PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICO CLÍNICO

DETECCIÓN DE INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE (ITBL) EN PERSONAL DE SALUD PERTENECIENTE AL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EXPUESTO A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MEDIANTE IGRAs EN EL AÑO 2016

EVELYN OLEAS AYALA

TATIANA PÁEZ ORBE

DIRECTOR: Mtr. OSCAR PUENTE

QUITO, 2016

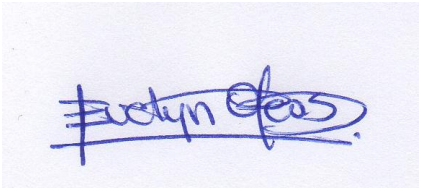
Certifico que la disertación de Bioquímico Clínico de la candidata Evelyn Elizabeth Oleas Ayala y Tatiana Nathaly Páez Orbe ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Evelyn Elizabeth Oleas Ayala, C.I 1719695403; autora del trabajo de graduación intitulado: DETECCIÓN DE INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE (ITBL) EN PERSONAL DE SALUD PERTENECIENTE AL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EXPUESTO A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MEDIANTE I.G.R.A.S EN EL AÑO 2016., previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Escuela de Bioanálisis:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Evelyn Elizabeth Oleas Ayala

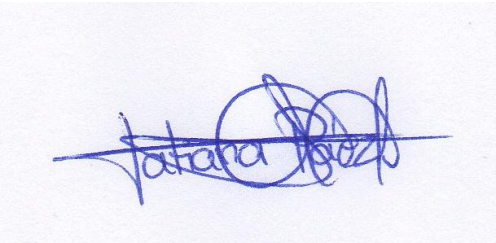
CI. 1719695403

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Tatiana Nathaly Páez Orbe, C.I 0401555248; autora del trabajo de graduación intitulado: DETECCIÓN DE INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE (ITBL) EN PERSONAL DE SALUD PERTENECIENTE AL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EXPUESTO A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MEDIANTE I.G.R.A.S EN EL AÑO 2016., previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Escuela de Bioanálisis:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Tatiana Nathaly Páez Orbe

CI. 0401555248

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, por estar siempre a mi lado en los momentos más difíciles y porque gracias a Él he logrado concluir esta carrera. A mis padres, Doris y Armando, que me han instado y brindado todo el amor necesario para llegar hasta donde estoy, siendo el soporte necesario para mí desarrollo. A mis hermanos y esposo que han sido un verdadero apoyo en cada aventura que decido emprender. Y a mi hijo Mathias el cual es el motivo de mi lucha día a día.

Con cariño

Evelyn Oleas Ayala

A mis padres por ser mis primeros maestros, por ser la base de la realización de mis sueños, por darme la fortaleza necesaria para continuar, por brindarme su apoyo incondicional y por todo su amor. A mis familiares, profesores y amigos, quienes hicieron posible mi construcción humana y profesional. Y a Dios por haber puesto a todas estas personas en mi vida. Sinceramente gracias.

Con cariño

Tatiana Páez Orbe

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios ser maravilloso que nos dió fuerza y fé para terminar lo que parecía imposible.

A nuestros padres por habernos proporcionado la mejor educación, lecciones de vida y por habernos enseñado que con esfuerzo y dedicación todo se consigue.

A nuestro director Oscar Puente, por habernos guiado en la elaboración de este proyecto de investigación y habernos colaborado con los establecimientos del DISerLAB.

Al personal de salud del Laboratorio Clínico del HCAM, en especial al Dr. Fernando Romero y al Dr. Patricio Yánez, por colaborarnos en el proyecto.

A los profesores de la Escuela de Bioanálisis de la PUCE, por brindarnos sus conocimientos y ser un ejemplo a seguir para nuestras vidas.

RESUMEN

DETECCIÓN DE INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE (ITBL) EN PERSONAL DE SALUD PERTENECIENTE AL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EXPUESTO A MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS MEDIANTE I.G.R.A.S EN EL AÑO 2016.

Introducción: En 1991, la Asamblea Mundial de la Salud, examinó la importancia de la Tuberculosis (TB) como un problema de salud pública. A partir del 2001, en el Ecuador se reconoció a la TB como problema de salud pública, por lo que se implementó la estrategia DOTS (del inglés, *Directly Observed Treatment, Short-course*), la cual es recomendada por la OMS y La Unión Europea en los servicios de salud. En el 2014 la tasa de prevalencia de TB fue de 78 personas por cada 100.000 habitantes y la incidencia fue de 54 personas por cada 100.000 habitantes. (OMS, 2016) El personal de salud es uno de los grupos más vulnerables a contraer una infección por tuberculosis, debido a la manipulación y exposición diaria con pacientes diagnosticados con TB y muestras biológicas contaminadas; dichas personas pueden desarrollar una infección latente sin presentar sintomatología, es por esta razón que la presente investigación pretende detectar TB en el personal de salud del laboratorio clínico, mediante la cuantificación de Interferón-γ en sangre periférica - IGRA´s (del inglés, *Interferon-γ realease assays*).

