos sean bacilos de Koch, es muy alta (5) .-

En este trabajo se hizo un estudio en 1986, de pacientes Sintomáticos Respiratorios (SR); usando la técnica de Baciloscofia de Koch, en una región específica de nuestro país, como es la Región Central de Salud. Se investigaron 1,019 pacientes comprendidos en el grupo antes mencionado (SR), a los que se les solicitaron dos muestras de esputo a cada uno, la primera muestra se obtuvo en la consulta externa en forma inmediata, la segunda que fue matinal, se obtuvo al día siguiente, instruyéndolos en la forma correcta de recolectar las muestras; las dos equivalen en la práctica a un examen de cultivo, una tercera muestra no modifica fundamentalmente los resultados (23). " Esto concuerda con los resultados de varios estudios, efectuados en diversos países, por ejemplo en la India se obtuvo el siguiente resultado: en 1,162 pacientes nuevos con síntomas radiológicos y pulmonares que SUGERIAN tuberculosis, el cultivo de la primera muestra de esputo reveló 535 casos, mientras que el examen consecutivo de dos frotis detectó 500 casos. En aquellos con resultados positivos en la baciloscofia y en el cultivo, el primer frotis fué positivo en un 86.7 % de los casos y el segundo frotis agregó un 10 % de casos positivos .-

Los autores arribaron a la conclusión de que el examen de más de dos muestras no modifica fundamentalmente los resultados, y que dos muestras consecutivas constituirían la cantidad óptima en las condiciones del programa nacional antituberculoso de la India" (23) .-

Las muestras de esputo para el presente trabajo, se obtuvieron de pacientes de consulta externa y hospitalizados de establecimientos de salud que cubre la Región Central, que cumplieron los requisitos siguientes:

a) Ser Sintomático Respiratorio y

b) Sin tratamiento antituberculoso.

Los extendidos, fueron coloreados por la técnica de Ziehl Neelsen y posteriormente se observaron al microscopio, con lente de inmersión y aumento final de 1000X, para la búsqueda de bacilos Acido-Alcohol-Resistentes.-

Se pretende demostrar la importancia de la Baciloscofia de Koch, - como un método de diagnóstico en nuestro país, como ha sido demostrado en otros países de América Latina (7,17,4,16) .-

ZONA GEOGRAFICA INVESTIGADA.

El Salvador está situado en América Central, al norte de la línea Ecuatorial y al Oeste del meridiano de Greenwich, entre los paralelos 13 gdos 09 min. y 14 gdos 27 min. latitud norte y los meridianos 87 gdos 41 min. y 90 gdos 08 min. longitud Oeste del meridiano de Greenwich. Limita al Norte con la República de Honduras, al Sur con el Océano Pacífico, al Este con la República de Honduras y la República de Nicaragua y al Oeste con la República de Guatemala .-

ORGANIZACION DE LOS SERVICIOS DE SALUD.

El país esta dividido en cinco regiones de salud:

- I. Región Occidental
- II. Región Central
- III. Región Metropolitana
- IV. Región Paracentral
- V. Región Oriental (Fig. 2)

La región Central comprende los departamentos de Chalatenango y la Libertad; tiene una población de 611,979 habitantes dividida así:

Población rural : 408,163 habitantes.

Población urbana : 203,816 habitantes.

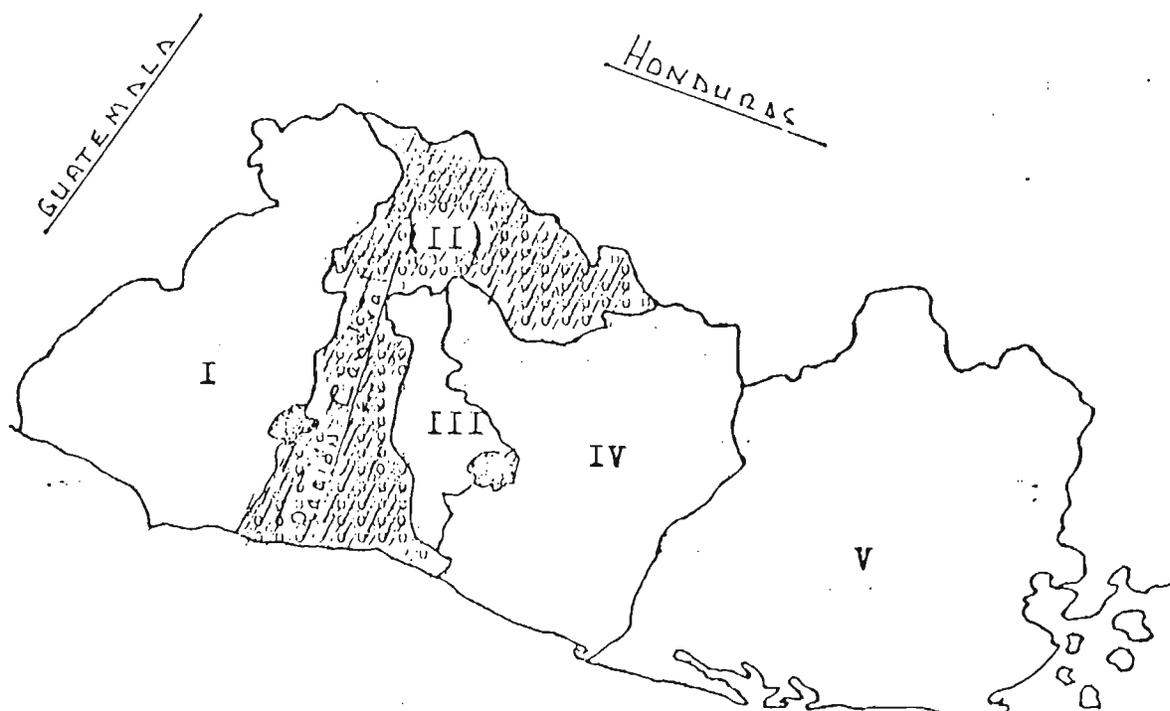


Figura 2 . Mapa de la República de El Salvador y sus regiones de salud.

