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

SIBIUP
Biblioteca Int. Simón Bolívar
00270645

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

Dedicatoria

I es 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 titulo de Maestria A la Secretaria Nacional de Ciencia, Tecnologia e Innovacion (SENACYT), al Instituto de Investigaciones Científicas Avanzadas y Servicios de Alta Tecnologia (INDICASAT-AIP) que me brindaron todas las facilidades para la realizacion de este trabajo de investigacion, especialmente quiero agradecer al Dr Amador Goodridge 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 Epidemiologia al Dr Milton Alvear encargado del departamento de Docencia del Hospital Amador Guerreo de Colon De manera muy especial a Fermin Acosta, Ciara 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 culminacion con exitos de este trabajo

INDICE

	Pag
Dedicatoria	**ii**
Agradecimiento	**iii**
Indice	**iv**
Indice de tablas	**vii**
Indice de graficas	**viii**
Indice de figuras	**ix**
Resumen	**x**
Capitulo I	
Introduccion	2
ANTECEDENTES	**4**
1.0- Microorganismos en el aire	4
1.1 - Bioaerosoles	5
1.2 - Movimiento del bacilo *Mycobacterium tuberculosis* en los bioaerosoles	7
1.3 - Generalidades de *Mycobacterium tuberculosis*	7
1.4 - Transmision *de Mycobacterium tuberculosis* en el aire	9
1.5 - *Mycobacterium tuberculosis* en ambientes nosocomiales	11
1.5.1- Situacion de exposicion del personal de salud a *Mycobacterium tuberculosis* en Panama	14
1.6 - Tuberculosis en el personal de salud	15
1.7 - Recuperacion *Mycobacterium tuberculosis* en el aire	16
1.8 - Cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*	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 TB- 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

e 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 - Cuantificacion de interferon gamma por ELISA 36

CAPITULO III

RESULTADOS

3 1-Resultados del muestreo ambiental 39

3 1 1 – Valuacion fisica de las infraestructuras de las areas de muestreo ambiental 40

3 2-Identificacion 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 demografico 43

CAPITULO IV **53**

DISCUSION DE RESULTADOS **54**

CAPITULO V **68**

CONCLUCIONES 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 ESAT-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

TablaNº7 Resultados promedio del muestreo ambiental del edificio MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero) 89

TablaNº 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

TablaNº10 Analisis estadisticos de resultados obtenidos para los 200 PS medidos con Quantil eron TB- Gold 92

TablaNº11 Porcentajes de edad, sexo y grado de escolaridad 93

TablaNº12 Porcentajes demograficos para las pruebas de VIH, PPD y BCG 94

TablaNº13 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,ypresencia 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

TablaNº17 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 TB 51

INDICE DE FIGURAS **Pag**

Figura Nº1 Arbol filogenetico del genero *Mycobacterium* 101

Figura Nº2 Incidencia estimada de TB por 100 000 habitantes en las Americas, 2011 102

Figura Nº3 Region de las Americas Los diez paises principales por incidencia 103
estimada de TB por 100 00 habitantes

FiguraNº4 Tasa de incidencia de tuberculosis en todas las formas en Panama 104

Figura Nº5 Extension de la colonia de *Mycobacterium tuberculosis* 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 Identificacion de bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* 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

FiguraNº12 Esquema de composicion genetica de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* y del bacilo Calmette-Guerin respecto a la presencia de *Early Secretory Antigen Target* 107

Figura Nº13 Ubicacion de las areas de muestreo del edifico del 108
Hospital Amador Guerrero

Figura Nº14 Ubicacion de las areas de muestreo del edifico del MINSA 109

FiguraNº15 Mascarillas quirurgicas 110

FiguraNº16 Mascarillas N-95 110

FiguraNº17 Resultados del muestreo ambiental por sedimentacion en platos Petri 111

Resumen

La exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* presente en el ambiente hospitalario es uno de los principales riesgos del personal de salud Esta exposicion pude provocar la infeccion latente o inclusive el desarrollo de la enfermedad activa conocida como tuberculosis (TB) De hecho la infeccion latente con *Mycobacterium tuberculosis* (ILTB) es uno de los principales riesgos ocupacionales en los hospitales y centros de salud en los paises en desarrollo como Panama El personal de salud es el pilar en la lucha contra la TB, es por ello que el riesgo de exposicion a la Mycobacterias es mucho mas alto El riesgo de exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* se incrementa con factores como el retraso en el diagnostico de los pacientes que padecen TB Esto permite que el personal de salud comparta ambientes comunes con individuos enfermos altamente contagiosos Ademas, las infraestructuras deficientes de los centros de atencion medica como los sistemas de ventilacion y la organizacion de las areas de trabajo aumentan el riesgo de exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* en el ambiente Otros factores incluyen la poca informacion y la falta de elementos para la proteccion de riesgos biologicos brindados al personal de salud para su proteccion al momento de tratar con estos pacientes Existen diferentes estrategias directas e indirectas para determinar si existe la exposicion ambiental a *Mycobacterium tuberculosis* en el personal de salud Las estrategias directas estan basadas en la deteccion dè la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* Las mismas requieren de laboratorios sofisticados y la bacteria puede demorar hasta ocho semanas en crecer Por otro lado, la exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* tambien puede determinarse de forma indirecta, como la prueba de liberacion de interferon- γ por los linfocitos T (o pruebas IGRAs del ingles ***Interferon Gamma Release Assay***) El IGRA consiste en un metodo rapido y eficiente que permite determinar la exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* en 24 horas En esta tesis evaluamos el riesgo de exposicion ambiental a *Mycobacterium tuberculosis* en 200 profesionales de la salud que laboran en el hospital Amador Guerrero de la provincia de Colon De esta poblacion un 36% dio positivo para la prueba de Interferon gamma

Un 73% de la poblacion no clinica dio positivo para la prueba de IL1B y un 29% de la poblacion clinica dio positivo para IL1B Unido a esto realizamos un muestreo ambiental logrando identificar 2 colonias con morfologia similar a la de *Mycobacterium tuberculosis* en la sala de espera de urgencias de ortopedia y ginecologia, en el area de recepcion y atencion urgencia general del Hospital Amador Guerrero

CAPÍTULO I

Introduccion

Los microorganismos pueden ser transportados rapidamente, en forma de bioacrosoles a traves de grandes distancias con el movimiento del aire que representa el mejor camino de dispersion Algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y su dispersion en la atmosfera El transporte se realiza sobre particulas 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 suspension diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos La presencia de uno u otro tipo depende del origen, de la direccion e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo Entre estos microorganismos se encuentra *Mycobacterium tuberculosis*, que son bacilos aerobios inmoviles y no esporuladas con un tamaño de 0,2 a 0,6 x 1 a 10 µm, causantes de la tuberculosis El *Mycobacterium tuberculosis* se transmite por inhalacion de gotitas infecciosas, eliminadas al aire por el estornudo de un paciente con tuberculosis, (Kumar, Cotran & Robbins, 2000) a traves de las heces y mediante la orina La posibilidad de que una persona sana se infecte depende de la concentracion de nucleos de microgotas suspendidos en el aire y del tiempo de exposicion Las principales puertas de entrada son por el sistema respiratorio el tejido linfoide del buco-faringe el intestino y la piel (Garray, 1985) La via de contagio mas comun es la via respiratoria, le sigue la digestiva y la cutaneo-mucosa Al ser expulsadas al exterior las gotas grandes o gotas Pflugge («droplet») caen por accion gravitatoria en tanto las mas pequeñas nucleos de Wells permanecen mayor tiempo en el aire y son transportadas por las corrientes de aire Cuando el agua se evapora, deja en suspension los llamados nucleos de Wells («droplet nuclei»), estos nucleos contienen uno o mas bacilos que pueden trasmitir la tuberculosis a traves del aire

Las medidas de control ambientales son herramientas de defensa para la prevencion de la transmision nosocomial de *Mycobacterium tuberculosis* al personal de salud (PS) El riesgo de transmision hospitalaria de tuberculosis depende de la prevalencia de la enfermedad en el area 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 poblacion de pacientes el numero 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 (ILTB) 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, PE, & CIH and Millie P Schafer, 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 atmosfera no tiene una microbiota autoctona pero es un medio para la dispersion rapida y global de muchos tipos de microorganismos Sin embargo existe una importante intercambio de ellos y de sus metabolitos entre la atmosfera Aunque la atmosfera es un ambiente difícil para los microorganismos, en la troposfera inferior se encuentran un gran numero de ellos Determinados espacios temporales de la troposfera pueden ser habitats adecuados para el crecimiento de los microorganismos Las nubes poseen agua, intensidad de luz y concentracion de CO2 suficiente para permitir el crecimiento de los microorganismos (Bartha & Atlas, 2002) Los microorganismos pueden ser transportados rapidamente, en forma de bioaerosoles, a traves de grandes distancias con el movimiento del aire que representa el mejor camino de dispersion Algunos tienen adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y su dispersion en la atmosfera El transporte se realiza sobre particulas 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 suspension diferentes tipos de microorganismos, especialmente bacterias y hongos La presencia de uno u otro tipo depende del origen, de la direccion e intensidad de las corrientes de aire y de la supervivencia del microorganismo De esta forma, en el aire se aislan frecuentemente bacterias esporuladas, tambien son muy frecuentes los bacilos pleomorficos Gram positivos (*Corynebacterium*) y los cocos Gram positivos (*Micrococcus* y *Staphylococcus*) Los bacilos Gram negativos (*Flavobacterium Alcaligenes*) se encuentran en menor proporcion 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 tambien 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 metabolica En general las bacterias Gram positivas son mas resistentes que las Gram negativas ya que su pared celular es mas gruesa Los principales factores que afectan la

supervivencia incluyen la humedad relativa, temperatura oxigeno, materia organica y radiaciones (Potts 1994)

Los virus tambien pueden encontrarse en el aire y ser transportados por el mismo Numerosos virus humanos (Orto y Paramixovirus, Poxvirus, Picornavirus) se transmiten por via 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 aereas 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 particulas suspendidas

El papel de los microorganismos en el aire en diversos ambitos industriales se ha estudiado bien, sin embargo el papel de estos microorganismos en el aire en los centros de atencion en salud es poco conocido El aumento de la incidencia de las enfermedades nosocomiales debidos a la exposicion bioacrosoles (Schaal, 1991) indican la necesidad de estudiar a fondo los aspectos relacionados con la exposicion a estos microorganismos Por ejemplo, el monitoreo de los bioaerosoles en los hospitales proporciona informacion para la investigacion epidemiologica de las enfermedades nosocomiales infecciosas El enfoque principal ha sido entender la propagacion de los microorganismos en el aire

1 1- Bioacrosoles

Bioacrosoles son aerosoles o particulas de origen microbiano vegetal o animal que se utiliza a menudo como sinonimo de polvo organico Este polvo organico pueden consistir de bacterias patogenas o no patogenas vivas o muertas y hongos, virus alergenos (HMW) de alto peso molecular endotoxinas bacterianas, las micotoxinas peptidoglicanos β (1 $\rightarrow$ 3) glucanos fibras de polen, las plantas El interes en la exposicion bioaerosol ha aumentado en las ultimas decadas Esto es en gran parte debido a que ahora se reconoce adecuadamente que la exposicion a agentes biologicos, 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 publica, incluidas las enfermedades infectocontagiosas efectos toxicos agudos, alergias y cancer (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 deposito para una variedad de microorganismos De esta forma exposiciones inadvertidas a patogenos oportunistas ambientales (por ejemplo *Aspergillus* spp y *Legionella* spp) o por el aire patogenos (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 celulas bacterianas y fragmentos celulares esporas de hongos y subproductos del metabolismo microbiano presentes como particulas, liquidos o compuestos organicos volatiles pueden ser componentes de bioaerosoles (Stetzenbach, 2005) El aire contiene un numero significativo de microorganismos, actuando como un medio para su transmision o dispersion La inhalacion, ingestion y contacto dermico son las rutas de exposicion humana a los microorganismos en el aire, siendo la inhalacion el predominante Las particulas en un bioaerosoles son generalmente 0 3 a 100 micras de diametro sin embargo, la fraccion de tamaño respirable de 1 a 10 micras es de principal preocupacion(Cox & Wathes, 1995) Bio-aerosoles que varian en tamaño de 1,0 a 5 0 micras generalmente permanecen en el aire, mientras que las particulas mas grandes se depositan en las superficies (AJ 2002)

La exposicion a bioaerosoles a diferencia de la exposicion a sustancias quimicas no tienen limites de umbral para evaluar el impacto de la salud o efectos toxicos debido a la complejidad de su entidad las variaciones en la respuesta humana a su exposicion y dificultades en la recuperacion de los microorganismos que pueden suponer riesgo durante el muestreo de rutina (Mancher 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 produccion de medicamentos han hecho enfasis 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 exposicion bioaerosoles(GAI Babb JR & I I 1999 Schaal 1991) indica la necesidad de un profundo conocimiento en este sentido La carga microbiana en el aire interior del hospital esta muy influenciada por el numero de ocupantes su actividad y la ventilacion (GAI et al 1999) I os ocupantes son una fuente potencial de microorganismos ya que arrojan los microorganismos de las escamas de la piel y el tracto respiratorio La ventilacion causa dilucion del aire lo que

reduce la carga microbiana Sin embargo los fregaderos lavabos y desagues nebulizadores humidificadores y torres de refrigeracion son las fuentes potenciales de bacilos Gram negativos que colonizan las superficies humedas Depositos de ropa de cama tambien pueden ser las fuentes de microorganismos en el aire (GAJ et al 1999) Barrido de suelos y cambio de ropa de cama tambien puede causar la suspension de bioaerosoles en el aire (GAJ et al 1999) Las esporas de hongos logran la entrada en los edificios del hospital a traves de los conductos de ventilacion con filtracion inadecuada Dado que los niveles de exposicion 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 mas alla del ambiente de la habitacion del paciente o en distancias cortas Aerosoles de particulas pequeñas (por ejemplo generada durante la intubacion endotraqueal) se transmiten a las personas en el area inmediata cerca del paciente La expresion clinica de la enfermedad de las vias respiratorias esta influenciada por una combinacion de componentes de bioaerosoles y la dosis y duracion de la exposicion (medio ambiente) asi como las diferencias en la respuesta del huesped a bioaerosoles (polimorfismos geneticos) (Hattis Russ Goble Banati & Chu 2001) La transmision del bacilo de la tuberculosis se produce a traves de la inhalacion de bacilos en aerosol en los nucleos de gotitas de pacientes con tuberculosis con esputo positivo expectorado al toser estornudar y hablar Varios brotes de TB resistente a multiples medicamentos han puesto de relieve el potencial de transmision en el medio hospitalario(Breathnach et al 1998) Existe un grupo de microorganismos asociados a trasmision por bioaerosoles, a los que puede estar expuesto el personal de salud de los centros de atencion medica Ver tabla Nº1 (Centers for disease control and prevention , 2003)

1 3-Generalidades de *Mycobacterium tuberculosis*

La TB es una enfermedad infecciosa cronica, causada por *Mycobacterium tuberculosis* bacilos aerobicos, intracelulares o por mycobacterias zoonoticas, la de mayor relevancia *M bovis* y otras mycobacterias atipicas Su caracteristica fundamental es la formacion de granulomas en los tejidos (Muller et al 2013)

Aunque se trata principalmente de una enfermedad pulmonar (85%), afecta tambien a otros organos y tejidos Puede ser mortal si el paciente no recibe el tratamiento adecuado Existen reportes de muerte ocasionada por cepas multidrogoresistentes El genero *Mycobacterium* dentro de la familia *Mycobacteriaceae*, comprende a bacterias aerobicas Gram positivas debiles, acido alcohol resistente, inmovil, no esporuladas Se encuentra incluido en el orden de los *Actinomycetales*, con los generos *Nocardia* y *Corynebacterium*, entre otros En la figura Nº1, se muestra un arbol filogenetico de los diferentes generos con los comparte algunas caracteristicas, tales como el tener un alto contenido genomico de GC (guanina+citocina) en DNA y el ser capaz de producir acidos micolicos como componentes principales de la pared celular El genero *Mycobacterium* esta formado por bacilos aerobios inmoviles y no esporuladas 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 caracteristica pared celular mas gruesa que la de muchas otras bacterias, hidrofobica, cerosa, y rica en acidos micolicos/micolatos La pared celular es rica en lipidos, lo que hace que su superficie sea hidrofoba y confiere a las micobacterias resistencia frente a muchos desinfectantes y las tinciones de laboratorio Esta pared celular proporciona una contribucion sustancial a la resistencia de este genero de bacteria(Bansal-Mutalik & Nikaido 2014, Murray et al , 2009)(Daffe Glycolipids of Recent Clinical Isolates of Mycobacterium tuberculosis 1989 pdf, n d) En la membrana plasmatica se anclan proteinas manosido de fosfatidil inositol y liporarabinomanano (LAM), que presenta una reparacion funcional con los liposacaridos frente a los ataques de los agentes antimicrobianos, que no estan presentes en otras bacterias La capa de peptidoglucano forma el esqueleto basico al que se unen los arabiogalactanos, unos polisacaridos ramificados formados por D-arabinosa y D-galactosa El residuo terminal de la D-arabinosa se esterifica para dar lugar a acidos micolicos hidrofobicos de alto peso molecular a los que se anclan moleculas de glucolipidos de superficie Los componentes lipidicos abarcan el 60% del peso de la pared Las proteinas constituyen antigenos importantes para estimular la respuesta del anfitrion a la infeccion y pueden usarse como prueba prognostica 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 mayoria 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 huespedes sin que estos muestren signos de enfermedad Esto es debido a que en gran parte de los paises la cepa de *Mycobacterium tuberculosis* esta circulando en el medio ambiente Esta produce una primo infeccion, que permite desarrollar una respuesta inmune pero sin presentar los sintomas especificos creando asi celulas de memoria las que mantienen vigilancia especifica en el organismo Al transitar por la calle el paciente esta expuesto a una reinfeccion de *Mycobacterium tuberculosis* pero no desarrollara la infeccion, porque al tener las celulas de memoria estas se encargan de neutralizar al patogeno(Murray et al , 2009)