Materiales y métodos: Estudio descriptivo y observacional para establecer la frecuencia de trabajadores del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín (HCAM) de la ciudad de Quito, con infección de tuberculosis latente (ITBL) y la relación con variables sociodemográficas y de actividad laboral. Se realizó la prueba de QuantiFERON®-TB Gold en 50 muestras sanguíneas pertenecientes los analistas del área de microbiología, micología y al personal de limpieza de esta área.

Resultados: De las 50 muestras analizadas el 32% (n=16) fueron positivos. De los pacientes positivos, el 44% (n= 7) corresponde al área de limpieza, el 37% (n= 6) al área de microbiología y el 19% (n= 3) al área de micología. Los individuos con más años de servicios (n= 7) entre 21-30 años presentan un 44% de positividad. La edad que presentó un mayor porcentaje de positividad fue de 46-55 años (n= 6) con el 38%.

Conclusiones y recomendaciones: Existe una mayor frecuencia de contagio en el personal que labora en el área de limpieza, seguida del área de microbiología y finalmente la del laboratorio de micología. De acuerdo a los hallazgos, se sugiere revisar y controlar los procedimientos de bioseguridad implementados en el laboratorio, para así establecer las acciones preventivas y correctivas para minimizar el riesgo de contagio y la propagación en las otras áreas del laboratorio clínico, tanto en analistas, auxiliares de laboratorio y de limpieza como en personal administrativo.

Palabras clave: Tuberculosis, tuberculosis latente, QuantiFERON®-TB Gold, IGRA´s, personal de salud.

ABSTRACT

DETECTION OF LATENT TUBERCULOSIS INFECTION (LTBI) ON HEALTH WORKERS BELONGING TO THE CLINICAL LABORATORY OF CARLOS ANDRADE MARIN HOSPITAL EXPOSED TO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BY I.G.R.A.S DURING 2016.

Introduction: In 1991, the World Health Assembly discussed the importance of TB as a public health problem. Since 2001, Ecuador recognized TB as a public health problem, and the DOTS (*Directly Observed Treatment, Short-course*) strategy was implemented in public health services. Until 2014 the TB prevalence rate was 78 per 100,000 inhabitants and the incidence was 54 per 100,000 inhabitants. (OMS, 2016). Health workers is one of the most vulnerable group to contract tuberculosis infection due to handling and daily exposure to patients with TB and contaminated biological samples, which can develop a latent infection without showing symptoms, It is for this reason that this research pretend to detect TB in health personnel clinical laboratory by IGRA's that allows detection of the bacteria quickly and reliably.

Materials and Methods: This is a descriptive and observational study, to set the frequency of Clinical Laboratory Workers Hospital Carlos Andrade Marín (HCAM) of the city of Quito, with latent TB Infection (LTBI) and relationship to sociodemographic variables and labor activity study. The analysis performed included: area of microbiology, mycology and cleaning staff this area of 50 blood samples belonging QuantiFERON®-TB Gold test was performed.

Results: Of the 50 samples analyzed 32% (n = 16) were Positives. Of Positive patients, in 44% (n = 7) corresponds to the cleaning area, 37% (n = 6) to the microbiology area and 19% (n = 3) of mycology area. The Individuals with more years of service (n = 7) between 21-30 years show 44 % positivity. We got the highest percentage of infection in individuals who are between 45-55 years with 38%, it was also observed further contagion in the years of service in the range 21-30 years with 44%.

Conclusions and Recommendations: There is a higher frequency of infection in the staff working in the cleaning area, followed by the area of microbiology and finally mycology laboratory. According to the findings, it is suggested to review and monitor biosafety procedures implemented in the laboratory, in order to establish preventive and corrective

actions to minimize the risk of infection and spread in other areas of the clinical laboratory, analysts, assistant’s laboratory and cleaning and administrative staff.