Cuenta con 63 establecimientos de salud, divididos en:

Hospitales Generales	2	
Centros de Salud	1	
Unidades de Salud	14	
Puestos de Salud	39	
Puestos Comunitarios	7	(10)

A pesar de la situación conflictiva que vive el país en este momento y siendo el departamento de Chalatenango uno de los más afectados, se considera que esta región, mantiene buenas vías de comunicación, lo que permite a la población movilizarse en busca de atención médica .-

O B J E T I V O S

1. Comprobar la factibilidad del método de la baciloscopía de Koch, en los Sintomáticos Respiratorios, como una ayuda en el diagnóstico de la Tuberculosis Pulmonar, en la mayoría de consultorios de la Región Central de Salud, considerando que actualmente el diagnóstico de la tuberculosis es, básicamente, bacteriológico.

2. Conocer los porcentajes de positividad en las muestras examinadas, provenientes de los Sintomáticos Respiratorios - (S.R.), en los laboratorios de dichos consultorios.

3. Relacionar el número de Sintomáticos Respiratorios en consulta externa y hospitalizados, con el porcentaje de baciloscopías positivas encontradas en las muestras de dichos pacientes.

MATERIALES Y METODOS.

1. Muestras de esputo
2. Aplicadores de madera
3. Láminas portaobjetos 3 x 1 pulgs.
4. Lápiz graso para marcar vidrio
5. Mechero de gas o alcohol
6. Repisa doble, con capacidad para colocar 10 láminas en cada división.
7. Frascos tipo cuentagotas, destinados a los reactivos (fucsina fenicada, azul de metileno, alcohol-ácido).
8. Aceite de inmersión
9. Microscópio mono o binocular de 1000X
10. Hojas de registro del paciente
11. Reloj marcador (timer)
12. Papel filtro Watman nº 1. (18)

L A M U E S T R A

En general, las muestras para la investigación del Mycobacterium tuberculosis (BAAR), pueden separarse en dos grupos:

- 1) Las muestras contaminadas naturalmente, que se reciben en el laboratorio en envases sin esterilizar las que se obtienen de la espectoración, orina, pus de cavidad abierta y contenido gástrico.

- 2) Las muestras no contaminadas naturalmente, son las que se obtienen de cavidades cerradas (pus), líquido cefaloraquídeo y de otras serosas, material especial de biopsias y resecado -
(18) .-

La muestra que se usó en este trabajo, es la proveniente de la espectoración, que se clasifica entre las contaminadas naturalmente.

Las muestras provinieron de pacientes que consultaron en los diferentes establecimientos de Salud de la Región Central.

CALIDAD Y CANTIDAD DE LA MUESTRA.

Una buena muestra de esputo, es la que proviene del árbol bronquial, obtenida después de un esfuerzo de tos y no la que se obtiene exclusivamente de la faringe, debido a la aspiración de secreciones nasales o aquella que sólo es saliva .-

La cantidad de la muestra debe ser suficiente, sin ser excesiva. Cuando el enfermo elimina abundante secreción bronquial, la muestra no debe exceder de 10 ml. Una cantidad mayor, dificulta considerablemente la elección de la partícula útil que se examinará.-

Si el enfermo tiene escasa secreción bronquial, la muestra no debe ser inferior a tres esputos, ya que uno solo podría provenir de secreción nasal o faríngea; en estos casos, antes de tomar la partícula útil, conviene mezclar bien la muestra. Sólo en casos - de justificada excepción, puede aceptarse como buena muestra, -- aquella que contenga uno o dos esputos (19,18) .-

RECOLECCION DE LA MUESTRA.

El esputo que se obtiene al despertar el enfermo, ofrece bastante seguridad de que corresponda al sitio de la lesión, pues por lo general, es abundante y proviene de las secreciones del árbol bronquial acumuladas durante la noche (19,18) .-

El otro momento de recolección de esputo es durante la consulta del enfermo, que desde el punto de vista funcional, es mas sencillo; pero que no siempre permite obtener una muestra suficiente. La selección de uno u otro momento de recolección se hará - de acuerdo con las circunstancias; pero operacionalmente se combinan ambos procedimientos (19, 18) .-

E L E N V A S E .

El envase que se utilizó fue el recomendado por la OMS, con las siguientes características:

- a) Desechable, con lo cual se evitarán errores de laboratorio.
- b) De boca ancha, alrededor de 50 mm. de diámetro, para que el enfermo pueda espectorar fácilmente dentro del mismo y para que se pueda tomar una partícula útil al hacer el examen .
- c) Altura, alrededor de 40 mm. que permita la fácil introducción de los aplicadores de madera, para elegir la partícula útil.
- d) De preferencia, de material plástico que permite saber si la muestra es suficiente sin destaparlo .-
- e) De cierre hermético, con tapa de rosca .
- f) Fáciles de rotular en sus paredes. No debe marcarse en la tapa, porque cuando se quita ésta en el laboratorio, el envase pierde su identidad.
- g) La capacidad que sea entre 35 a 50 ml. (19,18) .

PREPARACION DE LOS REACTIVOS PARA LA COLORACION DE ZIEHL-NEELSEN.

1. Para preparar un litro de Fucsina fenicada, se necesitan -- 3 gms. de fucsina básica y 100 ml. de alcohol de 95°. Se disuelve por agitación y se agregan 55 ml. de fenol acuoso. Se agita y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Se deja reposar 24 horas y se filtra.-
2. Para preparar un litro de azul de metileno, se emplea un gramo de azul de metileno y 100 ml. de alcohol de 95°. Se disuelve - por agitación y se agrega agua destilada hasta completar un - litro. Se deja reposar 24 horas y se filtra.-
3. Para preparar un litro de solución decolorante se requieren - 30 ml. de ácido clorhídrico para análisis y 970 ml. de alcohol de 95°. Se deja escurrir el ácido clorhídrico por las paredes del matraz que contiene el alcohol, con la pipeta y se agita suavemente.

NOTA: Cada vez que las soluciones colorantes sean trasvasadas a - los pequeños cuentagotas que se emplean para tinción, DEBEN FILTRARSE.

El fenol acuoso se prepara agregando a 1 kg. de fenol crista lizado, 100 ml. de agua destilada.

Se calienta en baño maría hasta la completa disolución y se enfría. El fenol acuoso se mantiene líquido. (18,19).

LOS TRES TIEMPOS DE LA COLORACION DE ZIEHL-NEELSEN

PRIMER TIEMPO: COLORACION

Se coloca la serie de láminas fijadas conservando el orden numérico sobre las varillas de metal (no exceder de 12) .

Se cubre la totalidad de la superficie del extendido con fucsina fenicada previamente filtrada.