1 4- Transmision de *Mycobacterium tuberculosis* en el aire

El *Mycobacterium tuberculosis* se transmite por inhalacion 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 concentracion de nucleos de microgotas suspendidos en el aire y del tiempo de exposicion Pero, las particulas 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 habitacion, luego vuelven a depositarse en el suelo (Riley et al , 1995) La transmision puede ser indirecta ya que la mycobacterias es muy resistente a la desecacion y puede estar por muchos meses en el polvo o en los objetos de uso diario (Garray, 1985) Otras como *Mycobacterium bovis* se transmite por la leche de las vacas enfermas, e inicialmente produce lesiones intestinales y faringeas (Kumar et al , 2000) Las principales puertas de entrada son por el sistema respiratorio, el tejido linfoide del buco-faringe, el intestino y la piel (Garray, 1985) La forma de contagio mas comun es la via respiratoria, le sigue la digestiva y la cutaneo-mucosa No hay contagio materno trasplacentario (Ceccotti, 1994) Los pacientes con cavitaciones pulmonares son mas infecciosos aun puesto que su esputo contiene de 1 a 10 millones de bacilos por ml Sin embargo la piel y las mucosas respiratorias integras de las personas sanas son resistentes a la invasion Para que haya infeccion es necesario que se transporten los bacilos hasta los espacios aereos distales del pulmon los alveolos, donde no estan supeditados a la purificacion mucociliar bronquial El riesgo de infectarse por el *Mycobacterium tuberculosis* esta enteramente basado en factores exogenos al huesped Esto es debido a que

es necesaria la presencia del bacilo dentro del huesped para que se de el proceso de la infeccion 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 infeccion tuberculosa, y el otro, el de ser fagocitado por los macrofagos alveolares incorporado a los fagosomas y expuesto a ser destruido por la fusion fogolisosomial, generando radicales de oxigeno toxico e intermedios de nitrogeno reactivo (Riley et al , 1995) Una vez depositados en los alveolos, los bacilos estan adaptados para ser fagocitados por los macrofagos alveolares que, al depender tanto de sus propiedades geneticas como de su experiencia inmunitaria, son relativamente tolerantes a la proliferacion bacilar Existen otros mecanismos de transmision como los aerosoles generados por medio de la desbridacion o al cambiar las curas de los abscesos cutaneos o de los tejidos blandos infectados por *Mycobacterium tuberculosis*, que son altamente infecciosos Asimismo, las maniobras inadecuadas en la manipulacion de los tejidos durante las necropsias y la inoculacion directa en los tejidos blandos a traves de instrumentos contaminados o fragmentos oseos tambien transmiten la enfermedad (Garcia Infecciones respiratorias por micobacterias ambientales 2005 pdf n d)

La forma mas frecuente de transmision de la enfermedad *Mycobacterium tuberculosis* es a traves 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 mas pequeñas nucleos de Wells permanecen mayor tiempo en el aire y son transportadas por las corrientes Cuando el agua se evapora deja en suspension los llamados nucleos de Wells («droplet nuclei»), estos nucleos contienen uno o mas bacilos para ser transmisible la tuberculosis a traves del aire las gotitas de saliva deben flotar en el La velocidad de caida al piso es proporcional al tamaño de la gotita («*droplet*») o al cuadrado de su diametro En ambientes saturados de humedad la velocidad de caida hacia el piso desde una altura de 2 metros es de menos de 10 segundos Es muy poco tiempo para ser importantes en la transmision Pero la tendencia a evaporarse de las gotitas es la caracteristica fundamental Esto disminuye su tamaño, y el tiempo que pasan en suspension («*droplet nuclei*») Un ataque de tos produce hasta 3 500 particulas con capacidad infectante lo que equivale a 5 minutos de conversacion, mientras que un estornudo dispersa

hasta 1 000 000 de particulas, 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 (induccion 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 mejoria, 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 prevencion de la transmision nosocomial de *Mycobacterium tuberculosis* al PS Una variedad de medidas de control ambientales pueden usarse para reducir el numero de nucleos de gotitas infecciosos aerosolizados en el ambiente de trabajo La tecnica mas sencilla y menos costosa es recircular el aire de las areas de pacientes tuberculosos lejos de pacientes sin tuberculosis y mejorar la ventilacion natural mediante ventanas abiertas Metodos mas complejos y costosos que incluyen el uso de ventilacion mecanica (por ejemplo ventiladores de ventana, sistemas de ventilacion por extraccion etc) en habitaciones de aislamiento o pabellones para producir presion negativa e impedir que el aire contaminado escape a pasillos y otras areas circundantes Otros metodos incluyen filtracion del aire para retener particulas infecciosas y radiacion ultravioleta germicida (RUVG) para eliminar los bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* El diseño del centro hospitalario, el clima de la zona, el tipo de poblacion, el numero de pacientes tuberculosos atendidos en el establecimiento y los recursos disponibles, determinaran la utilizacion de las diferentes ambientales El movimiento de aire para lograr la dilucion y el intercambio del aire en una zona especifica reduce la concentracion de nucleos aerosolizados de gotitas A fin de disminuir el riesgo nosocomial la practica mas ideal seria una en la que el aire fresco se introduce constantemente a una habitacion y el aire contaminado se extrae al exterior, de manera que se cambia el aire en la habitacion varias veces por hora A menos que la ventilacion natural sea excelente en estas areas debe considerarse firmemente la ventilacion mecanica con extractores de ventana para generar flujo de aire direccional La radiacion ultravioleta germicida (RUVG) o las unidades de filtro HEPA portatiles pueden proporcionar una opcion a medidas ambientales de mas elevado costo que requieren alteraciones estructurales de un establecimiento Estas medidas pueden ser especialmente utiles en pabellones mas grandes areas de espera de clinicas para tuberculosis o areas de hospitalizacion como salas de television o recreacion donde se encuentran los pacientes tuberculosos

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

ambientales apropiadas, los respiradores no protegeran adecuadamente al PS de la infeccion 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 proteccion respiratoria personal es costosa, es sumamente apropiada para uso en areas de alto riesgo en el entorno de hospitales (Coffey et al 2002)

Hay diferencias importantes entre una mascarilla quirurgica y una mascarilla N-95 Las mascarillas como los cubre bocas quirurgicas (de tela o papel) Ver figura Nº

- Evitan la propagacion 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 particulas humedas grandes cerca de la nariz y la boca
- No proporcionan proteccion a la persona que las llevan puestas (por ejemplo personal de salud, paciente miembro de la familia) contra la inhalacion de nucleos de gotitas infecciosos en el aire (Regulations, 2015)

Para proteger al PS de los nucleos de gotitas transportados por el aire de *Mycobacterium tuberculosis*, se necesita un dispositivo respiratorio protector con la capacidad de filtrar una particula de 1 micron Las mascarillas N-95 son un tipo especial de mascara que proporcionan dicho nivel de filtracion y se colocan de manera ajustada sobre la cara para evitar fugas en torno a los bordes Ver FiguraNº16 Si la mascarilla N-95 no se coloca correctamente, los nucleos de gotitas infecciosos pueden ingresar facilmente a las vias respiratorias de las personas, dando lugar potencialmente a infecciones Usualmente se recomiendan respiradores con una eficiencia del filtro de al menos 95% para particulas de 0,3 micras de diametro 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 areas de alto riesgo tales como salas de broncoscopia salas para la provocacion de la formacion 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 exposicion a un aerosol mediante la atraccion de aire al interior no protege de la contaminacion El aire se expulsa

al exterior o se filtra y recircula en la habitacion Los filtros necesitan mantenimiento, los gabinetes mas practicos y seguros simplemente extraen aire al exterior, lejos de las ventanas personas o areas en las que el aire puede retornar al edificio La extraccion del aire al exterior produce presion negativa en el laboratorio en relacion 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 inducira 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 aeròsolizados (Granich Binkin Rieder & Transmisibles, 2002) Independientemente del tamaño del establecimiento de asistencia sanitaria, debe realizarse una evaluacion del riesgo del PS, con respecto a la infeccion por *Mycobacterium tuberculosis*, como primer paso para mejorar el control de infecciones por tuberculosis

1 5 1- Situacion de exposicion del personal de salud a *Mycobacterium tuberculosis* en Panama

A pesar de la existencia de todas estas medidas de control ambiental y para el PS establecidas por las diferentes organizaciones mundiales para la prevencion y control de la tuberculosis, existe un desconocimiento en nuestro pais de la infeccion latente producida a nivel de los centros nosocomiales Falta de informacion acerca de la forma de contagio a nivel ambiental y la falta de capacitacion al PS del uso correcto de los equipos de proteccion personal Unido a esto en los centros hospitalarios no cuentan con programas de atencion especializada para pacientes con posibles sintomas de tuberculosis ni con infraestructuras correctas parara manejar a esta poblacion ya sean sin diagnostico o aquellos pacientes que ya poseen un diagnostico positivo para la tuberculosis Los escases de recursos de los centros hospitalarios para abastecer de medicamentos y de nuevas tecnicas que detecten a tiempo la infeccion y para evitar el paso de una infeccion latente a una enfermedad La falta de interes en nuestro pais por crear planes de monitoreo microbiologicos ambientales en los centros hospitalarios convierte al PS y al personal no clinico que laboran en estos centros con grado de exposicion 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 atencion de la salud que tienen el potencial de exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* a traves del espacio aereo 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) Transmision asociada con la atencion sanitaria de *Mycobacterium tuberculosis* se ha relacionado con el contacto cercano con personas con enfermedad durante generacion de aerosoles, incluyendo la broncoscopia, intubacion endotraqueal, succion Otros procedimientos respiratorios como irrigacion de absceso abierto la autopsia, la induccion de esputo, y tratamientos de aerosol que inducen la tos(D'Agata, Wise, Stewart & Lefkowitz 2001) 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 El interes para eliminar la transmision de la tuberculosis (TB) en establecimientos de salud esta creciendo en importancia debido a la asociacion entre la tuberculosis y el VIH y la aparicion de TB resistente a multiples farmacos (MDR-TB) El VIH es un factor de riesgo para el desarrollo de TB (Buregyeya et al , 2013) Ademas de la reactivacion de infeccion latente de tuberculosis (ILTB) El VIH aumenta el riesgo de la progresion de la TB despues de la infeccion o re-infeccion De igual forma, el riesgo de transmision de la TB en las instalaciones de salud de las personas con TB a otros pacientes y personal esta bien documentado Pacientes con TB son ingresados en los centros de salud, que no cuentan con medidas de control de infecciones eficaces La situacion se agrava por el creciente numero de pacientes, sin las correspondientes expansiones de las infraestructuras de los centros de salud Ademas de que no se aumenta la contratacion de

personal, lo que lleva al hacinamiento de los pacientes retraso en el diagnostico y el tratamiento, en aumento de la transmision 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 prevencion y control en los establecimientos de salud asi como la tuberculosis en entornos comunitarios (Buregyeya et al 2013)

1 7 – Recuperacion *Mycobacterium tuberculosis* en el aire

Existen diferentes y diversas metodologias para determinar la exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* Estas metodologias pueden ser directas para obtener al organismo del medio ambiente, indirectas utilizando metodos dirigidos al organismo afectado Tambien puede ser pasivo en donde se obtiene al organismo por sedimentacion natural del aire en medios de cultivo y activas que se basan en el pasaje forzado del aire, mediante una bomba de aspiracion hacia los medios de cultivos

Los metodos mas usados incluyen

- **Sedimentacion** Este metodo pasivo consiste en ubicar platos de Petri, conteniendo medio de cultivo especifico para *Mycobacterium tuberculosis* en aquellas zonas escogidas para el muestreo Tras el periodo de muestreo se recogen las placas y se procesan segun las tecnicas analiticas microbiologicas mas apropiadas (Vadrot, Bex, Mouilleseaux, Squinazi, & Darbord, 2004, Zlojtro et al 2015)
- **Recogida en medio acuoso (impingement)** Este metodo de recogida en medio acuoso consiste en hacer borbotear un volumen de aire a traves de una solucion isotonica contenida en un frasco lavador y la posterior determinacion cuantitativa por los metodos microbiologicos habituales (International Organization for Standardization (ISO), 2003)
- **Filtracion** Consiste en filtrar un volumen de aire a traves de filtros de gelatina incubandolos posteriormente sobre medios de cultivo especificos para *Mycobacterium tuberculosis* Seccion 1 8 (P D Paul A Jensen et al 1998)
- **Recolector de Andersen** Este metodo de impartición de un volumen de aire es forzado a pasar a traves 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)de 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 aerotransportados, 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 utilizacion de una placa de sedimentacion es su dependencia de la gravedad para llevar organismos y particulas en contacto con su superficie aumentando asi el potencial para la supervivencia optima de recogida organismos Este proceso, sin embargo lleva varias horas para completar y puede ser poco practico para algunas situaciones en las cuales se requiere abarcar mayor cantidad de areas en menos tiempo (Cole & Cook, 1998)

1 8 - Cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*

Estos metodos emplean medios solidos y liquidos como lo son los medios Lowestein-jensen Kirchen, Middlebrook (7H9 7H10 Y 7H11), Ogawa Kudoh (OK) Stonebrink (STG) Los medios solidos pueden basarse en huevo o agar, ademas de contener suplementos antibacterianos que impidan o disminuyan el crecimiento de la microbiota acompañante Estos requieren cuatro a ocho semanas en promedio para la deteccion del crecimiento de las mycobacterias La identificacion a nivel microscopico es un procedimiento simple, es una observacion directa de patogenos y puede diferenciar organismos distintos morfologicamente Presenta las siguientes desventajas 1 - Es un procedimiento lento 2 - laborioso 3 -tedioso La identificacion en forma microscopica solo es posible en casos muy especificos Es de baja sensibilidad Se requiere contar con equipo muy especializado para la identificacion a nivel microscopico 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 microscopico (Aguilar-Gonzalez Ayala-Labarrios Rocha-Revilla, Padilla-Garcia, & Espinosa-Hernandez 2009) La identificacion de patogenos por medio de tinciones o del desarrollo del patogeno en un medio de cultivo especifico, puede detectar un amplio rango de variantes, no requiere de equipo muy sofisticado, son pruebas faciles 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 dias) Ademas se requieren un gran numero de pruebas para estar seguro de la identificacion del patógeno (una sola prueba no es suficiente en la

mayoria de los casos) Debido al uso de diferentes pruebas, los laboratorios requieren una amplia gama de reactivos Esta situacion incrementa el costo de la prueba significativamente Otros procedimientos como el cultivo in vitro e inoculacion en ratones son tecnicas costosas y los patogenos pueden presentar diferencias en infectividad dependiendo del hospedero (Rodriguez-Herrera, *et al* 2009), En estos casos pueden ser de utilidad los nuevos metodos de diagnostico o metodos indirectos(P D Paul A Jensen et al , 1998 Srikanth, Sudharsanam, & Steinberg, 2008)

1 9 - Metodos indirectos

Prueba de PPD

La prueba de la tuberculina es una tecnica normalizada por la OMS en 1964, que Charles Mantoux presento 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 obtienen tras el filtrado de cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* esterilizado y concentrado

Esta prueba consiste en la inyeccion intradermica de un complejo de antigenos (derivado proteico purificado o PPD) de *Mycobacterium tuberculosis* en el antebrazo Si hay presencia de una infeccion previa con *Mycobacterium tuberculosis* se dara una reaccion de hipersensibilidad retardada a los componentes antigenicos, lo conlleva a una induracion alrededor del sitio de inoculacion Por este metodo, se inyectan 5 unidades de tuberculina y 48-72 horas mas tarde se lee el diametro de la induracion en mm El punto de corte de induracion depende del estado inmunologico del paciente y de la vacunacion previa con bacilo Calmette-Guerin (BCG) Una prueba con resultado positivo la induracion va desde10-15mm, segun el estado inmunologico del paciente o vacunacion previa determina si hay infeccion 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 diagnostica que es indicada en personas convivientes con enfermos con tuberculosis, con radiografía de torax con resultados de posible tuberculosis, personas con sospechas clinicas de la enfermedad En otras condiciones como personas como VIH, adiccion a drogas, marginados sociales, extranjeros procedentes de paises de alta incidencia, como metodo control En aquellas personas que estan frente a un riesgo social

ambiental, cuidadores de guarderias, docentes, personal sanitario y carcelario y encargados de proyectos epidemiologicos

La prueba de PPD se ha utilizado en todo el mundo durante mas de un siglo como ayuda en el diagnostico 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 aplicacion
- Tiene una alta eficiencia en niños menores de 5 años
- La segunda visita para revision de la induracion permite una evaluacion de profilaxis al paciente

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

- La PPD esta constituida por antigenos que no son especificos de *Mycobacterium tuberculosis (M bovis M avium)* lo que pudiera dar como resultado falsos positivos
- Infecciones en la formacion de la induracion
- Individuos vacunados con BCG pueden crear falsos positivos
- Individuos con tratamientos con farmacos 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 mas frecuentes, las diferencias en la metodologia de medicion e interpretacion de la induracion (Craviotto & Limongi, 2012)

Existen nuevas herramientas que evitan la subjetividad en la interpretacion de los resultados por personal no entrenado, obteniendo resultados rapidos sin esperar una segunda visita y sin verse afectados por la vacunacion de BCG Estas herramientas son de facil estandarizacion en el laboratorio y estan basadas en biomarcadores

1 10- Biomarcadores

Diferentes tipos de enfermedades humanas se relacionan a la exposicion a agentes ambientales y constituyen un elemento determinante en la aparicion 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 traves del uso de biomarcadores que se desarrollan como respuesta en el hospedero y se expresa como resultado del efecto de una exposicion (Arango V n d) Los biomarcadores son parametros biologicos que proveen informacion sobre el estado normal o patologico de un individuo o una poblacion Son utilizados para comprender algunas enfermedades en aspecto como el tratamiento, prevencion diagnostico y progresion de la enfermedad, respuestas a la terapia evaluacion experimental toxicologica de medicamentos o pesticidas, medicion de riesgo ambiental y epidemiologico, ademas de evaluacion de la intervencion terapeutica, entre otros El crecimiento de la tecnologia, han aumentado la utilizacion de biomarcadores moleculares en las investigaciones clinicas, toxicologicas y epidemiologicas, al ofrecer una y dinamica herramienta para la evaluacion de riesgos en salud publica y de los ambientes laborales Entre los biomarcadores se pueden diferenciar tres tipos

1 **Biomarcador de exposicion** el cual evalua en un organismo la presencia de una sustancia exogena, un metabolito o el producto de la interaccion entre el agente xenobiotico (compuestos naturales o sinteticos del ambiente que el organismo metaboliza y acumula) y una molecula o celula diana (excreciones metabolicas de orina, aductos de ADN, aductos de albumina, aductos de hemoglobina)

2 Biomarcador de efecto el que evalua la alteracion bioquimica fisiologica o de comportamiento producida en el organismo que puede ser asociada con una enfermedad (Recuento de eritrocitos, leucocitos, trombocitos inhibicion de enzimas del grupo HLMO, niveles de proteinas en orina, marcadores de citotoxicidad niveles de celulas necroticas niveles de anticuerpos)

3 Biomarcadores de Susceptibilidad es un indicador de la capacidad heredada o adquirida de un organismo para responder a la exposicion a una sustancia xenobiotica (Polimorfismos de enzimas, polimorfismos de glutation transferasa, polimorfismos geneticos)(Arango V n d)

1 11 – Tuberculosis e infeccion latente

La exposicion a *Mycobacterium tuberculosis* presente en el ambiente puede causar una infeccion latente (ILTB) y luego la tuberculosis (TB) Ambas condiciones pueden ser producida principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* pero tambien 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 proliferacion de bacilos virulentos y de la propia respuesta del huesped Cuando la bacteria alcanza el pulmon 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 despues de la infeccion, causando una TB primaria, el bacilo llega y se establece pero no causa enfermedad, alcanzando un equilibrio' con el huesped, 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 sintomas que pueden ser leves o imperceptibles por muchos meses, incluso años Debido a ello los personas tardan en buscar asistencia medica y en este lapsus se convierten en trasmisores de la bacteria(Schluger & Rom, 1998) Ver tabla Nº 2