Se calienta suavemente con la llama de un hisopo de algodón humedecido en alcohol, pasándola lentamente por debajo de las láminas hasta que se produzca emisión de vapores; cuando éstos sean visibles, se deja de calentar. Cuando cese la emisión de vapores, se calienta nuevamente teniendo el cuidado que no hierva. Mantenerlo así por lo menos durante cinco minutos, añadir colorante para evitar que se deseque.

Lavar con agua corriente. Se elimina la fucsina tomando el porta-objeto por el extremo numerado e inclinándolo hacia adelante y se lava dejando caer una corriente de agua suavemente.

SEGUNDO TIEMPO: DECOLORACION

Decolorar con alcohol clorhídrico por un minuto o hasta que las partes menos gruesas queden incoloras. Lavar con agua corriente.

TERCER TIEMPO: COLORACION DE FONDO:

Teñir con azul de metileno durante medio a un minuto.

Lavar con agua corriente y secar.

Observación microscópica con objetivo de inmersión.

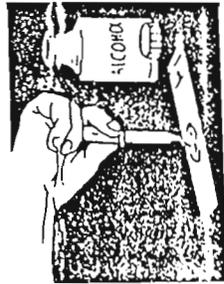
(18, 19) .

Con la técnica de coloración de Ziehl-Neelsen, los gérmenes Acido-Alcohol Resistentes se observan teñidos de rojo en un fondo azul - cielo. Su largo varfa aproximadamente entre uno y cinco micras y - su espesor 0.5 a una micra.

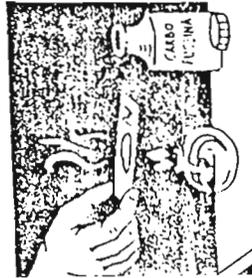
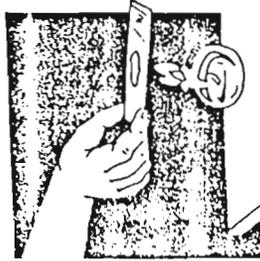
Preparación de un extendido de esputo por el método de Ziehl Neelsen



Con una varilla o un asa metálica, colocar una pequeña porción de la parte más densa de la muestra sobre un portaobjeto limpio, debidamente identificado y rotulado. Hacer un extendido fino y circular, de aproximadamente 30 mm de diámetro y dejarlo secar.



Fijar el extendido YA SEA cubriéndolo con 1-2 gotas de alcohol etílico o metílico al 70% durante 2-3 minutos. O BIEN pasando la lámina tres veces por la llama de un mechero.



Cubrir el extendido con la solución colorante carbolfucsina filtrada, y calentar con un mechero de alcohol hasta que comiencen a desprenderse vapores. Retirarlo de la llama. NO RECALENTAR.



Esperar 5 minutos, y luego lavar con agua corriente para sacar el colorante de carbolfucsina.



Cubrir el extendido con alcohol ácido al 3%.
PRECAUCIÓN: LA SOLUCIÓN DE ALCOHOL ACIDO ES INFLAMABLE, MANTENERLA ALEJADA DE LA LLAMA.



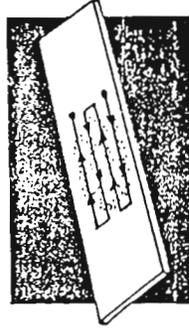
Esperar 5 minutos, o hasta que la coloración del extendido alcance un rosado pálido; seguidamente, lavar con agua corriente para eliminar el alcohol ácido.



Cubrir el extendido con colorante de azul de metileno y esperar 30 segundos. O BIEN con verde de malaquita, y esperar 1-2 minutos.



Lavar con agua corriente para eliminar el colorante, y dejar secar el extendido al aire. No frotar.



Examinar el extendido al microscopio, primeramente con un objetivo 40x y luego con uno de inmersión. Mover sistemáticamente la lámina de manera de no examinar más de una vez el mismo campo. A fin de no transferir bacilos de una lámina positiva a la siguiente, retirar el aceite que queda adhiriendo al objetivo de inmersión frotándolo suavemente.

INFORME DE RESULTADOS.

Se recomienda seguir las siguientes pautas para la presentación del informe de los resultados:

Negativo (-) : No se encuentra BAAR en 100 campos observados

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

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

Positivo (+++) : Más de 10 BAAR por campo, en 20 campos observados.

Si en una lámina se observan de uno a cuatro BAAR en 100 campos, se recomienda la siguiente conducta:

- a) Ampliar la lectura a otros 200 campos.

- b) Si con esta lectura no se encuentran más BAAR, hacer otro extendido de la misma muestra.

- c) Si la lectura de este segundo extendido no modifica el resultado del anterior, la muestra debe informarse como negativa.

Consignar el hallazgo de uno a cuatro BAAR en el libro de registro de baciloscopías del laboratorio y solicitar una nueva muestra del paciente. Es conveniente hacer el cultivo de aquellas - muestras en las que se encontraron de uno a cuatro BAAR en el - mismo laboratorio si efectúa cultivo, o bien derivarlas al laboratorio de referencia. (19, 18) .

ESQUEMA DE RECORRIDO DE LECTURA

Fig. 3. Recorrido para lectura
de 100 campos microscópicos.

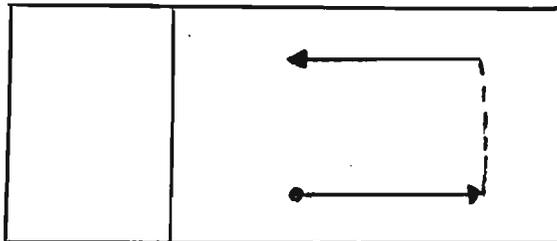
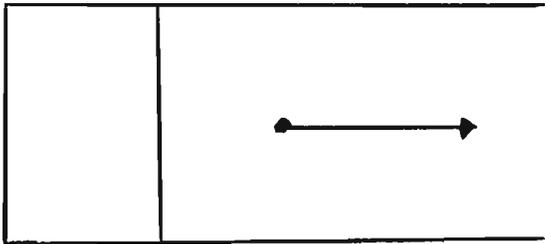


Fig. 4. Recorrido para lectura
de 200 campos microscópicos

R E S U L T A D O S .

En el presente trabajo, se investigaron 1,019 pacientes comprendidos en el grupo de Sintomáticos Respiratorios (SR) y 1,711 muestras de esputo, correspondiente a esos pacientes, en 12 establecimientos de la Región Central de Salud, los cuales están clasificados así: 2 hospitales, 1 centro de salud y 9 unidades de salud; 50 (4.9 %) de éstos pacientes, se reportaron positivos al método de la Baciloscopia de Koch, según lo demuestra el cuadro número 1 .

Cuadro N° 1

Porcentaje de sintomáticos respiratorios estudiados con baciloscopia de Koch positiva.

Establecimiento de salud.	S. R.	BK (+)	%
Chalatenango +	222	10	4.5
H. San Rafael +	436	24	5.5
Nva Concepción c	54	2	3.7
Quezaltenango u	131	10	7.6
Lourdes u	57	1	1.7
P. La Libertad u	54	1	1.8
Las Colinas u	20	0	0
Ciudad Arca u	18	0	0
Opico u	9	0	0
La Palma u	5	1	20
Tacachico u	10	1	10
Jayaque u	3	0	0
Total	1019	50	4.9

De acuerdo a lo normado o establecido por la O.P.S., se le debe solicitar 2 muestras a cada paciente Sintomático Respiratorio. En nuestro estudio realizado, observamos que en la primera muestra se obtuvo el 82 % de Baciloscopías de Koch positivas, de acuerdo a lo representado en el cuadro N° 2, donde también se observa que la mayor incidencia de casos positivos, nos la da el hospital San Rafael con 20 BK(+) (83.3%); el hospital de Chalatenango 10 BK(+) (100 % obtenidos en la 1ª muestra), Unidad de Salud de Quezaltepeque 8 BK(+) (80 %); por tener una mayor zona de influencia que los otros establecimientos.

CUADRO N° 2

Sintomáticos respiratorios con baciloscopía de Koch positiva en la primera muestra.

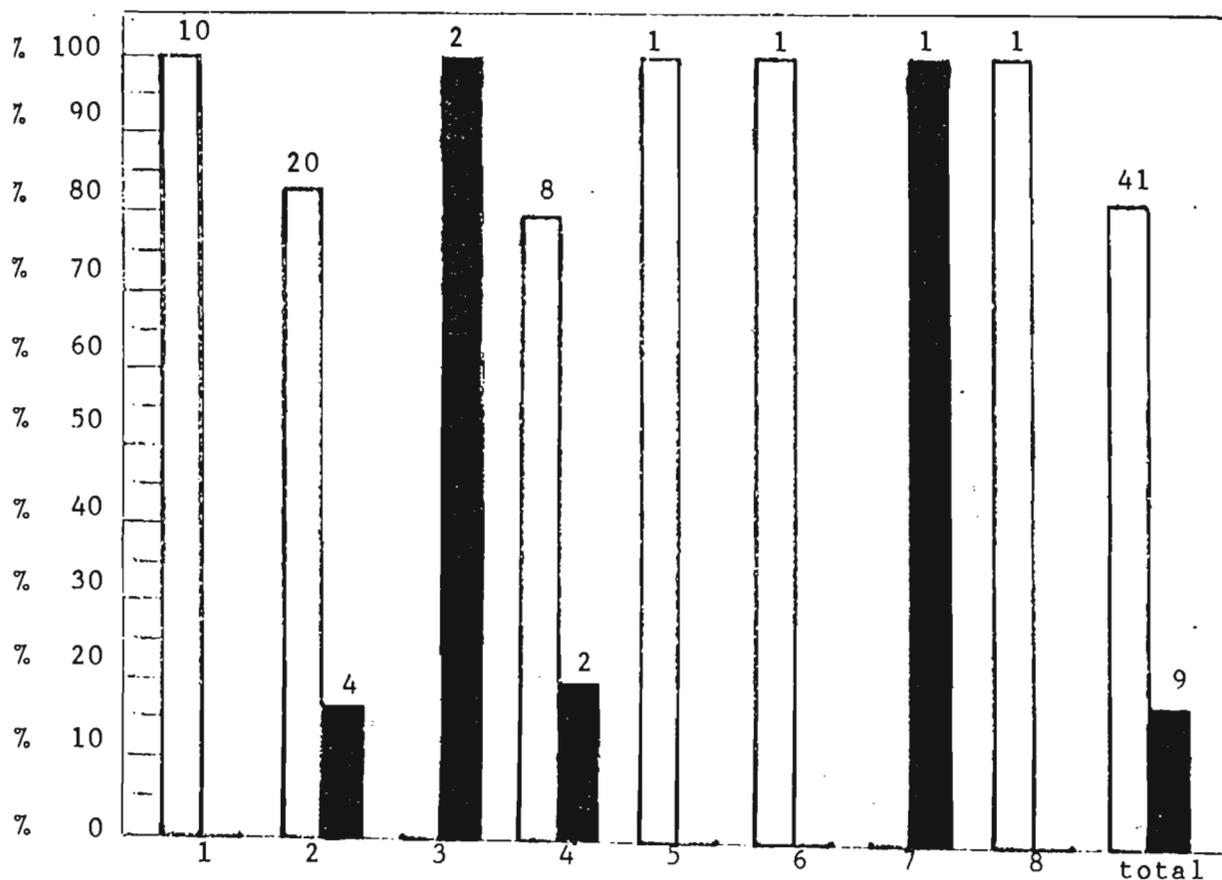
Establecimiento de salud.	S. R. con BK+	BK (+) 1ª muestra	%
Chalatenango	10	10	100
H. San Rafael	24	20	83.3
Nva Concepción	2	-	-
Quezaltepeque	10	8	80
Lourdes	1	1	100
P. La Libertad	1	1	100
Las Colinas	-	-	-
Ciudad Arca	-	-	-
Opico	-	-	-
La Palma	1	-	-
Tpacchico	1	1	100
Jayaque	-	-	-
Total	50	41	82

En el cuadro N° 3, observamos que con la segunda muestra obtuvimos 9 (18 %) casos positivos a la BK del total de 50 S.R. positivos. En el hospital San Rafael, se obtuvieron 4 (16.7 %) S.R. positivos; C. de S. Nueva Cocencepción 2 (100 %) U. de S. Quezalltepeque 2 (20 %) y U. de S. La Palma 1 (100 %) .-

Cuadro N° 3

Sintomáticos respiratorios con
baciloscopia de Koch positiva
en la segunda muestra.