Un individuo en contacto con TB puede ser o no ser infectado, dependiendo del grado de exposicion y de los mecanismos inmunologicos innatos del huesped Un porcentaje importante, que se estima en alrededor del 60%, a pesar de la exposicion a la fuente de contagio no desarrolla nunca una respuesta in-munologica La explicacion de este hecho es desconocida Cuando ocurre la infeccion el sujeto puede controlarla o por el contrario la infeccion puede sobrepasar sus mecanismos defensivos y progresar a enfermedad Si controla la infeccion 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 infeccion controlada tienen lo que denominamos una infeccion latente tienen respuesta inmunologica al bacilo tuberculoso, pero no estan enfermos De todos los individuos que son infectados, solo un 10 % progresa

a enfermedad y la mayoria lo hace en los primeros años que siguen a la infeccion Un 15% de los que enferman, es decir un 1,5% de los infectados hace una enfermedad grave Si lo expresamos en numeros, de 100 expuestos, 40 se infectaran y 4 de estos enfermaran de tuberculosis y uno de cada 8 de estos enfermos desarrollara una TB grave

1 12 - Interferon gamma

En 1957 Isaacs y Lindenmann descubre una familia de proteinas con actividad antiviral que es secretada como respuesta inmunitaria, siendo estas las primeras citoquinas descritas terapeuticamente Actualmente existe un alto conocimiento sobre su estructura bioquimica, codificacion y regulacion genetica Existen diversas anormalidades geneticas ya descritas que han permitido utilizarlo como un agente terapeutico para enfermedades humanas El interferon gamma es un pilar en la proteccion del hospedero contra enfermedades producidas por bacterias, virus, parasitos, hongos, asi como para la eliminacion de celulas malignas Existen tres tipos de interferones

- Los interferones del tipo I o clasicos se dividen en cuatro clases (IFNα, IFNβ IFNω e IFNτ) Estos interferones son proteinas importantes de la inmunidad innata son producidas en respuesta a la infeccion viral, tienen capacidad anti proliferativa efectos inmunomoduladores y actividad antitumoral
- Los interferones del tipo III fueron recientemente descritos son los IFNλ1 -λ2, -λ3 Estos interferones se diferencian del tipo I porque se unen a distintos receptores de membrana (IFNLR y IL10R2)
- Los interferones tipo II corresponden a interferon gamma (IFNγ) o interferon inmune es producido por linfocitos T CD4+, CD8+ celulas Tγ/δ y por celulas NK en respuesta a algun estimulo inmune o inflamatorio Se ha demostrado que las celulas mieloides (celulas dendriticas, macrofagos y neutrofilos) tambien son capaces de producir IFNγ a traves de la estimulacion 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 celulas NK y existen evidencias de que tambien las celulas B, las NKT y las celulas presentadoras de antigeno (APC) son capaces de producirlo El interferon gamma (IFNγ) es una de las citoquinas mas caracteristica del perfil Th1 La produccion de IFNγ es controlada por citoquinas secretadas por APCs especialmente por la interleuquina 12 (IL-12) y la interleuquina 18 (IL-18) La funcion del interferon gamma esta centrada en la intervencion del macrofago en la inflamacion y en la inmunidad adquirida durante la infeccion El interferon gamma se encarga de orquestar la respuesta de los macrofagos y ademas tambien dirige la atraccion de leucocitos y el crecimiento, maduracion y diferenciacion de muchos tipos celulares, refuerza la actividad de las celulas NK (Natural Killer) y regula la funcion de las celulas B

1 12 2 - Respuesta inmune

El proceso de respuesta inmune inicia cuando los macrofagos reconocen los antigenos especificos de *Mycobacterium tuberculosis Early Secreted Antigenic Target-6* (ESAT-6) y el *Culture Filtrate Protein-10* (CFP-10) Estos son antigenos inmunodominantes secretados tempranamente por *Mtb* se encuentran dentro de la region de diferencia 1 (RD1) de su genoma y estan ausentes en *M bovis* BCG, *Mycobacterium avium* y la mayoria de las mycobacterias no tuberculosas (Abdallah et al , 2007, Bottai & Brosch 2009) Los antigenos ESAT-6 y CFP-10 han demostrado que estimulan una potente respuesta celular, caracterizada por elevados niveles de IFNγ y que protegen contra la infeccion por *Mtb* (Pimienta-Rodriguez, Rodriguez-Valdes Sarzo-Gomez, & Vallin-Plou 2012) Ver tabla Nº4

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 sintomas a lo largo de toda su vida desarrollando una respuesta inmune pero el bacilo permanece indefinidamente en el huesped El proceso de respuesta inmune innata inicia con

el reconocimiento de estructuras moleculares como lipoarabinomanan (LAM) lipoproteina de 19kDa y glicoproteinas distribuidas en la mycobacterias por receptores como los TLR *(toll like receptors)* que inducen a moleculas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF–α) y oxido nitrico (NO) los cuales contribuyen a la muerte de los microorganismos, induciendo asi la activacion de la respuesta adaptativa atrayendo linfocitos T al citio de la lesion produciendo citosinas y quimiocinas En el area alveolar los mecanismos innatos de defensa involucran a diferentes tipos celulares como macrofagos alveolares (MA), celulas dendriticas, neutrofilos linfocitos B, celulas epiteliales, celulas alveolares tipo I y tipo II y factores solubles como mucina, lisosima, lactoferrina surfactantes, defensinas catelicidinas, fosfolipasa A_2, inmunoglobulinas y proteinas del complemento y tienen como funcion eliminar la mayor cantidad de bacterias del tracto respiratorio (42, 43,44) Mientras el proceso de inmunidad innata se da *Mycobacterium tuberculosis* utiliza otras vias dentro del al macrofago y promueve su propia fagocitosis a traves de diferentes receptores presentes en la superficie de los macrofagos Estos receptores son los receptores para Fe, receptores de complemento como CR1 y CR3/CR4 receptores de manosa, y receptores para la proteina surfactante A Dependiendo de la via que siga el bacilo dentro del al macrofago asi sera su destino Si entra a traves de los receptores Fe de la mycobacterias opsonizada induce la produccion de intermediarios de oxigeno y favorece la fusion fagosoma–lisosoma pero si su entrada es a traves de CR3 inhibe el estallido respiratorio y no hay maduracion de los fagosomas El proceso de fagocitosis es dinamico en donde el bacilo es destruido por mecanismos bactericidas y proteoliticos de los macrofagos originando peptidos y otros antigenos Los antigenos micobacterianos de naturaleza proteica son acoplados a moleculas del complejo de histocompatibilidad tipo I (MCH I) y presentados por los macrofagos a linfocitos T $CD8^+$, o bien, acoplados a moleculas del complejo de histocompatibilidad tipo II (MCH II) y presentados a los linfocitos T $CD4^+$, mientras que los antigenos de naturaleza glicolipidica (fosfatidil manosidos lipoarabinomananas, acidos micolicos hexosil–1–fofoisoprenoides) son acoplados con moleculas CD1 y presentados a los linfocitos $CD8^+$ y dobles negativos ($CD4^-CD8^-$ El control inmunologico de la infeccion con *M tuberculosis* se basa en una respuesta inmune de tipo celular que se caracteriza por la produccion de citosina citosinas como IL–4, IL–5, IL–6 Il –10, IL–13 y TGI –β s y quimosinas como IL–2 IFN–γ, IL –12, IL–18, TNF–α

RANTLS MCP–1, MIP–1α 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 funcion 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 infeccion de tuberculosis latente (ITBL) era la prueba cutanea de tuberculina (PPD) Para el año 2001, una nueva prueba (QuantiFERON ®-TB o la QFT fabricados por Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) que medida la liberacion de interferon-gamma en sangre fue aprobada por la Food and Drug Administration En el año 2004, la FDA aprobo la segunda generacion de este test diagnostico, denominada QuantiFeron-TB Gold, en donde los antigenos utilizados son mas especificos y son el *Early Secretory Antigen Target* (ESAT-6) y el *Culture Filtrate Protein 10* (CFP-10) Estas 2 moleculas, codificadas por la region RD-1 del genoma del *Mycobacterium tuberculosis* estan ausentes en todas las cepas que contiene la vacuna de la BCG y en la mayoria de la mycobacterias no tuberculosas a excepcion de *M kansasii M szulgai y M marinum* Ver Figura Nº 14 La importancia de estos antigenos en el diagnostico de la ITB esta basada en que solo *M kansasii* puede ser responsable de una enfermedad parecida a la TB Pero *M kansasii* es una mycobacterias con una frecuencia muy baja de recuperacion ambiental, constituyendo solo el 0,5% de los aislamientos de las mycobacterias ambientales (Andersen, Munk, Pollock, & Doherty, 2000) Al analizar el papel del antigeno *ESAT-6* en la respuesta inmune de individuos expuestos a *Mycobacterium tuberculosis* un 60 y el 80% de estos individuos responden, estimulacion de la produccion de IFN-g por parte de los linfocitos T Comprobandose que la combinacion de *ESAT-6* con *CFP-10* aumenta aun mas la sensibilidad de la prueba para determinar activacion de linfocitos en pacientes enfermos

1 13 1 Principios del ensayo

El principio de estos nuevos ensayos esta basados en la cuantificacion de la respuesta inmune utilizando antigenos mycobacterianos para estimular las celulas T sensibilizadas y la medicion in vitro de la liberacion de interferon gamma Estas celulas T

detectadas en forma invitro van a corresponder a celulas efectoras que han estado en contacto recientemente con el antigeno y se encargan de la liberacion de interferon gamma cuando se ven expuestas nuevamente al mismo

La credibilidad y aprobacion de esta prueba es debido a que se utilizan a ESAT 6 CFP10 como antigenos de estimulacion codificados en la region RD1 de *Mycobacterium tuberculosis* y ausentes para BCG *M bovis* y la mayoria de la mycobacterias ambientales (Ver Tabal Nº 4) Teniendo este metodo una gran capacidad de detectar individuos realmente infectados por *Mycobacterium tuberculosis* y no falsos positivos por pacientes vacunados con la BCG o por infeccion de mycobacterias ambientales (Richeldi, 2006) Estas pruebas requieren la produccion de interferon gama en tres situaciones

-Exposicion del plasma a los antigenos mycobacterianos

-Exposicion a heparina y a fitohemaglutinina (control negativo)

-Exposicion a estimulador inespecifico de activacion linfocitaria en condiciones normales (control positivo o mitogeno)

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

1 14 - Estadistica de tuberculosis

1 14 1- Situacion mundial de la tuberculosis

La tuberculosis es la segunda causa mundial de muerte, despues 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 paises 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 tambien es de gran preocupacion a ya que en el 2013 se logro captar que alrededor de 550 000 niños enfermos de TB y mas 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 paises los casos de TB disminuyan mas del 45% logrado en el 2013 (OMS 2015) Ver tabla Nº2

1 14 2- Situacion de la tuberculosis en las Americas

Se estima que en el año 2011 se produjeron unos 268,400 casos nuevos de TB en las Americas, lo que equivale a 28 casos por 100 000 habitantes En Mexico se produjeron 26,000 casos nuevos de TB en el 2011 mas de la mitad (58%) de los 44 900 casos nuevos de TB estimados para toda la subregion Los restantes casos se resultaron en Guatemala (9 000 20%), Honduras (3 400, 7,6%), Nicaragua (2 400, 5 3%), y los siguientes paises El Salvador, Panama, Costa Rica y Belice (en conjunto, 4 100 casos, 9,1%) La incidencia estimada de TB fue mas alta en Guatemala (61 por 100 000) y Panama (48), y mas baja en Costa Rica (12) y Mexico (23) Ver Figura Nº2 y Nº3

1 14 3 - Estadisticas de tuberculosis en Panama

En Panama en el 2012 se reporto un total de 1465 casos de TB Dentro de las areas de mayor incidencia de casos esta en primer lugar la Comarca Guna Yala seguido por Bocas del Toro, Comarca Ngobe Bugle, Colon, Panama Este Ver figura Nº4

1 15- Hipotesis

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

1 16- Objetivos

General

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

Especificos

1 -Detectar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* en el aire del area 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 Saez Llorens en enero del 2014 Ver Anexo Nº1

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 Nº 2 Luego de esto a cada uno se le aplico una encuesta para recabar datos de importancia para el estudio Ver Anexo Nº 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 Ademas el medio requiere de un aditivo ODAC (albumina, dextrosa, catalasa), la adicion de anti fungico cicloexamida, y la adicion de glicerol para mejor especificidad

2 2 2- Preparacion del aditivo ODAC (albumina, dextrosa, catalasa)

En un vaso quimico de 1000 ml coloque 50 ml de agua desionizada mas 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 45wm

2 2 3- Preparacion 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 concentracion de 20 wg/ml Servimos de 3 a 5 ml de medio en platos Petri de 94 x16mm

Control de calidad del agar Mildebrook 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 preparacion del medio para el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*
- Para cada lote de medio preparado se utilizaron dos platos de control que los cuales no debian ser expuestos para verificar que el medio no presentara ninguna contaminacion

2 3 - Metodologia de muestreo

Se diseño un modelo experimental para el muestreo ambiental, el cual se realizo 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 areas de ambos edificios las clasificamos en tres tipos de riesgo segun lo establecido en la literatura Los niveles de riesgo que establecidos fueron altos, medio y bajo Ver tabla Nº5 y Nº6

2 3 1- Toma de muestras ambiental

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

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

  -Cuarto de urgencia general

  -Neumologia sala de intensivos

  -Area de procedimiento toma de muestra de esputo

  -Pasillo de sala de espera de Ortopedia y ginecologia

  -Areas de consulta de ortopedia

  -Pasillo de urgencia general

  -Sala de pediatria

  -Recepcion general

- El edifico de MINSA consta de tres pisos de los cuales logramos muestrear el 1, 2,3 lo que correspondia a un 80 % del edificio En esta edificio solo es de atencion medica no hay salas de hospitalizacion, intensivos, ni salas de urgencias Las areas muestreadas fueron las siguientes

  - Enfermeria

  -Laboratorio de funcion de EB

  -Medicina general y ginecologia

  -Odontologia

  -Pasillo de asistencia general

  -Laboratorio clinico

  -Recepcion general

  -Area de solicitud de cupos

  -Oficina de medicos

- En cada uno de los edificios ubicamos de las tres zonas de riesgo Para cada zona de riesgo seleccionamos tres areas (1 2,3) para realizar el muestreo ambiental dependiendo de las caracteristicas de cada una En cada area 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 Nº5
- Cubri completamente la placa con el colorante de carbol fucsina Ver figura Nº6
- Caliente 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 Nº7
- Cubri completamente la preparacion con el colorante de contraste azul de metileno por 1 minuto Ver figura Nº 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. Mezcle 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 µl

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 trasferi 50 µl del tubo S2 al S3

2 5 3- Cuantificacion 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 formacion de espuma y lograr asi una solubilizacion completa del conjugado
- Prepare la cantidad necesaria de conjuntado 100X para las 12 tiras de los 96 pocillos de los platos de ELISA En un tubo coloque 60 µl del conjugado mas 6 0 ml del en diluyente verde (GD)
- Añadi 50 µl de conjugado recien 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 antigeno con la letra A Ver figura Nº10
- Mezcle el conjugado y las muestras de plasma/estandares durante 1 minuto en un agitador de microplacas Tape el plato y lo incubamos a temperatura ambiente (22 °C ± 5 °C) durante 120 ± 5 minutos
- Dilui una parte del tampon de lavado 20X concentrado con 19 partes de agua desionizada o destilada y mezclamos bien
- Al finalizar el periodo de incubacion, lave los pocillos con 400 µl de tampon de lavado 6 veces
- Seque el exceso de tampon de lavado y agregue 100 µl de solucion enzimatica de sustrato a cada pocillo y mezcle con un agitador de microplacas
- Tape la placa y la incube a temperatura ambiente (22 °C ± 5 °C) durante 30 minutos alejados de la luz

- Al culminar los 30 minutos de incubacion añadi 50 µl de solucion enzimatica de parada a cada pocillo y mezclamos
- Medi la densidad optica (DO) de cada pocillo a los 5 minutos de detener la reaccion mediante un lector de microplacas con un filtro de 450 nm

Capítulo III

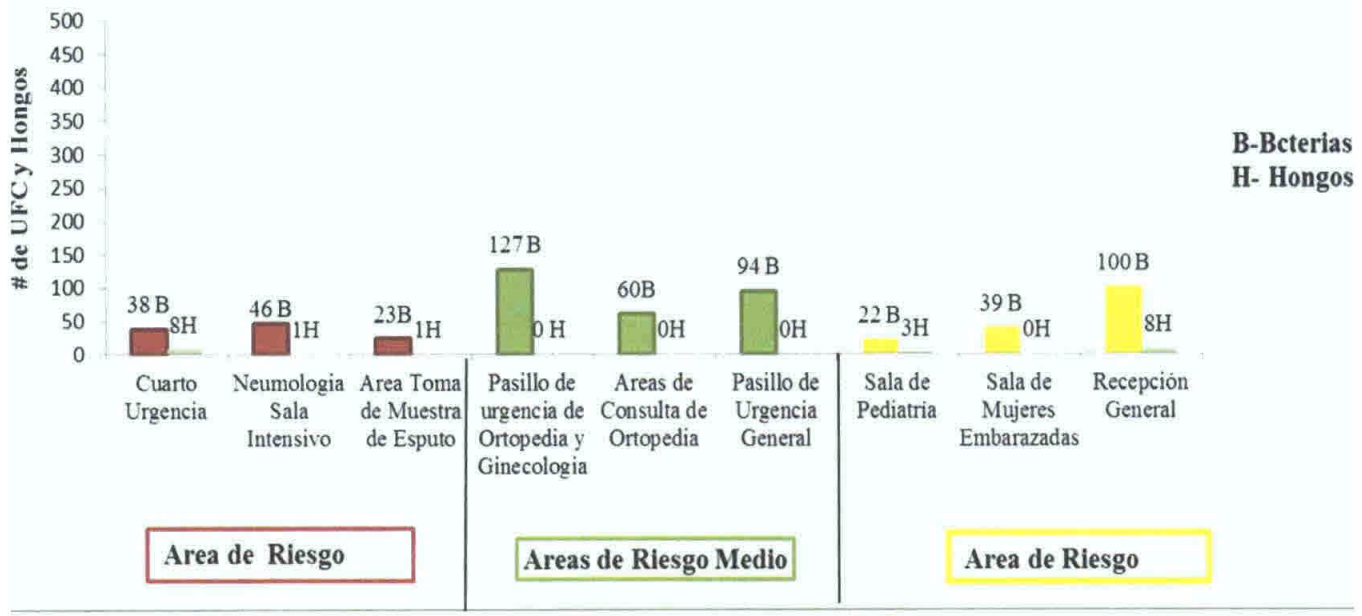
Resultados

3.1-Resultados del muestreo ambiental

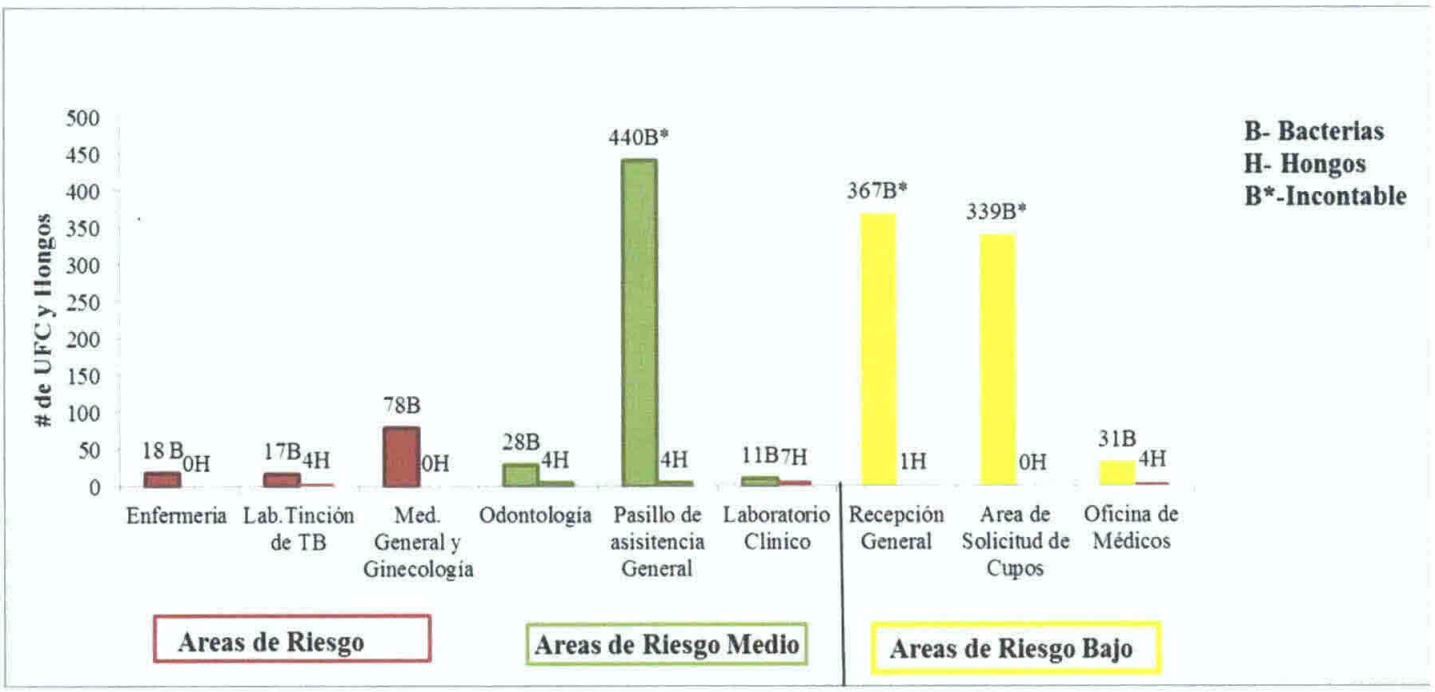
Resultados del muestreo ambiental del edificio MINSA (Antiguo Hospital Amador Guerrero) y el Hospital Amador Guerrero.

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 Nº 7 y 8. Gráfica Nº1, 2.

Gráfica Nº1 Promedio del muestreo ambiental del Hospital Amador Guerrero.



Gráfica Nº2 Promedio del muestreo ambiental del Edificio de MINSA.



3.1.1-Evaluacion 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 Nº17,18 , 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 Nº 11

3.3- Resultados de la prueba de interferón gamma.

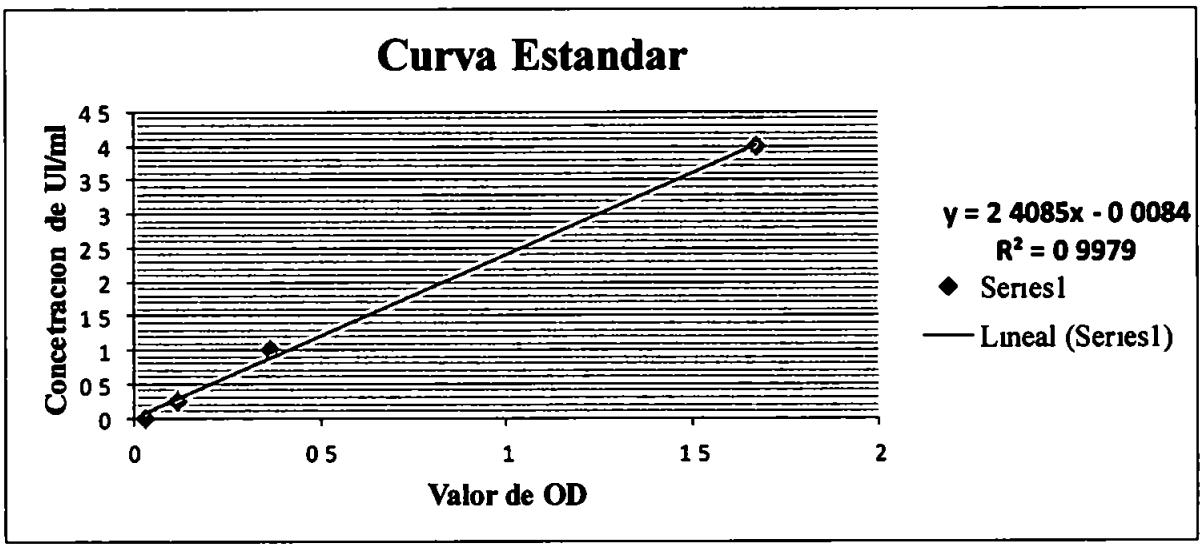
Se tomaron 200 muestras de sangre al personal de salud de las diferentes áreas de riesgo para realizarle la prueba de Interferón Gamma con el Kit de QuantiFeron –TB Gold De las 200 muestras analizas 71 resultaron positivas para la prueba de interferón gamma esto representa el 36% de la población de estudio

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

Los platos de ELISA fueron leidos 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 Nº3 Las muestras fueron ordenadas en cada uno de los platos de acuerdo a un mapa realizado previamente con el codigo de cada muestra para diferenciar el nil, antígeno y mitógeno Ver figura Nº12

Grafica Nº3Curva 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 remplazando en la ecuación lineal de la curva estándar el valor del Nill y del Antigeno, y ambos valores deben ser restados para obtener el valor real de Interferón Gamma Ver EjemploNº1

Ejemplo Nº1

Valores para el PS **ILTB-14-001**

- Valor del Nill = 0 05 Se remplaza 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 remplaza en la ecuación de (Y= 2,40085X -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

Segun el criterio de aceptación para que un valor se considere ILTB positivo debe cumplir con el parámetro de la tabla Nº9 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.

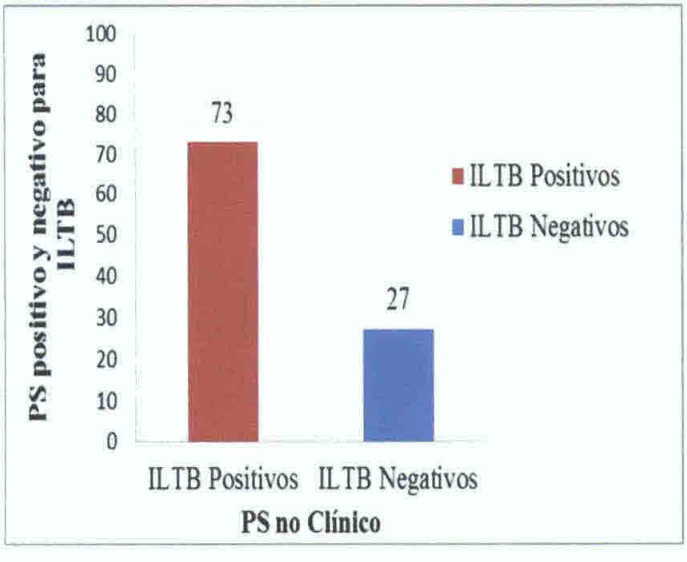
De los 200 trabajadores de la salud que participaron del proyecto 71 resultaron resultados positivos para ILTB o infección latente que corresponde al 35% de la población y 129 resultaron negativos que corresponde al 65% de la población de estudio utilizando el Kit de QuantiFeron TB – Gold. Para estos datos calculamos el promedio, media, mediana, moda y la desviación estándar. Ver Tabla №10.

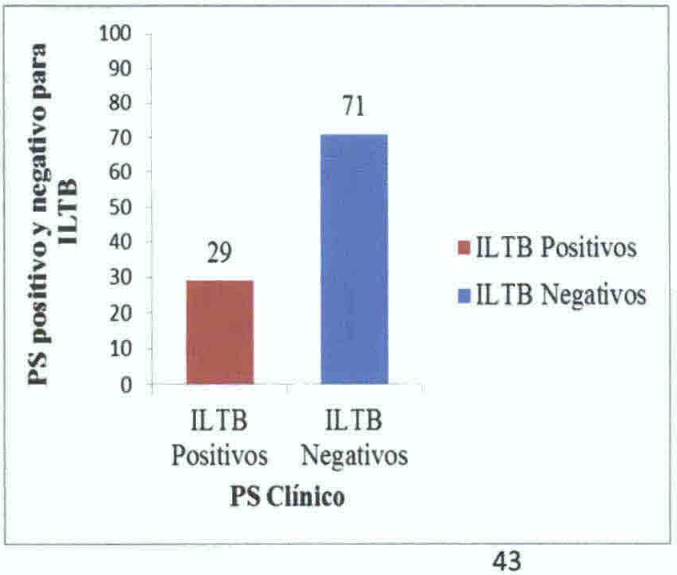
3.5 Análisis demográfico

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 (recepcionistas, registritos 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 №4

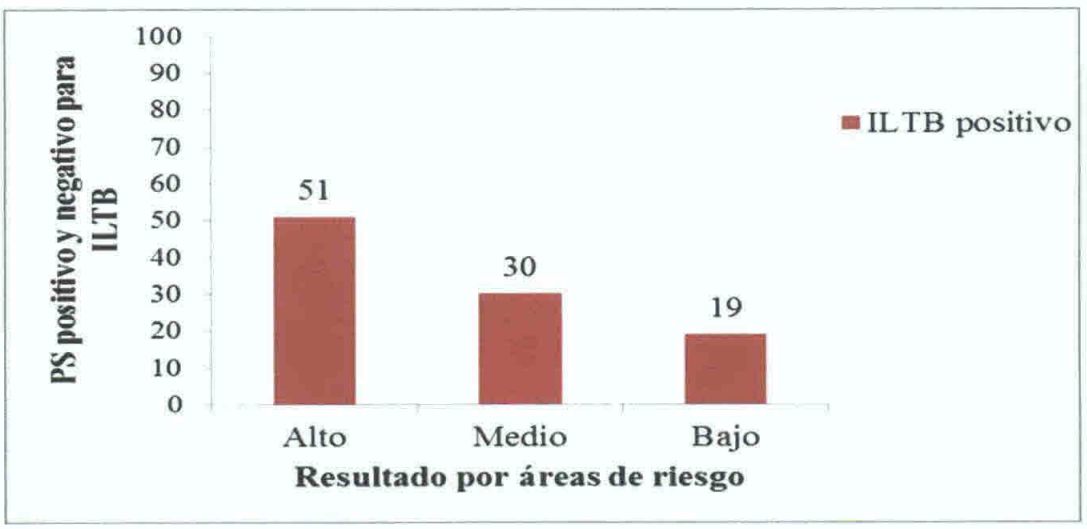
Grafica №4 Porcentaje del PS clínicos y no clínico, positivos y negativos para ILTB





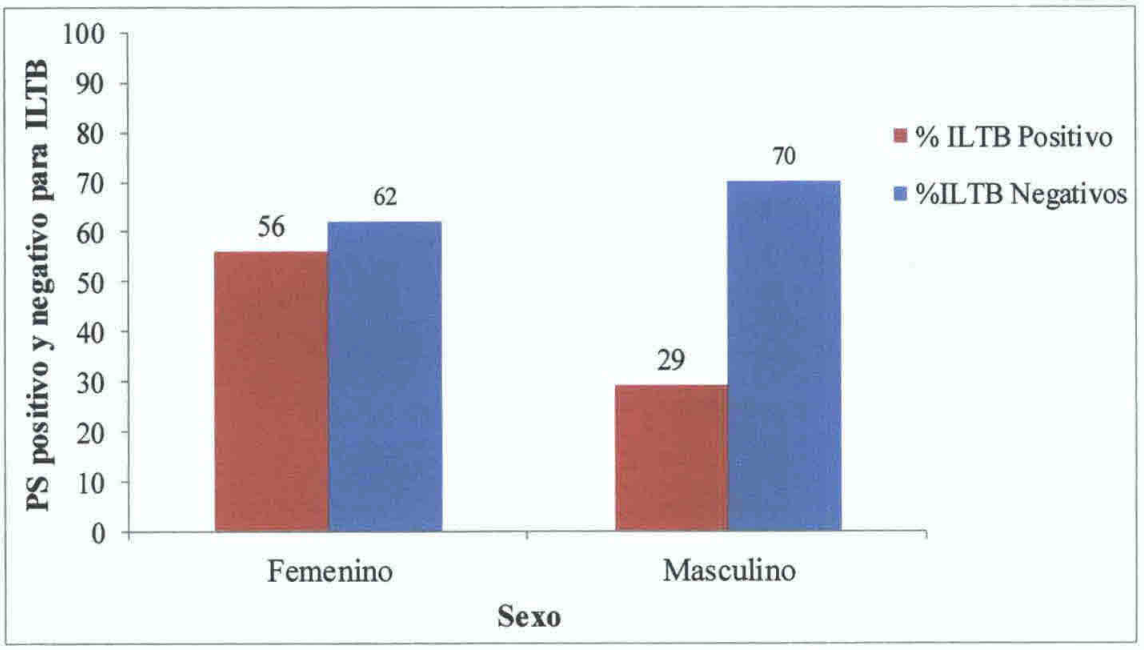
De acuerdo a la clasificación de las áreas según el tipo de riesgo, del PS que resultó positivos para ILTB el 51% pertenecían al área de alto riesgo (cuarto de urgencias, salas de neumología, áreas de procedimiento de toma de esputo para TB, y ginecología). El 30% pertenecían al área de riesgo medio (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 Nº5.

Grafica Nº5 Porcentaje del PS positivo para ILTB en las áreas de alto, medio y bajo riesgo

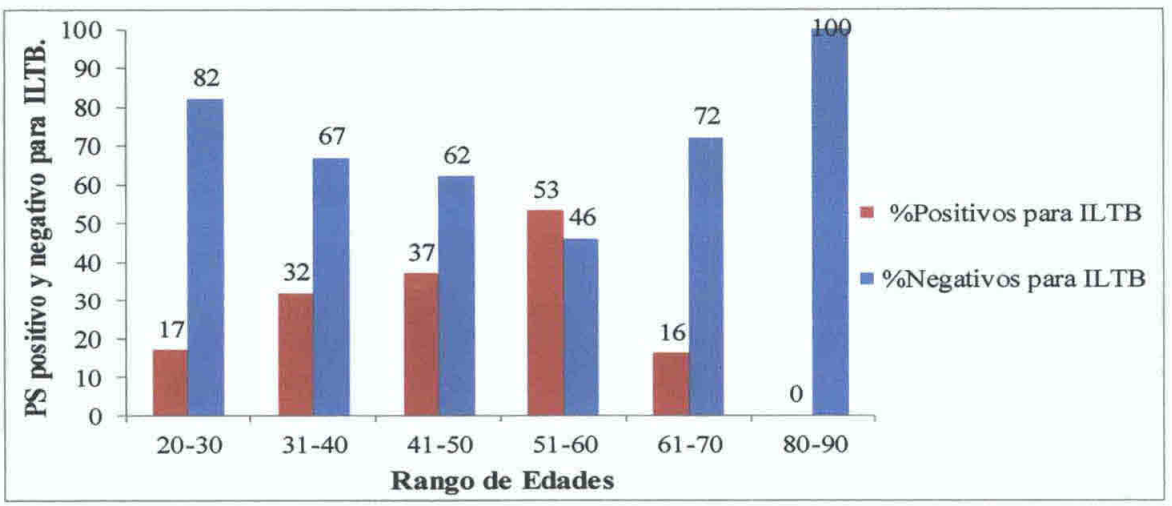


En el personal de salud (PS) el rango de edad con mayor porcentaje de positivos estaba 51-60 con un 53%. De los 200 PS 149 eran femeninos y 51 masculino. El mayor porcentaje de positivos para ILTB estuvo en el sexo femenino con 56% y el masculino con un 15%. El grado de escolaridad con mayor número de PS positivo fue el de maestría con un porcentaje de 77%. Ver tabla Nº11, Ver gráfica Nº 6, 7,8.

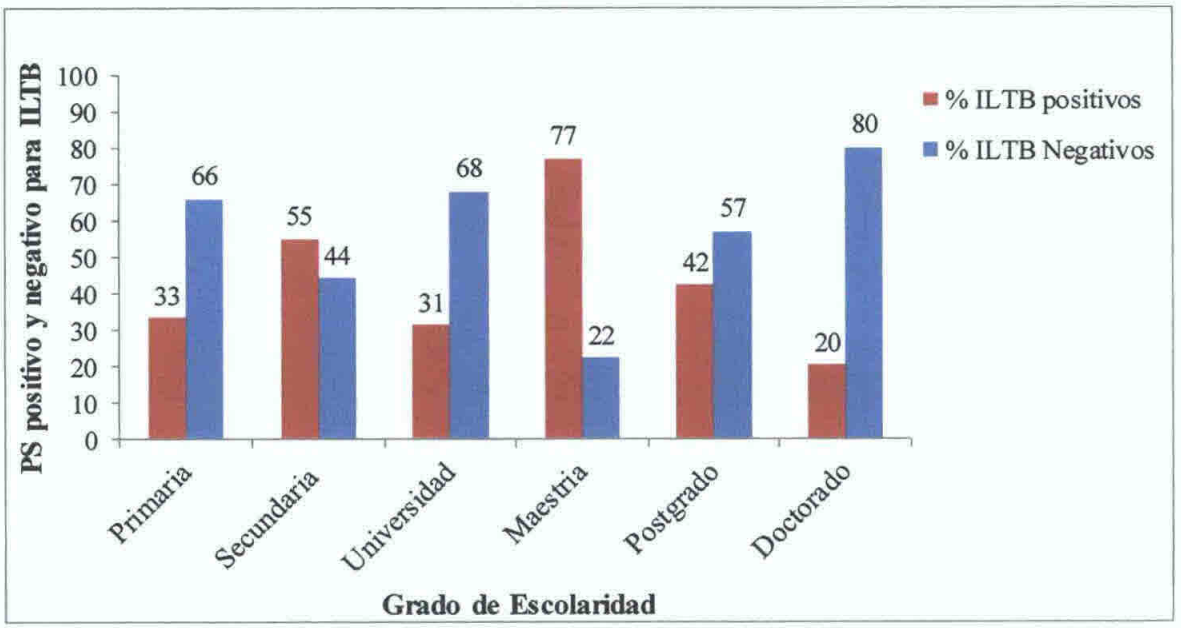
Gráfica Nº6 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs sexo.



Gráfica Nº7 Porcentajes de PS positivos y negativos para ILTB vs rango de edades.