Establecimiento de Salud	S.R. con BK +	BK (+) 2a. muestra	%
Chalatenango	10	-	-
H. San Rafael	24	4	16.7
Nva. Concepción	2	2	100
Quezaltepeque	10	2	20
Lourdes	1	-	-
P. La Libertad	1	-	-
Las Colinas	-	-	-
Ciudad Arce	-	-	-
Opico	-	-	-
La Palma	1	1	100
Tacachico	1	-	-
Jayaque	-	-	-
Total	50	9	18



Establecimientos de Salud.

GRAFICO Nº 1

PORCENTAJE DE BK POSITIVAS EN LA PRIMERA Y SEGUNDA MUESTRAS DE ESPUTO. (Los números arriba de las barras indican la cantidad de casos positivos, por establecimiento de salud).

□ 1a.muestra

■ 2a.muestra

1 = H. de Chalatenango

5 = U. de S. Lourdes

2 = H. San Rafael

6 = U. de S. Pto. La Libertad.

3 = C. de S. Nva. Concepción

7 = U. de S. La Palma.

4 = U. de S. Quezaltepeque

8 = U. de S. Tacachico.

El cuadro N° 4 nos muestra la asistencia de pacientes que, teniendo la primera Baciloscopia de Koch negativa BK(-); regresaron con la segunda muestra solicitada: 692 (71 %). Si calculamos el número y porcentaje de personas que no regresaron con la segunda muestra, se obtiene un total de 277, equivalente al 29 % .-

No se consideraron los casos que en la primera muestra tuvieron una BK (+) .

CUADRO N° 4.

SINTOMATICOS RESPIRATORIOS CON
BACILOSCOPIA DE KOCH NEGATIVA EN
LA PRIMERA MUESTRA, QUE LLEVARON
LA SEGUNDA MUESTRA SOLICITADA.

Establecimientos de Salud.	BK (-)	%	S.R. con 2a.Muestra	%
H.Chalatenango	212	100	156	73.6
H. San Rafael	412	100	298	72.3
C.de S. Nva-Concepción	52	100	36	69
U.de S. Quezaltepeque	121	100	93	77
U.de S. P. La Libertad	53	100	32	60
U.de S. Lourdes	56	100	37	66
U.de S. Las Colinas	20	100	14	70
U.de S. Ciudad Arce	18	100	11	61
U.de S. Opico	9	100	6	67
U.de S. La Palma	4	100	3	75
U.de S. Tacachico	9	100	5	56
U.de S. Jayaque	3	100	1	33
Total	969	100	692	71

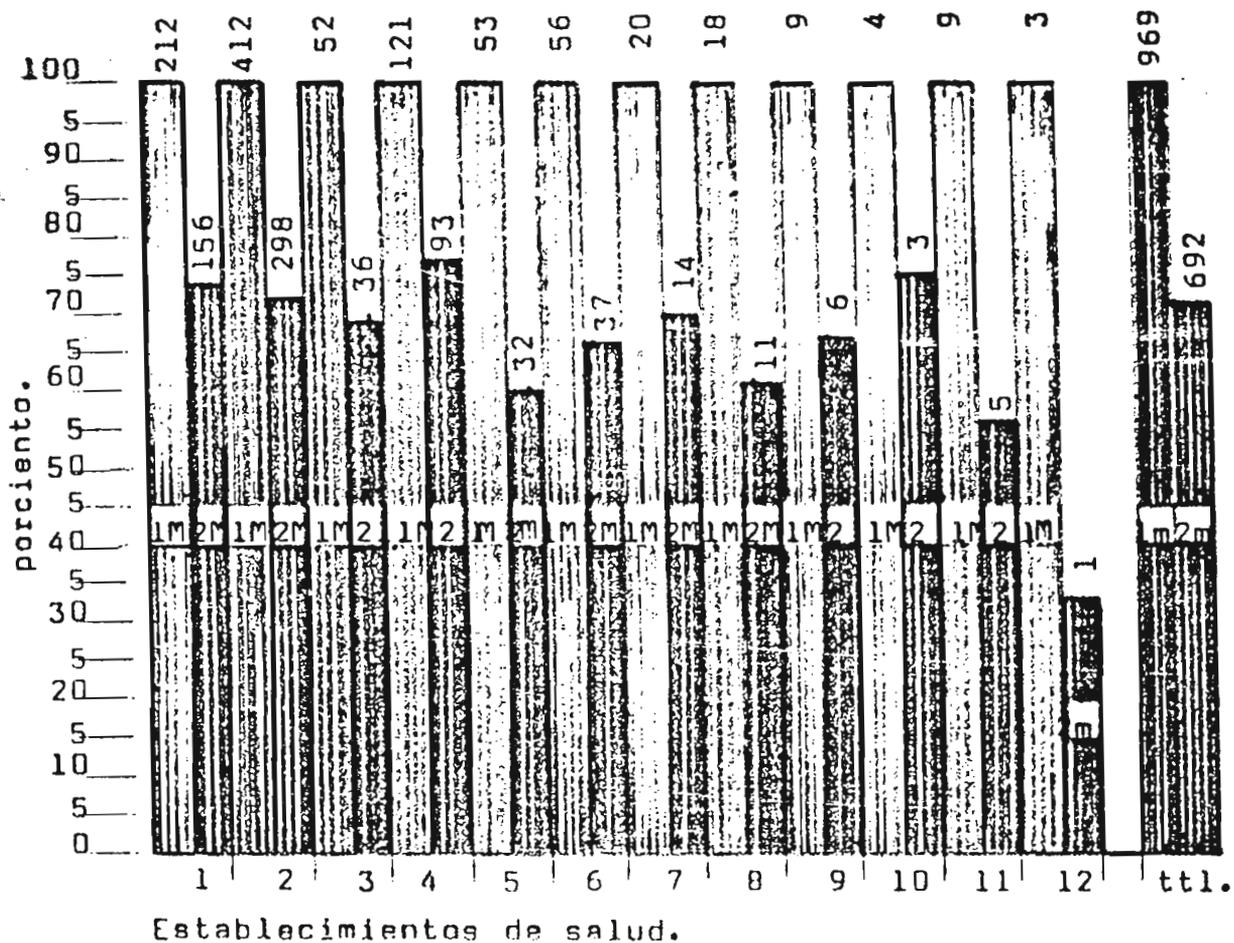


GRAFICO NO. 2.

PORCENTAJE DE ASISTENCIA DE S.R. CON BK(-) EN LA PRIMERA MUESTRA, QUE REGRESARON CON LA SEGUNDA MUESTRA SOLICITADA. (Los nrs. arriba de las barras en la primera muestra, indican las BK. negativas.)