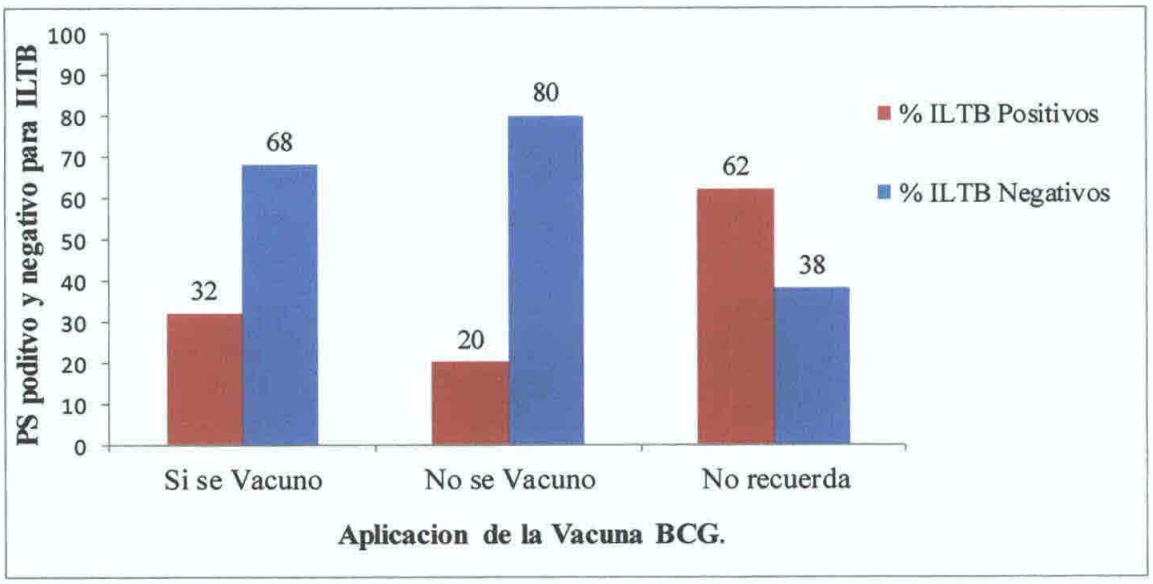


Gráfica Nº8 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs grado de escolaridad.

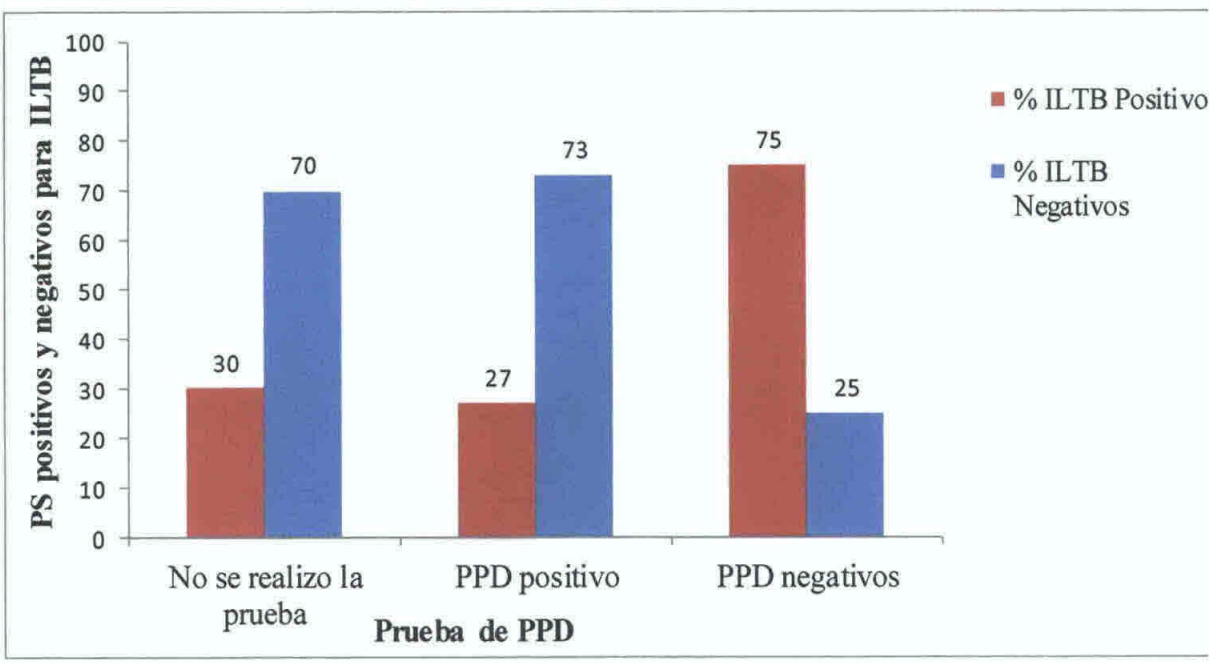


El 100 % del PS reportó prueba de VIH negativo, y un 100% resultaron ILTB positivo. Un 73% del PS reportó haberse puesto la vacuna de BCG; y de estos un 32 % resultó positivo para ILTB, un 20 % de los positivo reportó no haberse puesto la vacuna, y un 62% de positivos no sabe o no recuerda haberse puesto 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 tablaNº 12, Ver graficaNº 9, 10.

Gráfica Nº9 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs vacunación BCG.



Gráfica Nº10 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs prueba de

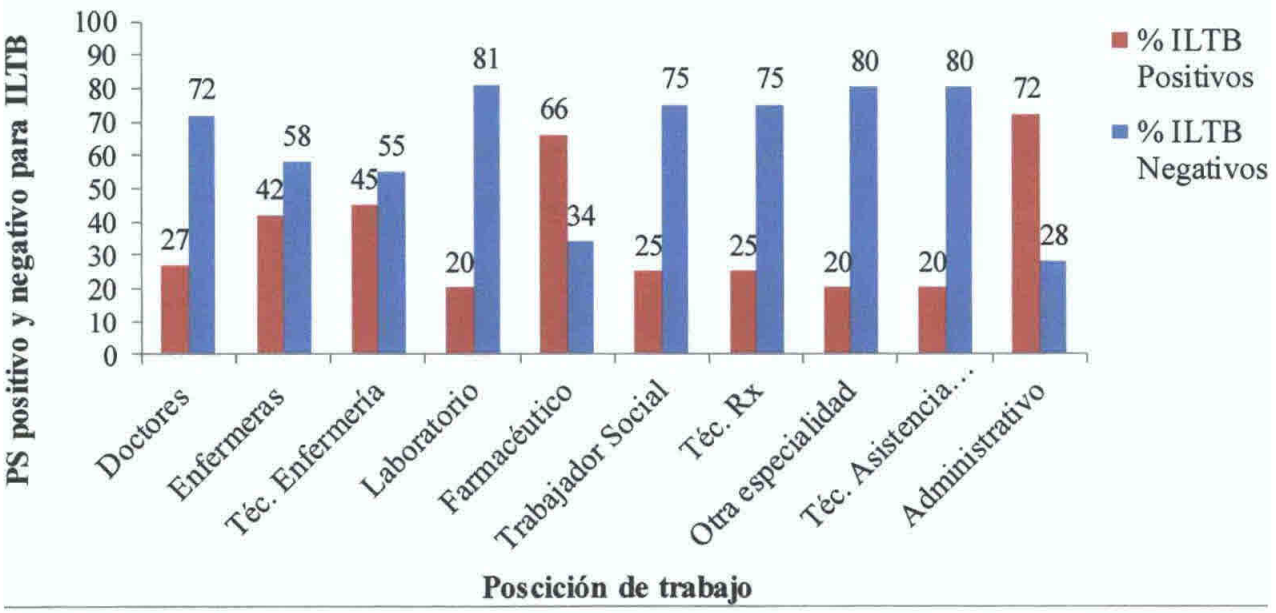


PPD.

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

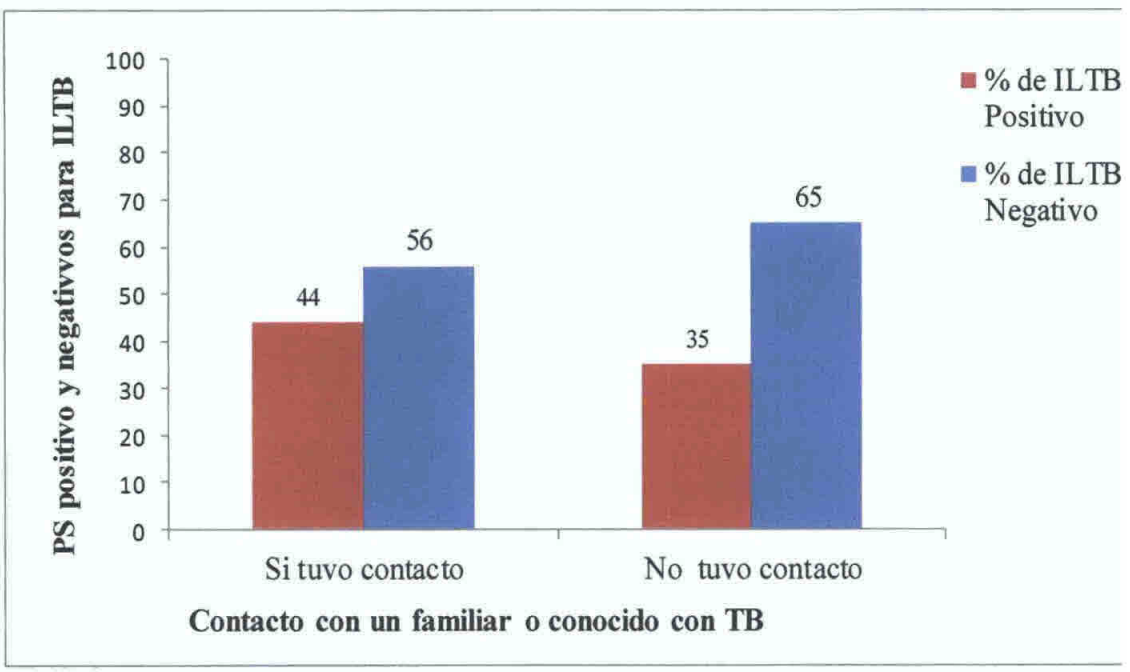
Grafica Nº11 Porcentaje de PS positivos y negativos para ILTB vs posición de trabajo.



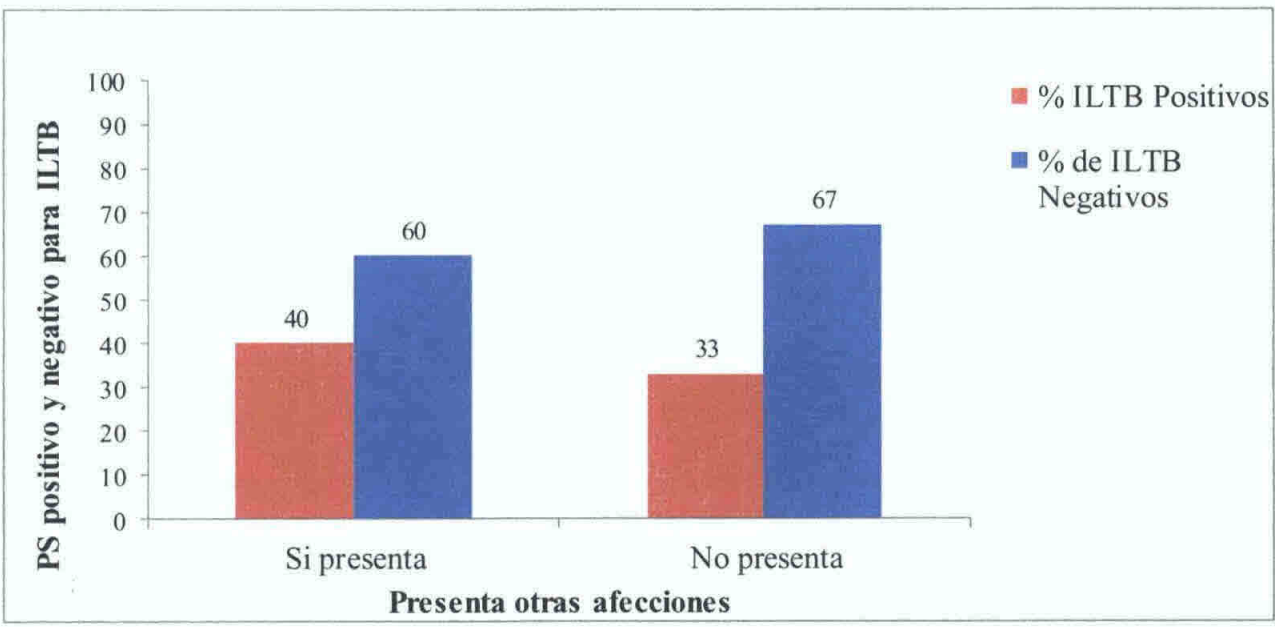
De PS de estudio un 44 % reportó haber estado en contacto con un familiar o conocido con TB, fuera del área hospitalaria y resultaron positivos para ILTB. Un 35 % reportó no haber estado en contacto con personas y conocidos con TB y resultaron positivos para ILTB.

Un 40% de positivos para ILTB reporto otras afecciones y un 33% de positivos para ILTB que no presentaban ninguna afección. Ver tabla №14, Ver gráficaNº 12, 13.

Gráfica №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.

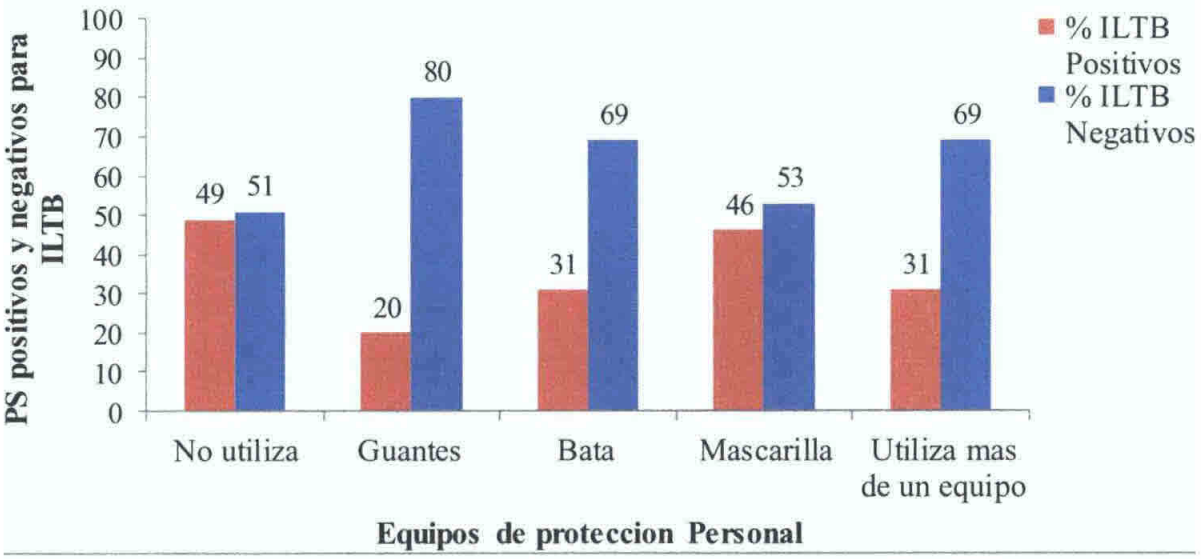


Un 49 % reportó no utilizar equipos de protección personal y resultaron positivos para ILTB, además resultaron positivos para ILTB un 20 % que respondió solo utilizar guantes,31% respondió 46% respondió solo utilizar mascarilla y un 31% reporto que usaba más de un equipo de protección.

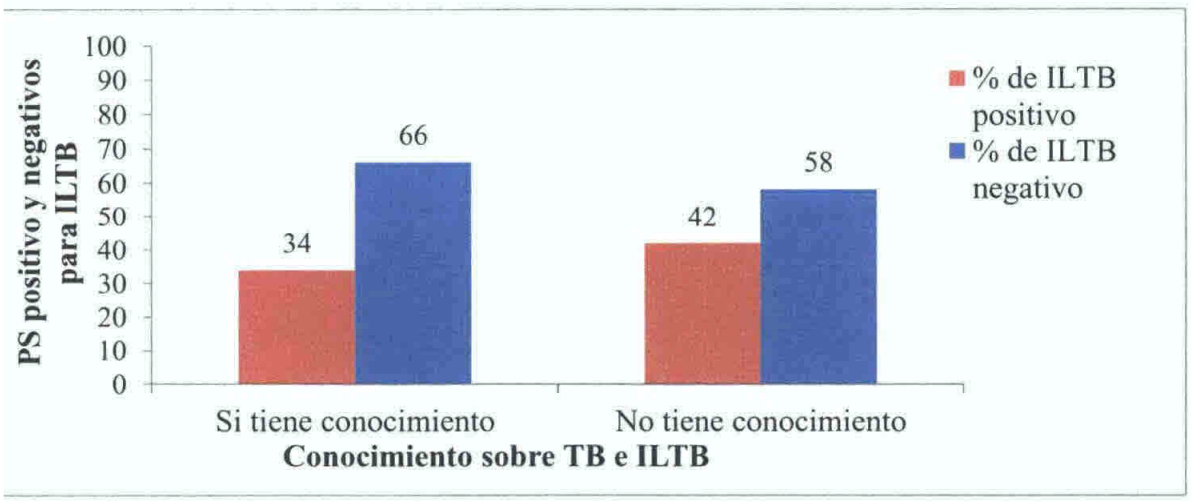
El 34% que reporto conocimiento sobre TB e ILTB resulto positivo. Y un 42 % que reporto no conocer sobre TB e ILTB resultaron positivos para ILTB.

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 reporto no conocer sobre los riesgos Ver tabla Nº 15, Ver gráfica Nº14 y 15.

Grafica №14 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 medicos resultaron positivos para ILTB, un 38% que no se realiza exámenes médicos resultaron positivos para ILTB Ver tabla Nº16

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 Nº16

Capítulo IV

Discusión de Resultados

La exposicion del *Mycobacterium tuberculosis* a los trabajadores de la salud (PS) es un problema mundial Se ha estimado en paises de bajos y medianos ingresos que la prevalencia de infeccion tuberculosa latente en el PS puede llegar a ser un problema en las diferentes areas de los hospitales(Joshi, Reingold, Menzies, & Pai, 2006) Existen diferentes paises en donde el problema de TB está relacionado a las diferentes areas hospitalarias, a sus infraestructuras y los metodos de ventilacion que poseen Investigaciones como las de Peru en donde tratan de determinar la mejor forma de ventilacion para las áreas hospitalarias especialmente donde se atienden pacientes con TB en diferentes hospitales del pais Estos estudios concluyen que la maximizacion de ventilacion natural a traves de puertas y ventanas disminuye el riesgo de contagio, ya que cuesta poco y es de libre mantenimiento espacialmente en areas tropicales En comparacion con ventilaciones mecanicas de hospitales modernos de techos bajos y pocas ventanas, sus sistemas mecanicos son mas costosos y de mayor riesgo de contagio Este estudio al igual que el nuestro hace enfasis en areas como departamentos de emergencia y salas de espera compartidas donde deberia estar la mayor cantidad de sistemas de ventilacion e iluminacion natural, por el alto de numero de personas que aun no tienen un diagnostico (Escombe et al , 2007) Existen otras investigaciones que determinan que la ingenieria del diseño de un hospital nuevo es mucho mas rentable en cuanto a salud si se pensara en modelos de hospitales antiguos donde habia 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 iluminacion natural, aumentando el riesgo de trasmisión de enfermedades respiratorias incluyendo la TB Como lo expresa Peter Wilson en su estudio sobre la ventilacion natural como herramienta util para prevenir la propagación aerea de la TB, en donde el aire de la salas se debe cambiar 10-12 veces cada hora para asegurar suficiente dilucion 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 areas 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 areas con costosos

sistemas mecanicos de ventilacion Por razones obvias, el bajo costo de la ventilacion natural parece ser la mejor opción de ventilacion de presion negativa en los paises tropicales Esta realidad se asemeja mucho a las areas y sistemas de salud de nuestro estudio, ya que la mayor concentracion 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 comparacion de resultados de pruebas moleculares en personal de salud y pacientes, con el estado de las areas de los centros hospitalarios Debido a que en sus investigaciones han detectado que los factores ambientales aumentan el riesgo para la probabilidad de la transmision de *Mycobacterium tuberculosis* en los hospitales Ya que la mayoria de los nuevos centros hospitalarios cuentan con espacios cerrados con poca ventilacion, lo que se traduce como una falta de extraccion de nucleos de gotitas infecciosas, especialmente en las areas de broncoscopia y areas de induccion de esputo Unido a esto, la insuficiente limpieza de los sistemas de recirculacion de aire Existen diferentes niveles de control ambiental para minimizar el riesgo de contagio en las areas hospitalarias El control ambiental primario segun la publicacion de la CDC, controla las fuentes de infección usando la ventilacion de escape local En nuestra investigación logramos determinar segun los resultados del monitoreo ambiental que las salas de neumologia poseian mayor cantidad de ventanas abierta que las areas de urgencias y de asistencia general En estas salas con ventilacion natural no logramos en el muestreo ambiental recuperar posibles bacilos de *Mycobacterium tuberculosis,* no obstante si en las áreas de pasillos de urgencia general y ortopedia En el edificio de MINSA antiguo Hospital Amador Guerreo, cuenta con un gran numero de ventanales en las areas de atencion y en estas areas tampoco recuperamos colonias de posibles bacilos de *Mycobacterium tuberculosis* Lo que determina que esta linea de defensa ambiental es una herramienta eficaz para reducir el riesgo de infeccion en los centros hospitalarios y el número de personal de salud expuesto

Otros niveles de proteccion serian filtros HEPA en areas especializadas y la utilización controlada de luz ultravioleta UVGI Un nivel más exhaustivo de proteccion seria 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 Jiamjarasrangsi, muy similar a la nuestra, en donde se logró demostrar el riesgo de contagio ambiental de TB en areas 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 areas de urgencia que presentaban tuberculosis, sin antecedentes de familiares o conocidos fuera del area laboral que padecieran de la misma Entre este personal estaban enfermeras y auxiliares de enfermeria, dato que es muy similar a nuestros resultados En esta investigación determinaron que lo recambios de aire por hora estaban por debajo de lo establecido por la OMS Donde concluyen que las areas de urgencias y traumas son las de mayor riesgo de mantener bacilos de TB activos en las particulas que flotan sino no hay un recambio y sistema de ventilación adecuado (Jiamjarasrangsi, Urith, & Srisintorn, 2006)

Grandes paises con un alto indice de TB como India, es marcado el problema de riesgo de transmisión nosocomial en el PS En su investigacion determinan que el nivel de contagio esta relacionado con la ocupación del PS, el seguimiento de las medidas de control ambiental Aunque reconocen que los centros con mayor numero de casos no detectados a tiempo ni con el adecuado tratamiento aumentan el riesgo de transmisión nosocomial Unido al alto costo de implementacion de medidas de contencion, pocas instalaciones en paises de bajos ingresos pueden permitirse el lujo de llevarlos a la practica Es por ello que paises como la India tratan de seguir intervenciones propuestas como en control ambiental que es un 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 rapido tratamiento de la TB Con el objetivo principal de hacer énfasis en la transmision nosocomial que es ignorada, dadas las limitaciones de recursos, pero varios factores demuestran que TB nosocomial debe ser abordados, incluso en esas zonas Teniendo como preocupacion no solo a pacientes que han sido expuestos sino tambien la salud laboral, que podrian afectar de forma adversa a servicios de salud a traves del tiempo (Joshi et al , 2006) Otro estudio realizado por la escuela de Salud Publica de la Universidad de Berkeley California y la de Montreal Canadá, hacen énfasis en la relacion que existe en la trasmisión nosocomial y la incidencia de PS con infeccion 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 caracteristicas es que se realizaron muestreos ambientales en 11 áreas del hospital como

objetivo para detectar *Mycobacterium tuberculosis* en el aire apoyado con identificacion por PCR en tiempo real y tinciones Uno de principales resultados es que en areas de paciente inmunocomprometidos se detecto una compleja relacion entre la infectividad de un individuo y concentración aérea de *Mycobacterium tuberculosis* Otro factor detectado que ayuda a la transmisión aerea de *Mycobacterium tuberculosis son* las tasas de ventilacion, la humedad la temperatura, el mal uso de las mascarillas falta de aplicacion de desinfeccion aerea (Filtro HEPA, UVGI luces) y la duracion de la exposicion Otro hallazgo de gran importancia en este estudio fue el caso de la oficina de Tecnologia e Informatica que se encontraban en planta de arriba a una distancia considerable de las atenciones medicas, 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 policlinico se dirigio al espacio exterior en función de las corrientes de aire Y hacen enfasis con este resultado que las areas que no son de atencion medica tambien constituyen un riesgo potencial para la trasmision de *Mycobacterium tuberculosis* al personal administrativo, Tambien se demuestra en nuestro resultados con la población administrativa del hospital Esto se debe a la falta de mantenimiento o rediseño de sistema de ventilación, el cual se percató que ninguno funcionaba correctamente en el momento de muestreo y el mantenimiento no estaba disponible en los ultimos ocho años Estos muestreos ambientales son mas eficientes cuando también se logran utilizar metodos como biomarcadores que detecten la infeccion latente o el bacilo en el PS que trabaja en esas areas En sus conclusiones al igual que en las de nuestro estudio, determinan que es util el muestreo ambiental unido a biomarcadores, Que demuestran la exposicion del PS a *Mycobacterium tuberculosis* en los centro de atencion hospitalaria Que es importante identificar las áreas de riesgo que no han sido reconocidas con anterioridad como areas de riesgo para el PS y los trabajadores no clinico de los hospitales (Gerald H Mazurek et al , 2010) (Matuka et al , 2015) La comparación entre metodos tambien son herramientas esenciales para determinar la relacion que hay entre los muestreos ambientales e identificacion de *Mycobacterium tuberculosis* en ambientes hospitalarios Como el estudio realizado por Pei-Shih Chen en donde recolectaron 22 muestra de aire en areas hospitaleras de pacientes con tuberculosis y las compararon con muestras de ADN de esputo logrando determinar una marcada relacion 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 estan 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 paises alrededor del mundo se preocupen y desarrollen un sin numero 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 centro hospitalarios Por ello quisimos hacer una comparación de todas estas investigaciones con nuestros resultados Entre estas investigaciones estan 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 infeccion 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 podria estar asociada con la exposicion 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 tambien tenian como objetivo determinar infeccion latente de tuberculosis en personal clinico y no clinico y asi determinar el nivel de riesgo utilizando QFT A los 155 participantes se les realizo un cuestionario para obtener informacion sobre posibles factores de riesgo para infeccion latente entre estos detalles demograficos, socioeconomicos, aplicación de BCG, y su grado de exposición como area de trabajo El 21% presento infeccion latente, estando el riesgo mas elevado asociado a lugares de trabajo Teniendo los laboratoristas un 50%, medicos 34% y enfermeras 30% y administrativos un 15%, coincidiendo tambien este estudio con nuestros resultados en base al laboratorio Ellos concluyen que el PS esta en un mayor riesgo de exposicion, solicitando herramientas de prevención y de diagnostico 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 exposicion a tuberculosis en los centros hospitalario Con un total de 2,362 trabajadores que participaron del estudio que conocian que estaban en riesgo de infeccion latente, de estos un 5 8% dio positivo para infeccion latente Un grupo de 886 trabajadores que desconocian estar

expuestos presentaron un 2 0% de positivos para infeccion latente Los trabajadores con mayor riesgo de exposicion a exposicion *Mycobacterium tuberculosis*, se encontraron en elevado riesgo las enfermeras, tecnicos de laboratorio, farmaceuticos, oficinistas, y la sala de emergencia En esta investigacion 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 infeccion latente en el personal de salud tambien esta relacionado a grupos especificos de trabajo, como lo presenta un analisis del Hospital universitario de South Korea En donde se realizo un estudio de seis años comparando la prevalencia de tuberculosis con un total de 8433 participantes La prevalencia de infeccion 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 aumento a 3 4 % mas 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 mas enfatizado en los departamentos relacionados con la TB, acertando en que si existe un alto riesgo de infección latente en las areas 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 lograr determinar que todos los trabajadores de los centros hospitalarios estan en riesgo Trabajaron con un total de 450 PS utilizando encuestas para analizar los posibles factores de riesgo como edad, areas de trabajo, perfiles de exposición a pacientes, caracteristicas ambientales y su relacion con el bacilo de Calmette-Guerin 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 area de limpieza de edad avanzada y en un entorno de trabajo con un 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 infeccion de TB en el PS ha cambiado profundamente en los ultimos años Estudios moleculares epidemiologicos y estudios de IGRA, y la revision exhaustiva del personal en riesgo los ha llevado a la conclusion de que la infeccion 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 infeccion latente que correspondia a 11% de prevalencia Lo que los llevo a la conclusion 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 desconocia la prevalencia de infeccion 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 infeccion latente Un total de 22 PS resultaron positivos para QFT que correspondia a un 26 3% El 50% de este grupo pertenecian al programa nacional de tuberculosis 38% correspondia al personal que trabaja en áreas relacionadas a esputo inducido y procesos de TB, 15 7 % al PS que no tenia factores de riesgo Uno de los datos de este estudio que es la relacion con la edad es muy similar al de nuestro estudio ya que la infección latente aumento en relacion directa con la edad del sujeto Concluyen que el monitoreo de infeccion latente en el PS explora las limitaciones y posibles escenarios para la deteccion de una progresion a enfermedad de tuberculosis(Hernandez et al , 2014, Saleiro et al , n d) Uno de los objetivos en los que coinciden la mayoria 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 deteccion temprana de progresión de TB Como el estudio de Rusia, en donde además de PS de planta tambien incluyen estudiantes de medicina Un total de 630 PS entre estudiantes y funcionarios participaron del estudio De estos 32 estudiantes resultaron positivos para infeccion latente, Del grupo de atención primaria 14 medicos y 20 enfermeras, 2 asistentes, 2 administrativos resultaron positivos Del grupo de atencion a TB 22 doctores, 23 enfermeras ,11 asistentes resultaron positivos Del resto del PS tambien incluyendo doctores y enfermeras 90 dieron positivos para infeccion latente En donde concluyen que el mayor indice positivo está en medicos y enfermeras pero que también los estudiantes están en riesgo, y que QFT tiene un papel util en el proceso de selección PS con alto riesgo de infeccion latente y desarrollar tuberculosis activa (Drobniewski, Balabanova, Zakamova, Nikolayevskyy, & Fedorin, 2007, Vinton et al , 2009)

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

utilizacion de encuestas para obtener datos demograficos importantes del PS Un total de 493 PS participaron del estudio, de 152 medicos participantes 63 (41,4 %) y 36 (23,7 %) fueron positivas por TST y QTF-GIT, respectivamente, y de las 341 enfermeras, 119 (34,9 %) y 49 (14,4 %) fueron positivos y TST QFT-GIT resultados, respectivamente Segun el analisis de esta investigación hay una asociacion basado 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 investigacion concluye que existe una alta prevalencia de tuberculosis latente en el PS de Corea del Sur, Teniendo en cuenta la relacion entre la experiencia de trabajo y las areas relacionadas con alto riesgo de infeccion 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 util en la identificación del PS en riesgo que no se ve influenciado por la BCG Asi lo expresa el grupo de Babayigit C en donde evaluaron 100 PS del Hospital de Turquia, este grupo de estudio estaba compuesto de medicos enfermeras, laboratorista, paramedicos, anestesiologia, radiologia y urgencias De este grupo 19 dieron positivos para QFT un 20% eran doctores, 21 2% enfermeras, 5 9% laboratoristas, 33 3% paramedicos Identificaron que un 29% que dio positivo para QFT reporto 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 opcion para la detección de infeccion latente e identificacion de fuentes ambientales nosocomiales de trasmisión (Babayigit et al , 2014)

Actualmente la PPD sigue siendo la prueba de eleccion para el diagnóstico de la infeccion tuberculosa, a pesar de presentar numerosas limitaciones y actualmente en Panama su uso esta 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) Los nuevas pruebas conocidos de forma generica como interferón-γ release assays (IGRAs) En principio de estas pruebas superarian las limitaciones de la PPD ya que emplean otros antigenos que no estan 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 exposicion 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, vario 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 hospitalizacion de TB, laboratorio, medicina interna, e instalaciones de emergencia En el area de categorias profesionales los tecnicos de radiologia, enfermeras, asistentes de sala, paramedicos y auxiliares clínicos (Joshi et al , 2006) En comparación con nuestro estudio coincidimos en estas las instalaciones de salud con PS positivos para infeccion latente Rusia es uno de los 22 paises de alta carga de TB En un estudio realizado por Francis Drobniewskiy sus colaborares buscaban exponer la identificacion de los individuos, en particular los PS con infeccion tuberculosa latente y asi poder determinar la tasa de infeccion, para ayudar a controlar la tuberculosis a traves de la quimioprofilaxis y mejorar las estrategias de infeccion 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 poblacion positiva para QFT eran estudiantes de medicina, un 25 5% de la poblacion en grupo de atencion primaria y un 55% correspondia a doctores y enfermeras que trabajaban directamente con pacientes con TB Este estudio concluye que los ensayos de QFT tienen un papel util en la detección de los trabajadores sanitarios con un alto riesgo de infeccion latente y que son vacunados con BCG(Drobniewski et al , 2007)

Otros estudios mas 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 poblacion positiva para QFT a diferencia de un 45% de poblacion positiva utilizando PPD En este estudio concluyeron la importancia de demostrar que la infeccion tuberculosa, utilizando un IGRA esta fuertemente asociada con la exposicion 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 paises de

bajos y medianos ingresos es importante evaluar las tasas y los factores de riesgo de la prevalencia y la infeccion latente en el personal de salud En este estudio se evaluaron PS que trabajaban en centros de TB y centros de atencion 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 aplicacion 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 resulto con un 47 3 % de positivo para infección latente mediante la pruebas de IGRA En este estudio resalta que la prevalencia de la infeccion tuberculosa estimado por IGRA, es mucho mas que alta entre los trabajadores sanitarios en el y su relacion con el medio ambiente en el hospital En las comunidades con historia heterogenea de la vacuna BCG, IGRA parece estimar la infección de TB con mayor precision que cualquier otro criterio Otro de los puntos importantes de esta investigacion fue que la edad afecta fuertemente la prevalencia de la infeccion 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 de sensibilidad 100%, una especificidad de 100% de valor predictivo positivo del 100% Este estudio tambien 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 exposicion 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 demograficos y epidemiologicos de esta muestra De los 200 PS el 75 % de la poblacion era femenino, contra 25% de la población que era masculino De esta poblacion un 35% resulto positivo para infección latente de TB contra 65% que resulto negativo El

rango de edad con mayor poblacion 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 poblacion tenian educación secundaria y 55% resulto positivo a ILTB, siendo que el de personal de este grupo pertenecia a a la pate administrativa y tecnicos generales En comparación con los estudios mencionados anteriormente nuestra poblacion con mayor incidencia de positivos se presenta en personal de salud de atención no clinica con 72 % contra un 29 5% de personal de asistencia clinica Expresando asi que el personal en general del hospitalario en general se encuentra en riesgo Un 73% de la poblacion respondio haberse puesto la vacuna de BCG y de estos de estos un 32% resultó positivo para de ILTB El 18% de la poblacion 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 habia 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 indice 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 asociacion significativa entre el PS ILTB positivo y que hayan tenido contacto fuera del hospital con algun familiar o conocido con TB También obtuvimos el indice de kappa de 0 038 que corrobora que hay una pobre relacion entre las variables

En nuestro estudio dividimos la muestra en personal clinico y no clinico, en donde el personal clinico con ILTB negativo alcanzó un 70 4% y el personal clinico con ILTB positivo alcanzo un 29 5% El personal no clinico negativo para ILTB alcanzo un 27 5% y el personal no clinico 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 exposicion de TB El valor

del indice de Kappa es de -0 172 que determina que hay una pobre relacion de exposicion en ambos grupos

Una de los elementos importantes y claves de nuestro estudio resulto el muestreo ambiental en donde logramos recuperar en la sala de espera de urgencias de ortopedia y ginecologia, y en el área de recepcion y atencion de urgencia general, una colonia respectivamente que identificamos como miembro del genero *Mycobacterium* por la tincion de Ziehl Neelsen De acuerdo a la clasificacion de las áreas de riesgo de exposicion a TB, estas entran dentro de las areas 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 areas 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 asociacion significativa entre areas y el indice de Kappa 0 003 nos dice que hay una fuerte relacion entre áreas es decir que la mayoria del personal de salud dentro del nosocomio tiene la probabilidad de adquirir la infeccion latente de TB lo que se corrobora con la mayoria de los resultados obtenidos en nuestro estudio y en la los estudios citados en nuestra investigacion

Para mejorar el proceso de muestreo ambiental se puede utilizar metodos de muestreo activo SAS ya que son mas 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 trasmitido a nivel ambiental, cuyas caracteristicas 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 riego 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 estadisticas 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 investigacion ponen de relieve la importancia de una mayor aplicacion de las medidas de control de infecciones no solo a nivel ambiental sino tambien la busqueda de nuevas herramienta que mejoren la detección eficiente de la infeccion latente de TB Herramientas como QuantiFeron TB- Gold puedan apoyar el diagnostico y los muestreos ambientales para dejar en evidencia el riesgo ambiental al que esta expuesto el personal de salud

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

Que son necesarias politicas de salud de prevencion y deteccion temprana y profilaxis Colocando esta prueba de QFT como una herramienta esencial para deteccion de infeccion 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 Panama

Se recomienda realizar monitoreos ambientales activos utilizando la metodologia SAS para obtener mejores resultados en la captacion de mycobacterias en el ambiente hospitalario

BIBLIOGRAFÍA

Abdallah, A M , Gey van Pittius, N C , Champion, P A D , Cox, J , Luirink, J , Vandenbroucke-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-Labarrios, L A , Rocha-Revilla, J C , Padilla-Garcia, V , & Espinosa-Hernandez, T C (2009) *DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE METODOS MOLECULARES* Retrieved from http //www posgradoeinvestigacion uadec mx/AQM/No 1/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=zu2rBAAAQBAJ&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

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

Babayigit, C , Ozer, B , Ozer, C , Inandi, 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 , & Nikaido, 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

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

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, i 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

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_cnc er_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

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=Mm9TUAt_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

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

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

Jiamjarasrangsi, W , Urith, 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

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

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 , Danilovitsh, 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

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

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

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 , D C , 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

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

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/

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

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+noel+r+krieg

Pimienta-Rodriguez, E T , Rodriguez-Valdes, C , Sarzo-Gomez, M , & Vallin-Plou, C (2012) Producción de los antigenos ESAT-6 y CFP-10 de Mycobacterium tuberculosis y evaluación de sus potencialidades en el serodiagnostico de la tuberculosis activa en una población cubana *Revista CENIC Ciencias Biologicas*, *43*(2), 1–8 Retrieved from 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