- | | |
|-------------------------------|-------------------------|
| 1 = Hospital de Chalatenango. | 9 = U.de S. Opico. |
| 2 = Hospital San Rafael. | 10 = U.de S. La Palma. |
| 3 = C.de S. Nva Concepción. | 11 = U.de S. Tacachico. |
| 4 = U.de S. Quezaltepeque. | 12 = U.de S. Jayaque. |
| 5 = U.de S. Pto. La Libertad. | ttl = total. |
| 6 = U.de S. Lourdes. | 1M = 1ª muestra. |
| 7 = U.de S. Las Colinas. | 2M = 2ª muestra. |
| 8 = U.de S. Ciudad Arce. | |

En el cuadro N° 5, representamos la clasificación de BK positivas, de acuerdo a la escala semicuantitativa recomendada por la O.P.S. El mayor porcentaje de positividad, se reportó como BK positiva una cruz, donde encontramos 24 S.R. (48 %) comprendidos en esta clasificación. Con BK positiva 2 y 3 cruces se reportaron 13 (26 %) S.R. respectivamente. Si sumamos las positivities 2 y 3 cruces, nos dan un total de 52 % contra un 48 % de positividad una cruz.

CUADRO N° 5.

Clasificación de las baciloscopías de Koch positivas de los Sintomáticos Respiratorios estudiados, de acuerdo a la escala semicuantitativa recomendada por la O.P.S.

Establecimientos de Salud.	BK POS. con 1+	%	BK POS. con 2+	%	BK POS. con 3+	%	TTL
H. Chalatenango	5	50	0	0	5	50	10
H. San Rafael	15	62.5	6	25	3	12.5	24
C. de S. N. Concepción	0	0	2	100	0	0	2
U. de S. Quezaltepeque	3	30	3	30	4	40	10
U. de S. Lourdes	1	100	0	0	0	0	1
U. de S. P. La Libertad	0	0	0	0	1	100	1
U. de S. Colinas	0	0	0	0	0	0	0
U. de S. Cd. Arce	0	0	0	0	0	0	0
U. de S. Opico	0	0	0	0	0	0	0
U. de S. La Palma	0	0	1	100	0	0	0
U. de S. Tacachico	0	0	1	100	0	0	0
U. de S. Jayaque	0	0	0	0	0	0	0
Total	24	48	13	26	13	26	50

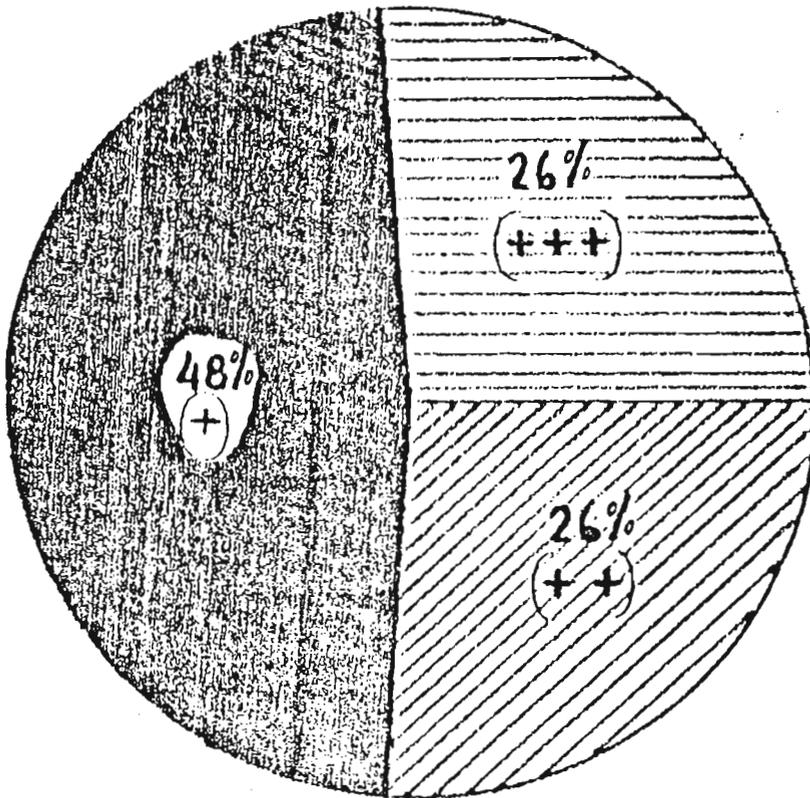


GRAFICO N° 3

PORCENTAJE DE BK POSITIVAS DE ACUERDO A LA
ESCALA SEMICUANTITATIVA RECOMENDADA POR
LA O. P. S.

D I S C U S I O N .

En nuestro país, a la Baciloscopia de Koch (BK), no se le ha dado la importancia que este método debe de tener en la ayuda al diagnóstico de la tuberculosis pulmonar.

El médico como persona involucrada en el tema, confiere mayor importancia a la radiografía del tórax (tabla II), método que como lo ha demostrado la práctica, no es específico para diagnosticar esta enfermedad, que representa un enorme problema a nivel mundial y nuestro país no es la excepción. Además la radiología de tórax presenta los siguientes inconvenientes:

1. Error del observador: 32 % por defecto (ve menos lesiones)
2 % por exceso (Ve más lesiones)
2. Influye mucho la experiencia del observador.
3. Frecuente desacuerdo en las lecturas entre diversos observadores (23).

El presente estudio, pretende que se le de la importancia a la Baciloscopia de Koch, como un método de diagnóstico temprano, que se adapta a los problemas de recursos tanto técnicos, financieros, humanos etc. (Fig. 1, tabla I), que este país presenta; además, según se menciona en la introducción, si se encuentran bacilos Acido-Alcohol Resistentes (BAAR) en un extendido, la posibilidad de que sean bacilos tuberculosos es muy alta, aunque pudieran colorearse otro tipo de mycobacterias atípicas en un porcentaje mínimo. (9) .