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 0 1 7 67

Restrepo, B I (2004) Nuevas herramientas para la deteccion 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 , Karakıs, 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

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 , Mihrshahi, 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

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	*Aspergillus spp* *Mucorales (Rhizopus spp)*	***Mycobacterium tuberculosis***	*Measles (rubeola) virus* *Varicella-zoster virus*
Microorganismos Poca Frecuencia	*Acremonium spp* *Fusarium spp* *Pseudoallescheria boydii* *Scedosporium spp* *Sporothrix cyanescens*	*Acinetobacter spp* *Bacillus spp* *Brucella spp* *Staphylococcus aureus* *Group A Streptococcus*	*Smallpox virus (variola)* *Influenza viruses* *Respiratory syncytial virus* *Adenoviruses* *Norwalk-like virus*
Microorganismos transportados por la naturaleza	*Coccidioides immitis* *Cryptococcus spp* *Histoplasma capsulatum*	*Coxiella burnetii*	*Hantaviruses* *Lassa virus* *Marburg virus* *Ebola virus* *Crimean-Congo virus*
Organismos en investigación	*Pneumocystis carinii*	-	-

(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
Desecación	si	si	si	si	no
Mediciones cuantitativas	no	si	si	si	si
Contaminación	incierta	si	si	incierta	no
Separación por tamaño de particula	No es selectivo	no	no	Depende del equipo	No es necesario es selectivo para TB
Reproducibilidad	No es especifico	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 inespecifico	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

Una persona con la infección latente de tuberculosis	Una persona con la enfermedad de tuberculosis
No tiene ningun sintoma, no se siente mal	Presenta sintomas que pueden incluir tos, dolor en el pecho, tos con sangre o esputo, debilidad o fatiga perdida de peso, falta de apetito escalofrios, fiebre, sudores nocturnos
La prueba cutanea o de sangre a veces no indica que tiene una infeccion por tuberculosis	La prueba cutanea o de la prueba de sangre indica que tiene una infeccion por tuberculosis
Radiografía de torax normal y un resultado negativo al frotis de esputo	Radiografía de torax anormal o resultado positivo al frotis o el cultivo de esputo
Necesita tratarse la infeccion de tuberculosis latente para evitar que se convierta en enfermedad de tuberculosis	Necesita tratarse la enfermedad

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

Mycobactenum tuberculosis complex	Antigenos		Mycobactenas ambientales	Antigenos	
	ESAT-6	CFP-10		ESAT-6	CFP-10
M tuberculosis	+	+	*M abscesus*	–	–
M africanum	+	+	*M avium*	–	–
M bovis	+	+	*M banderi*	–	–
Cepas contenidas en vacuna					
Gothenburg	–	–	*M chelonae*	–	–
Moreau	–	–	*M fortuitum*	–	–
Tice	–	–	*M gordonae*	–	–
Tokyo	–	–	*M intracellulare*	–	–
Danish	–	–	*M kansasii*	+	+
Glaxo	–	–	*M malmoense*	–	–
Montreal	–	–	*M scrofulaceum*	–	–
Pasteur	–	–	*M smegmatis*	–	–
			M szulgai	+	+
			M terrae	–	–
			M xenopi	–	–

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 (Ul/ml)	Antígenos TB menos Nulo(Ul/ml)	Mitógeno menos Nulo(Ul/ml)	Resultados de QFT	Resultados Interpretación
≤8.0	<0.35	≤0.5	Negativo	Infección por *M. tuberculosis* Improbable
	≥0.35 y <25% del valor del nulo	≥0.5	Negativo	Infección por *M. tuberculosis* Improbable
	<0.35 y <25% del valor del nulo	Cualquiera	Positivo	Infección por *M. tuberculosis* 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 №14 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%)

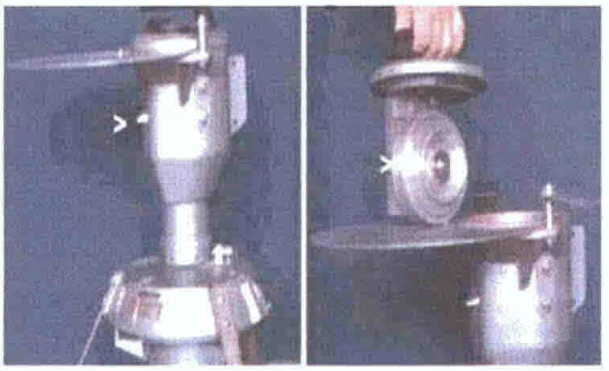
Tabla #15 Porcentaje demográfico del uso de equipos de Protección Personal y el conocimiento sobre TB y ILTB y Riesgos del PS

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%)

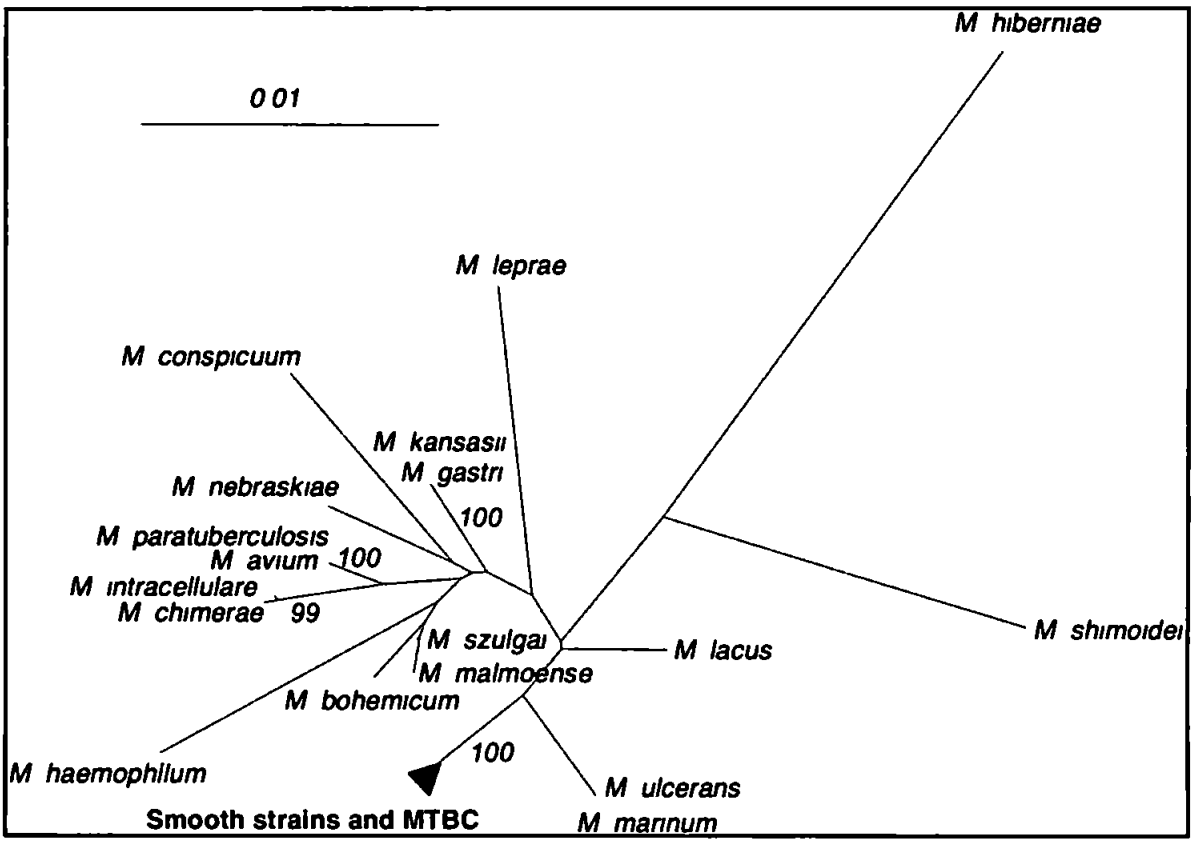
Tabla #17 Equipos de muestro ambiental activo SAS.

Equipo	Especificaciones
Sistema S.A.S	.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.
Captador Burkard 	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
Captador MCV	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

Equipo	Especificaciones
	bajo volumen.
air IDEAL de Biomérieux 	El biocolector 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.

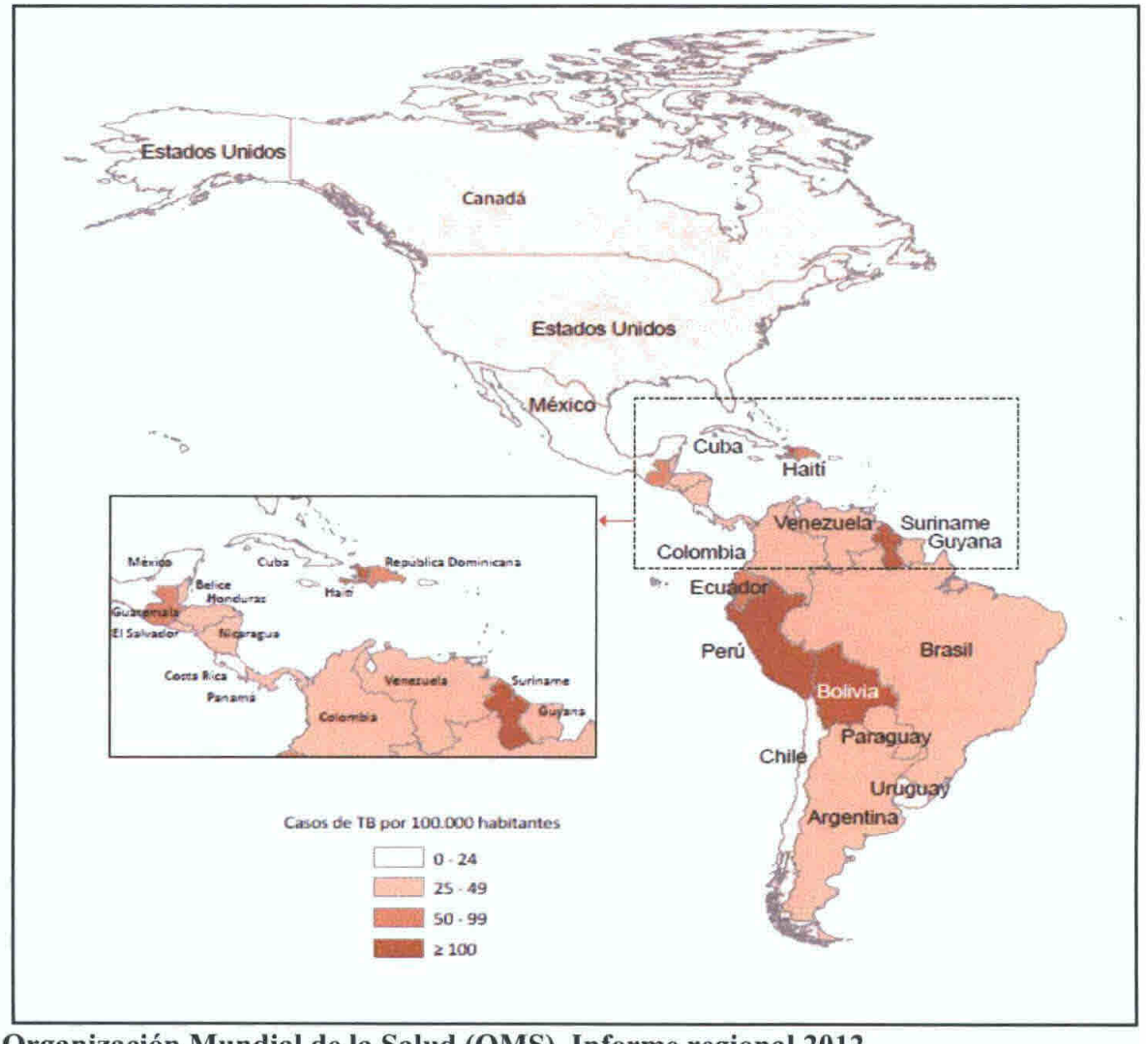
Figuras

Figura #1 Árbol Filogenético de Mycobacterium



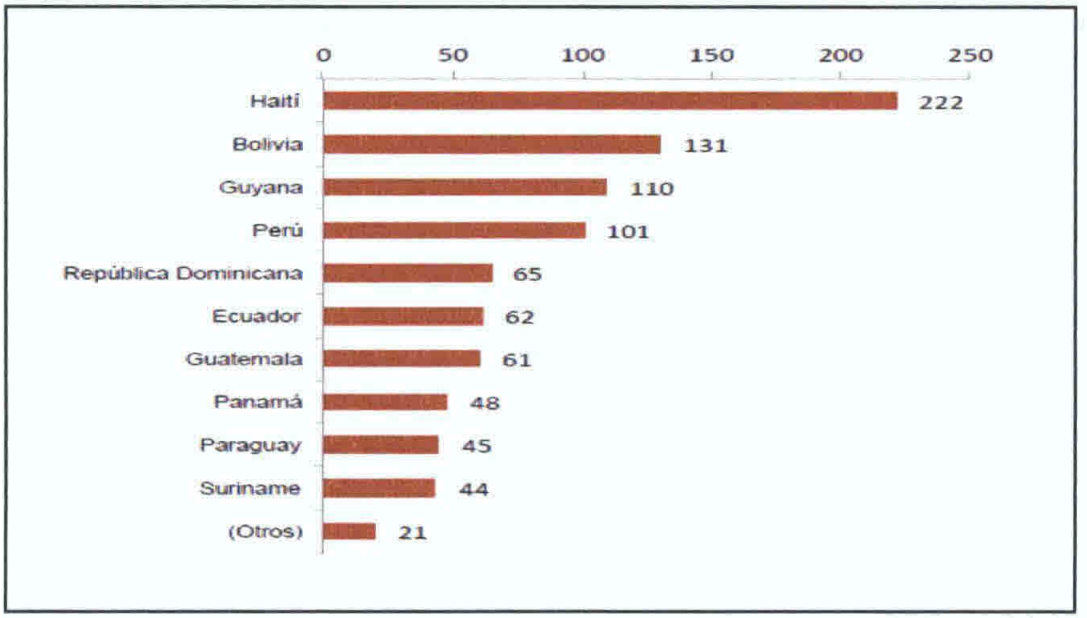
Patrick R Murray, Ken S Rosenthal, Michael A Pfaller ,2009

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



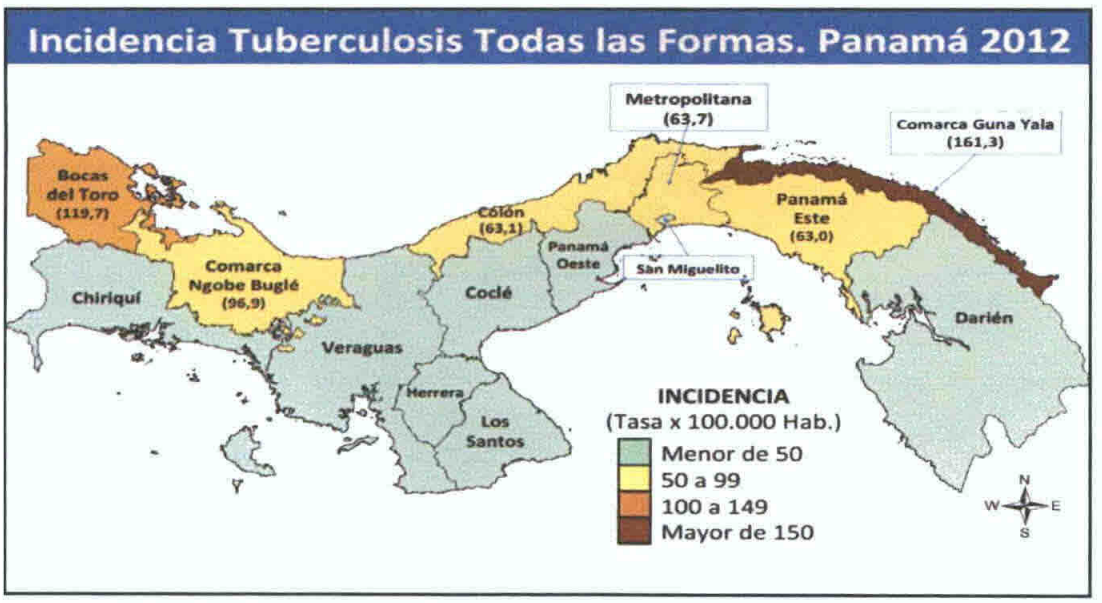
Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe regional 2012.

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.

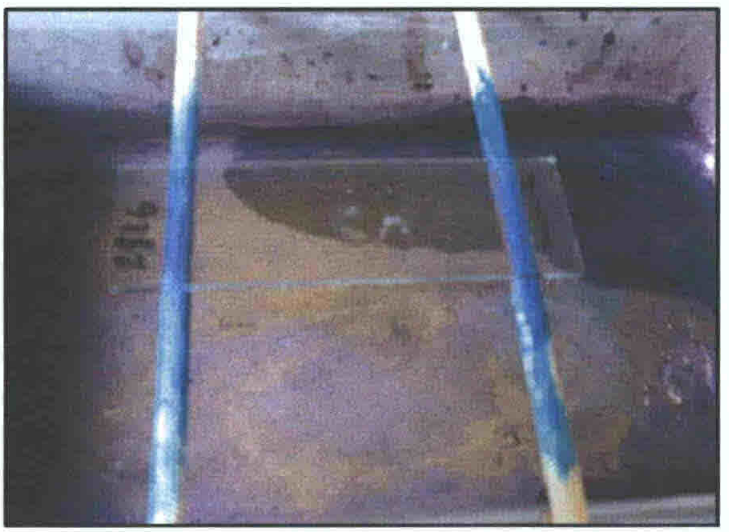


Figura #6 Placa con el Carbol fascina.

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.