A pesar de la situación imperante en nuestro país, podemos decir que se obtuvieron resultados aceptables, ya que no obstante ser el primer estudio que se ha hecho de este tipo en nuestro medio, los resultados nos demuestran que investigando a los Sintomáticos Respiratorios (SR), se detecta en forma temprana la enfermedad y nuestros resultados no variaron apreciablemente del seguimiento que efectúa el Programa del Control de la Tuberculosis (PCT) en el país (13) .-

De acuerdo a estudios internacionales, se le deben hacer dos baciloscopías a cada Sintomático Respiratorio. Con el objetivo de lograr una mayor eficacia en la obtención de las muestras, se adiestró al personal que labora en los distintos establecimientos de salud comprendidos en la Región Central, sobre como reconocer a los S.R. que consultaron, aún por otras patologías, para que aprovechando la consulta, entregaran la primera muestra al laboratorio. Con la segunda muestra no asistió el 100 % de los pacientes, pese a que se les solicitó hacerlo. Esto podría darse por varios factores, entre los que se podrían mencionar:

- a) Situación socioeconómica
- b) Distancia del domicilio al establecimiento de salud
- c) Situación bélica imperante en la zona y
- d) Falta de conocimiento de la enfermedad. (Educación para la Salud).

Por lo que creemos que con una tercera muestra, la inasistencia - sería mayor y el beneficio obtenido, no sería porcentualmente importante. (29) .

El mayor porcentaje de positividad lo observamos en la primera muestra (82 % de los (+) encontrados), pudiendo esto **deberse** a que se explicó adecuadamente al paciente, la forma correcta de recolectar una buena muestra de esputo y a su obtención en el momento de la entrevista. En nuestro caso, la primera muestra reunió los requisitos necesarios para ser analizada y el paciente colaboró con las indicaciones y recomendaciones que se le dieron.-

Con la segunda muestra, que se considera de apoyo a la primera muestra negativa, a pesar de que también reunió los requisitos deseados, la positividad disminuyó (18 % de la BK(+) encontradas), llegándose a considerar los pacientes negativos como no bacilíferos, con otras patologías que comprometen vías respiratorias.

Con el reporte de resultados, el mayor porcentaje obtenido fué con una cruz, probablemente debido a que el paciente asistió tempranamente a consulta médica por su sintomatología respiratoria. Los otros grupos de pacientes S.R. que se reportaron con 2 v 3 - cruces, acudieron al establecimiento de salud, varias semanas después de estar con tos, espectoración, fiebre y algunas veces con hemoptisis; sin embargo, las positivities 2 y 3 cruces aún son - mayoritarias en el país, al sumarlas y compararlas con el total - de positividad una cruz.

En El Salvador, la tuberculosis pulmonar hasta 1984, observó - una tendencia descendente y paralela entre la morbilidad total y la de casos bacilíferos, aunque en los últimos 3 años, luego de - que se comenzara a insistir en la búsqueda del S.R., la incidencia de la tuberculosis en el país, a experimentado un alza (13) .-

C O N C L U S I O N E S

Después de haber realizado este trabajo y en base a la experiencia y enseñanza adquirida , llegamos a las siguientes conclusiones:

- 1) La tuberculosis pulmonar, sigue siendo un problema de salud en El Salvador, al que es necesario dedicarle mucha más atención de la que hasta ahora se le ha dado.
- 2) La baciloscopía de Koch, permite la detección rápida de bacilos Acido-Alcohol Resistentes, es una técnica fácil de realizar, - mucho menos costosa que el cultivo y la radiografía, requiere menos personal especializado, equipo sencillo y fácil de obtener, es de gran penetración y aceptabilidad por la población.-
- 3) Intensificar el examen baciloscópico de los Sintomáticos Respiratorios, tanto en adultos como en niños mayores de 8 años; - nos ayudará grandemente en la solución al problema de salud - que ésta enfermedad representa.-
- 4) La radiografía del tórax, sin abandonarla, exige una mayor inversión, es de menor penetración en la población y su rendimiento es menor; ocuparía un lugar secundario como elemento auxiliar del diagnóstico, pero muy importante en el control de la evolución de las lesiones durante el tratamiento.

R E C O M E N D A C I O N E S .

- 1) Es indiscutible que el método de la baciloscopia de Koch, es el de mayor rendimiento y de menor costo, por lo que se sugiere, se utilice como método básico para la búsqueda de Bacilos Acido-Alcohol Resistentes (BAAR), en Sintomáticos Respiratorios.
- 2) Recomendamos establecer que los Sintomáticos Respiratorios (S. R.), lleven dos muestras de esputo (la Nº 1 y la Nº 2) y no tres como se ha venido haciendo, ya que ésta (la Nº 3) no modifica fundamentalmente el resultado.
- 3) Concientizar al paciente sobre la importancia que tiene llevar la segunda muestra de esputo; es una tarea en la que todo el personal que labora y coopera con ésta área, debe poner todo su empeño e imaginación para lograr óptimos resultados.
- 4) Deben integrarse los laboratorios de los establecimientos de salud, para que todos ellos trabajen en el examen baciloscópico según el Programa Nacional del Control de la Tuberculosis (PNCT).
- 5) Se debe orientar a los pacientes sobre las medidas preventivas de como se transmite y manifiesta la enfermedad, para que sea tratada más tempranamente.
- 6) Deben integrarse a las actividades antituberculosas según normas del PNCT, en todos los establecimientos de salud del país, tanto del MISPAS como de entidades autónomas y privadas.

G L O S A R I O.

BACILOSCOPIA (de KOCH): Búsqueda microscópica del bacilo de Koch - en la espectoración y otros líquidos corporales, en - pacientes enfermos tuberculosos. Puede ser de: Diagnós tico, como método de búsqueda y localización de casos o de: Control bacteriológico en pacientes en tratamiento.

BACILOSCOPIA NEGATIVA (BK (-)): No se encuentran Bacilos Acido- Alcohol Resistentes en 100 campos microscópicos observados.

BACILOSCOPIA (+): Menos de 1 BAAR por campo, en 100 campos observados.

(++) Uno a diez BAAR por campo, en 50 campos observados.

(+++) Más de 10 BAAR por campo, en 20 campos observados.

BIOPSIA: Trozo de tejido fijado y teñido por diversos métodos, - que se utiliza para la investigación de la existencia - del Mycobacterium tuberculosis o de las características histológicas propias de la infección tuberculosa.

BUSQUEDA Y LOCALIZACION DE CASOS: Procedimiento cuyo objetivo es identificar con la mayor rapidéz, aquellos pacientes con - alta capacidad para transmitir la enfermedad a fin de - disminuir el tiempo en que son infectantes y, con ello la prevalencia de fuentes de infección en la comunidad.

C A S O : Paciente con bacteriología positiva al Bacilo de Koch.

CONTACTO : Toda persona que vive, se alimenta y/o duerme en el hogar del caso índice, sean o no familiares.

CULTIVO (de bacilo de KOCH): Método de laboratorio muy sensible y específico para descubrir el Mycobacterium tuberculosis en una muestra determinada.

ESPUTO O ESPECTORACION: Flemas y secreciones depositados en la faringe, laringe, tráquea y bronquios y que se elimina por la boca con el esfuerzo de la tos.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSO : Agente etiológico de la tuberculosis.
Sinónimos: Bacilo de KOCH, BK.

SINTOMATICO RESPIRATORIO (S.R.): Paciente con tos y espectoración sin límite de tiempo; puede presentar otros síntomas y signos como hemoptisis, espectoración hemoptoica, fiebre y pérdida de peso.

SOSPECHOSO: Paciente con clínica y radiología compatibles con el diagnóstico de tuberculosis pero sin comprobación bacteriológica.

SOSPECHOSO A RAYOS X : Paciente con alteraciones radiológica compatibles con el diagnóstico de tuberculosis.

TUBERCULINA (prueba de la) : Examen auxiliar ~~en el diagnóstico~~ - diferencial de la tuberculosis; útil solamente en personas NO VACUNADAS, se basa en la sensibilidad específica que se produce frente a las proteínas del Bacilo Tuberculoso.

VACUNA B.C.G. : Vacuna antituberculosa preparada en base al Bacilo biliado de Calmette y Guerin, derivado de una misma cepa de Mycobacterium.

B I B L I O G R A F I A

1. Bayer. Diagnóstico Microscópico de las Enfermedades tropicales. Alemania, Departamento Científico Farmacéutico, pp. 34,35,36.
2. Davis, B.D. Eisen H.N. Wood W.B. Dulbecco R. Tinsberg H.S. Tratado de Microbiología. Salvat. Edición 1971, México D.F. pp. - 876-881.
3. Dirección General de Control de la Tuberculosis y de las Enfermedades del Aparato Respiratorio. Secretaría de Salubridad y - Asistencia. A cien años del descubrimiento del Bacilo de la - Tuberculosis. México D.F. 1982. pp. 7,8,9,15.
4. División Nacional de Epidemiología. Dpto. Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de Normas, Métodos, Procedimientos y Técnicas para el control de la tuberculosis. Quito, Ecuador, mayo 1977, 2a. Edición pp. 19,20,21.
5. Figueroa Quintanilla, R.A. y otros. Estudio de Laboratorio de - Mycobacterium tuberculosis y otras Micobacterias en muestras de esputo de pacientes del Hospital de Santa Tecla. San Salvador, El Salvador 1987, p. 21.
6. Jawes Ernest. Manual de Microbiología Médica. 5a. Edición. México D.F. 1973, pp. 220,221.

7. Latini, A. Omar et al. Evaluación Técnica de la Búsqueda de -
casos de tuberculosis por baciloscopia en los servicios genera-
les de Salud de la Provincia de Santa Fe, Argentina. Boletín -
de la Oficina Sanitaria Panamericana 89 (3) 1980, pp. 209,215.
8. Lynch Raphael, Spore, Inwood, Métodos de Laboratorio. Nueva -
Editorial Interamericana S.A. 2a. edic. México 1972,pp. 965,
966,970.
9. Meléndez Quevedo M.E. y otros. Estudio Bacteriológico para de-
terminar la prevalencia de Micobacterias no tuberculosas en -
muestras obtenidas de humanos. San Salvador, El Salvador 1987,
pp. VI, 35,52.
10. MIPLAN. Estimaciones y Proyecciones de Población 1970-2055.
Estimaciones por área geográfica, Departamentos, Municipios y
grupos de edad, en la Unidad de Estadística de Salud.
11. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. La tuberculo-
sis en El Salvador 1974-1983, p. 1.
12. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Unidad de La
laboratorio. Laboratorio de Bacteriología de la Tuberculosis.
Normas Técnicas para el Diagnóstico de Tuberculosis, El Salva-
dor C.A. 1985.

13. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. División de -
Epidemiología. Programa Nacional de Control y Tratamiento de -
la Tuberculosis. El Salvador C.A. 1985, pp. 1,6,26.
14. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Revisión del
Programa Nacional del Control de la Tuberculosis. En Prensa.
15. Ministerio de Salud, División de Epidemiología, Manual de Nor-
mas, Técnicas y Procedimientos de Organización de Programas In
tegrados de Control de la Tuberculosis en Panamá. Panamá 1971
p. 7.
16. Ministerio de Salud. Manual y Normas de Tuberculosis. República
de Chile 1985, p. 23.
17. Ministerio de Salud. Búsqueda de Enfermos Tuberculosos. Manual
de Normas del Programa de Control de la Tuberculosis. Managua -
Nic. Marzo 1981 pp. 12,30,31.
18. O.P.S. Guía para el Diagnóstico de la tuberculosis por el exa--
men microscópico, Washington D.C. 1974, pp. 2,3,4,17,18,19,22,
23,24,27.
19. O.P.S. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para la Bac-
teriología de la Tuberculosis. La muestra. El examen Microscopico
co. Nota Técnica # 26, 1984 pp. 9,10,18,19,22,25.

20. OPS/OMS. Tuberculosis en las Américas. Notificación y Mortalidad. Oficina Regional de la O.M.S. Santa Fe. Argentina 1983, pp. 38-41.
21. OMS. Salud Mundial. La tuberculosis; Hechos y cifras. Enero 1982, pp. 8,9.
22. Selva Sutter, Ernesto Alfonso. Interacción de la Nutrición y la Infección. San Salvador, Universidad de El Salvador. Editorial Universitaria 1978, pp. 35-42.
23. Toman K. Tuberculosis, Detección de casos y Quimioterapia. Preguntas y Respuestas. O.P.S. Publicación Científica N° 390-1980, pp. - 30,31,43-46,89,90.
24. UICT/OMS. Lucha Antituberculosa. Informe de un grupo Mixto de estudio. Serie de Informes Técnicos 671 OMS. Ginebra 1982, p. 10.
25. Willer, Fred J. La Historia Natural de la Tuberculosis Pulmonar. OPS. Washington D.C. 1982, pp. 1,2.
26. Wyngarden Li. Smith H. Tratado de Medicina Interna de Cecil. Vol II, 16a. Edición. O.P.S. Washington D.C. 1985, pp. 1609-1614 .