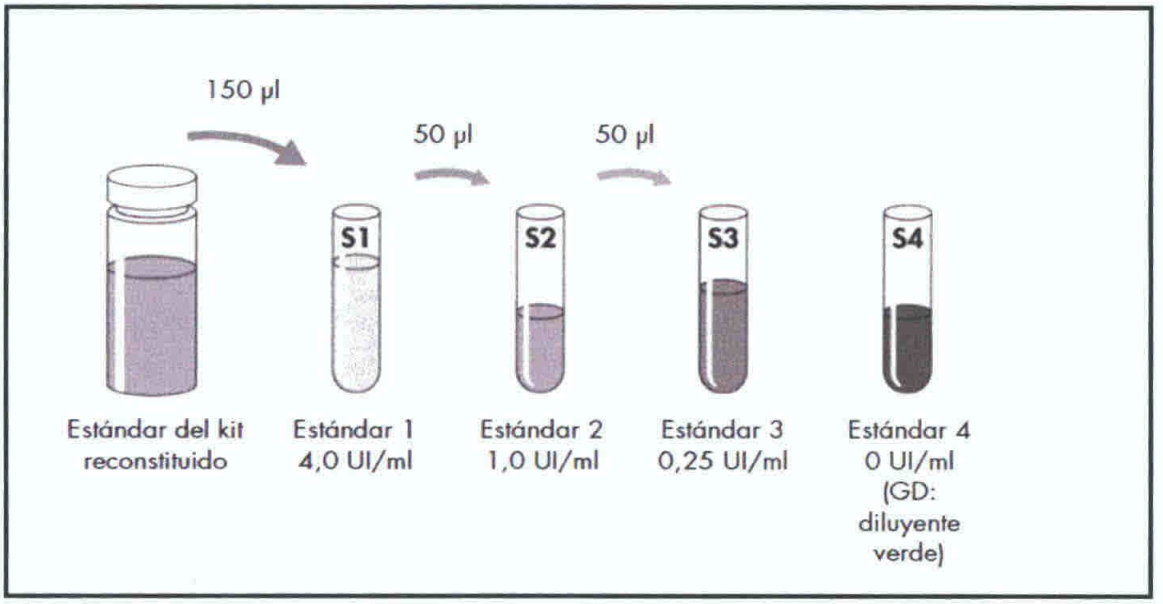


Figura #10 Identificación de bacilos de M. tuberculosis por tinción de Ziehl Neelsen en el muestreo ambiental del Hospital Amador Guerrero de Colón

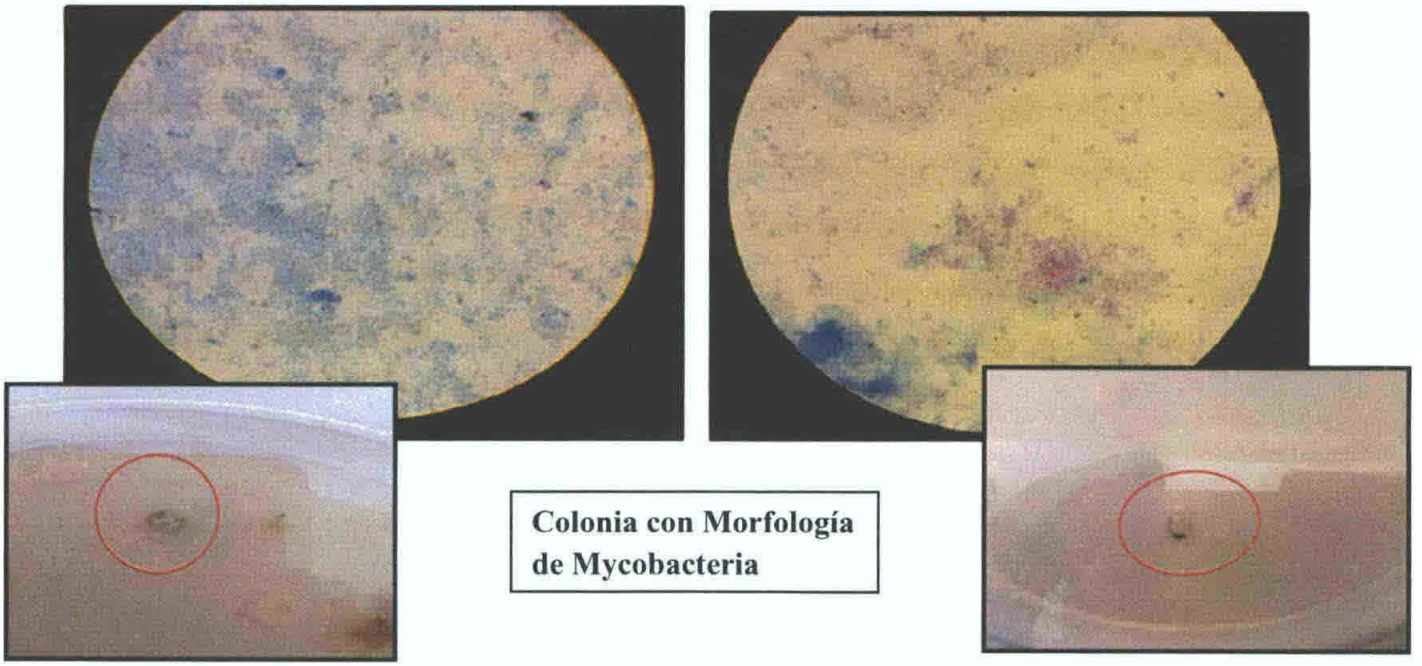
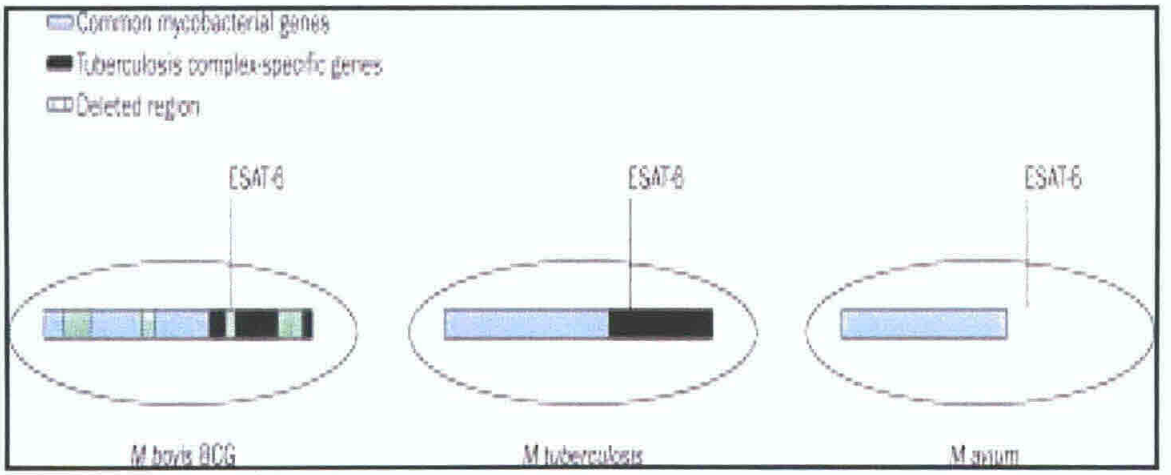


Figura #11 Orden de las muestras en el plato de ELISA

	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 edifico del Hospital Amador Guerrero

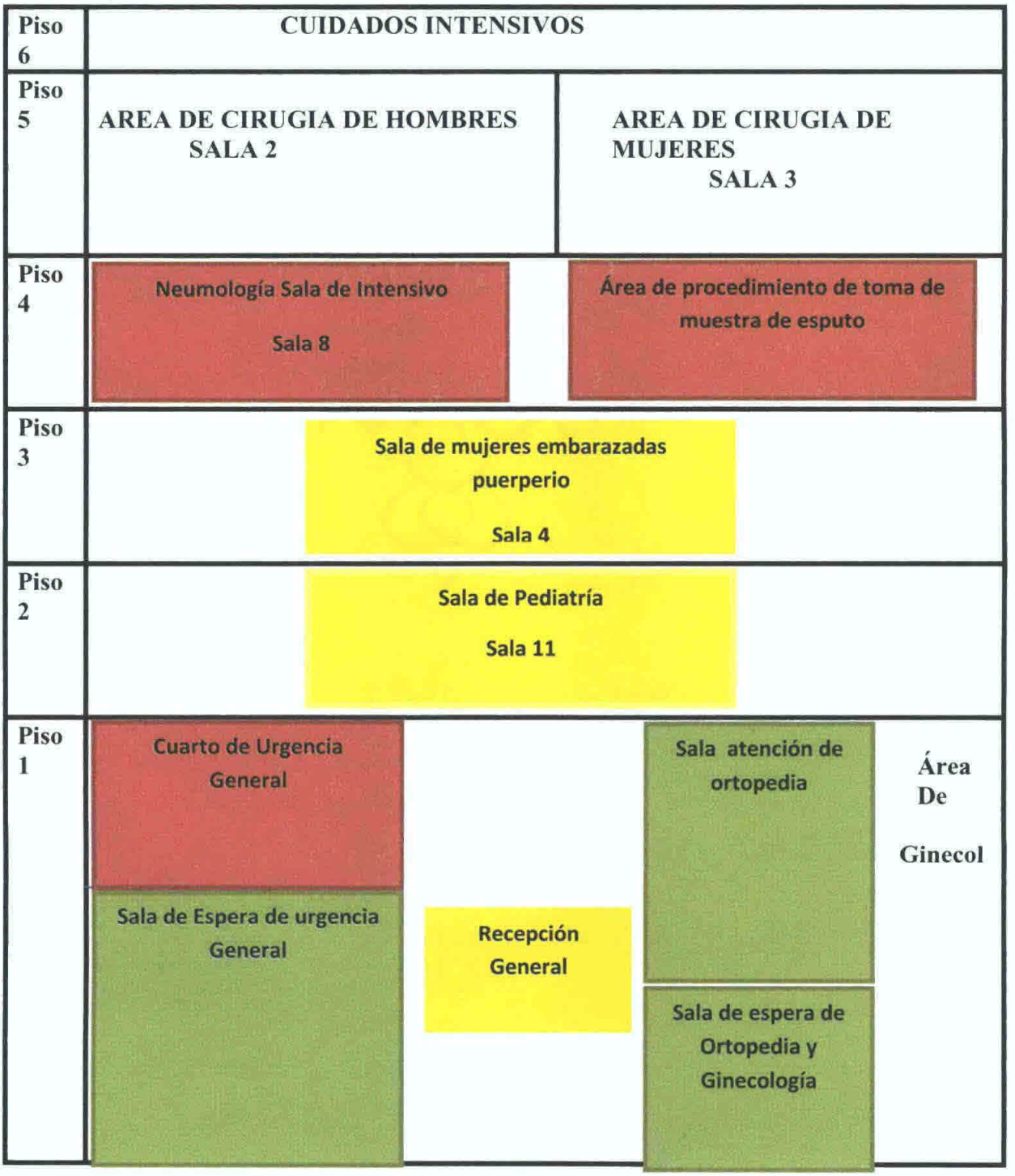


Figura #14 Ubicación de las áreas de Muestreo del edifico del MINSA

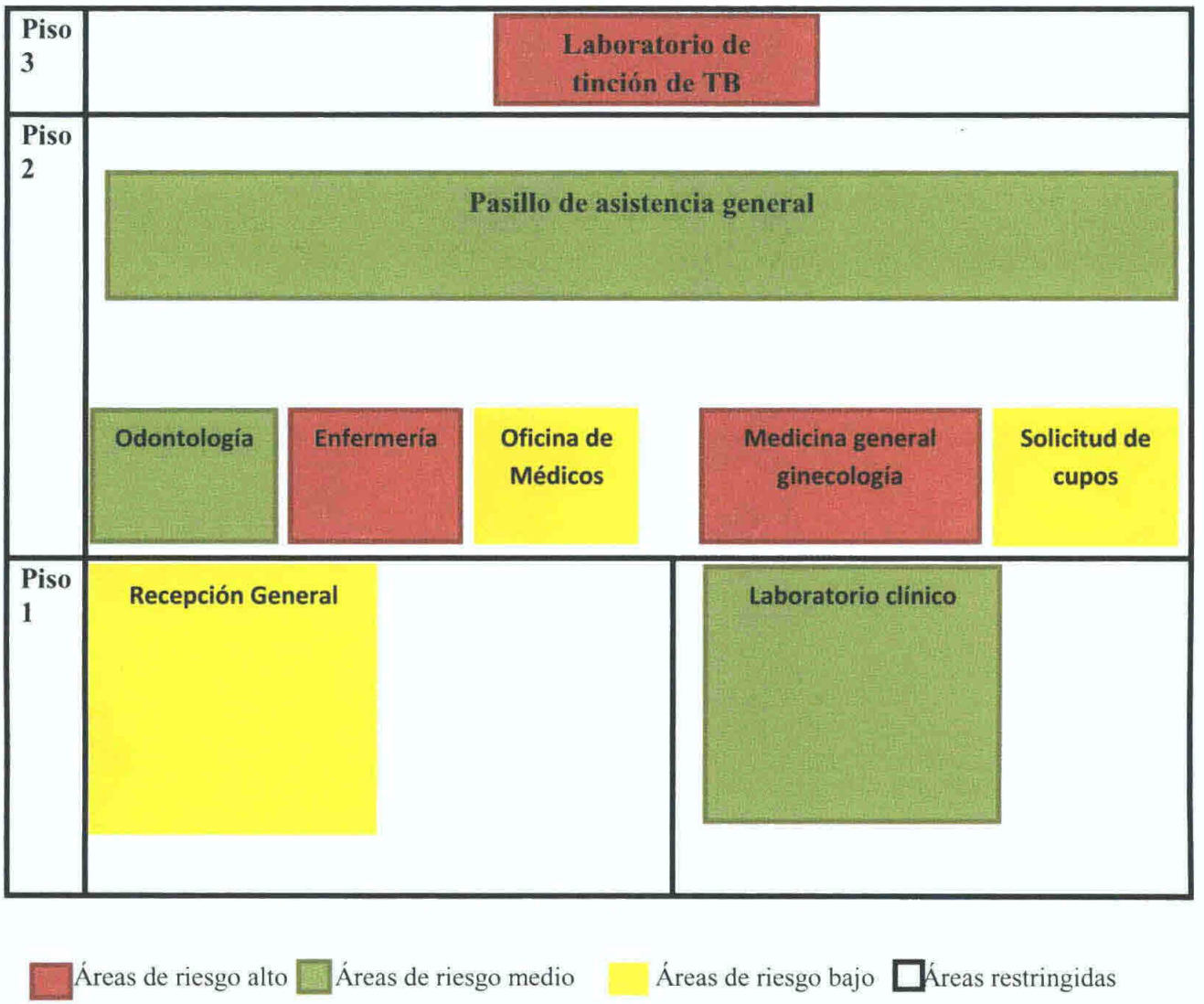


Figura Nº 15 Mascarillas Quirúrgicas

Figura Nº16 Mascarillas N-95

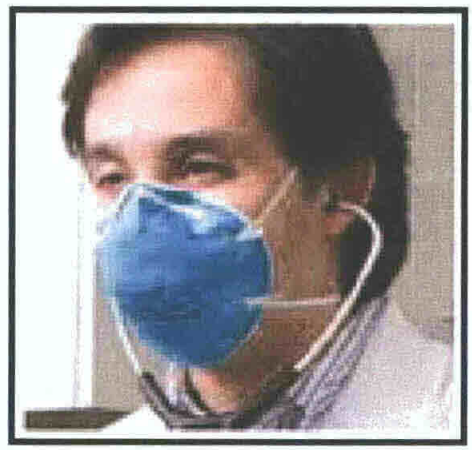
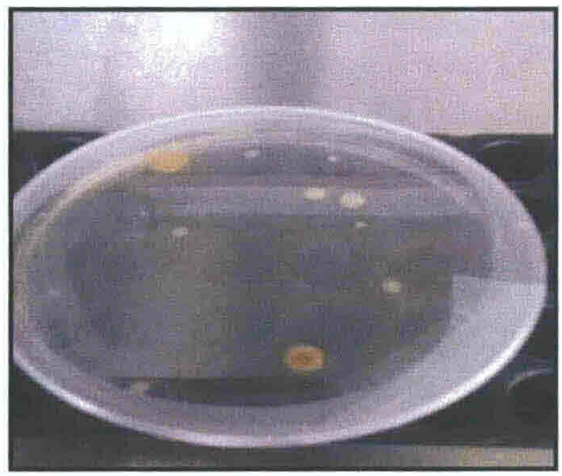
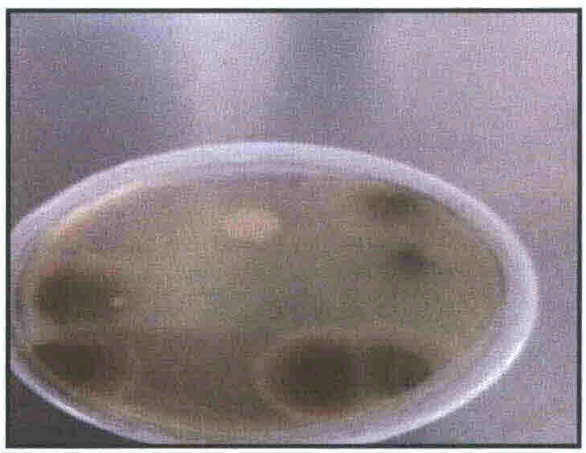


Figura Nº17 Resultados del muestreo ambiental por sedimentación en platos Petri.

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. Sáenz 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 diagnostica de Interferón Gama, como biomarcador de la exposición del personal de salud del Hospital Amador Guerrero, presentado por la Licda Dilcia Sambrano.

- Nota No. FCNET/M/077/2014, dirigida a la Licda. Ingrid Sáenz Llorens.
- Nota No 462/CBI/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 Investigacion conducentes a la tesis de grado

Atentamente

DR. AMADOR GOODBRIDGE
INDICASAT AIP

09/05/14
LICDA. DILCIA SAMBRANO

Departamento Nacional de Docencia

CAJA DE SEGURO SOCIAL
DIRECCION EJECUTIVA NACIONAL DE LOS SERVICIOS Y PRESTACIONES EN SALUD
SUB DIRECCION NACIONAL DE DESARROLLO E INNOVACION DE LOS SERVICIOS DE SALUD
DEPARTAMENTO NACIONAL DE DOCENCIA E INVESTIGACION EN SALUD

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

Licenciada
Dilcia Sambrano
Investigadora Principal
E S D

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 informarles que fue autorizada por la Dra Ingrid Sáez Llorenz, Jefa del Departamento de Docencia 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 ésta 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 Chiari, MSPH
Jefa de la Sección de Investigación y
Bioética de la Investigación en Salud

INDICASAT-AIP
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y SERVICIOS DE ALTA TECNOLOGÍA

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

NSTRUCCIONES Marque con una cruz en el espacio en blanco, la respuesta que aplique o llene el espacio on la informacion solicitada

---

atos 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, □Maestria, □Post grado, □Doctorado

a Direccion donde reside actualmente _____

b Lugares donde ha residido previamente _____ Cuantos años _____

---

actores de riesgo

· **Convive o ha convivido con algún familiar o conocido con tuberculosis Si.** ___ **No** ___

a -Grado de parentesco □Conyugue, □ Hermano/a, □Hijo/a, □Tio/a, □Sobrino/a, □Primo/a, □Suegro/a, □Conocido

loras de convivencia diaria _____ Convivencia ocasional **Si** ___ **No** ___

· **Antecedentes clínicos**

a Sufre de - □Alergias, - □ Afeccion hepatica, □ 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 sintomas □Tos intensa por largo periodo de tiempo □Sudoracion nocturna □Perdida 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	_____	Colón	Versión 1 0
Fecha	Centro de Colección	Ciudad de ubicación	

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 multiples 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 sanguineas y son utiles para identificar personas 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 implementacion 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 recolectaran en las clínicas de TB aqui 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) Especificamente, 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 sera muy util para identificar conductas de riesgos y preparar recomendaciones

PUBLICA DE PANAM
TICA DE LA

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 biologicos en el lugar de trabajo **Si** ___ **No** ___

b Tecnicas correctas de proteccion 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 proteccion personal utiliza

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

13- Ha recibido Vacunación con BCG Si ___ **No** ___ **Fecha** MM/AAAA

14- Indique si el empleador le hizo examenes medicos 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 si 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 permitiran 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 Permito 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

REPUBLICA DE PANAMA COMITE DE BIOETICA DE LA INVESTIGACION INST COMM GORGAS DE ESTUDIOS DE LA SALUD

FIRMA

FECHA 6 May-14