Keywords: Tuberculosis, QuantiFERON®-TB Gold, latent tuberculosis, IGRA's, frequency, health workers

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN 8
1.1 JUSTIFICACIÓN 9
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 10
1.3 OBJETIVOS 12
1.3.1 OBJETIVO GENERAL 12
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 12
CAPÍTULO II 13
2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL 13
2.1.1 ANTECEDENTES 13
2.2 TUBERCULOSIS 15
2.2.1 INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN DE LA SALUD (IAAS) 15
2.2.2 SÍNTOMAS 16
2.2.3 BASE INMUNOLÓGICA 17
2.3 PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS 18
2.3.1 BACILOSCOPIA DIRECTA 18
2.3.2 CULTIVO DE *Mycobacterium tuberculosis* 20
2.3.3 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) 20
2.3.4 QUANTIFERON®-TB Gold 21
2.4 MARCO CONCEPTUAL 23
2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES 26
CAPÍTULO III 27
MARCO METODOLÓGICO 27
3.1 TIPO DE ESTUDIO 27
3.4 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVO 28
3.4.1 Equipos: 28
3.4.2 Materiales y reactivos 28
3.5 CONTROL DE CALIDAD 28
3.6 PROCEDIMIENTO 29
3.6.1 Fase uno: Autorizaciones 29
3.6.2 Fase dos 29
3.6.3 Recolección de la muestra 29

3.6.4 Fase tres: IGRAs, lectura e interpretación 30
Interpretación de resultados 30
Limitaciones 31
3.6.5 Fase cuatro 32
CAPÍTULO IV 33
RESULTADOS 33
4.1 DESCRIPCION DE LA MUESTRA 33
4.2 FRECUENCIA DE INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE EN LAS MUESTRAS OBTENIDAS DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN 36
4.3 RESULTADOS POSITIVOS DE QuantiFERON®-TB Gold DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN POR ÁREA DE TRABAJO 37
4.4 RESULTADOS DE QuantiFERON®-TB Gold DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN POR RANGOS DE EDAD 38
4.5 RESULTADOS DE QuantiFERON®-TB Gold DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN POR AÑOS DE TRABAJO. 39
4.6 USO DE EPIS POR EL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HCAM 40
DISCUSIÓN 42
CONCLUSIONES 46
RECOMENDACIONES 48
BIBLIOGRAFÍA 50
ANEXOS 53

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Control de calidad para la validación del test de QuantiFERON®-TB-Gold. 30

Tabla 2 Interpretación de resultados según el inserto de QuantiFERON®-TB-Gold. 31

Tabla 3 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según el área de trabajo..... 33

Tabla 4 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según el sexo..... 33

Tabla 5 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según la edad..... 34

Tabla 6 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según años de trabajo..... 34

Tabla 7 Estadísticos para edad y años de servicio del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín..... 35

Tabla 8 Porcentaje de Infección tuberculosa latente en el personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín..... 36

Tabla 9 Frecuencia positivos del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín de acuerdo al área de trabajo..... 38

Tabla 10 Total de positivos en el personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según grupo etario..... 38

Tabla 11 Total de positivos de las muestras del personal de laboratorio del Hospital Carlos Andrade Marín según los años de trabajo. 39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Resultados de las muestras del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según cada área 37

Gráfico 2 Uso de EPIs por el personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín 40

Gráfico 3 Uso de EPIs / Resultados de las muestras del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos andrade 41

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 Consentimiento informado 53

Anexo 2 Autorización de recolección de muestras en el HCAM 54

Anexo 3 Formulario de datos del personal de salud 55

Anexo 4 Inserto procedimiento QuantiFERON®-TB Gold..... 56

Anexo 5 Galería de fotos de las autoras 59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Tinción Ziehl Neelsen positiva para bacilo *M. tuberculosis*..... 19

Figura 2 Colonias de *M. Tuberculosis* en medio Lowenstein Jensen..... 20

Figura 3 Gel de electroforesis de PCR amplificado Gen pcaA 21

Figura 4 Principios de la prueba de QUANTIFERON®-TB Gold 22

Figura 5 KIT QuantiFERON®-TB Gold 59

Figura 6 Tubos NIL, TB Antígeno Y Mitógeno del KIT QuantiFERON®-TB 59

Figura 7 Muestras del personal de laboratorio clínico 60

Figura 8 Placa elisa..... 60

Figura 9 Lector de elisa humanreader plus Eq-DIS-40 61

LISTA DE SIGLAS

TB	Tuberculosis
IGRA´s	Interferon gamma realease assays
ITBL	Infección tuberculosa latente
BPL	Buenas prácticas de laboratorio
MSP	Ministerio de Salud Pública
OMS	Organización Mundial de la Salud
EPI	Equipo de protección individual
HCAM	Hospital Carlos Andrade Marín
INF-γ	Interferón Gamma
FDA	Food and Drug Administration
ESAT-6	Early secretory antigenic target – 6
CFP-10	Cultura fíltrate protein-10
BAAR	Bacilo Ácido Alcohol Resistente
TST	Tuberculin Skin Test
BCG	Bacilo de Calmette-Guerin
PCR	Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
PPD	Purified protein derivate (Prueba cutánea de derivado proteico purificado)
DO	Densidad óptica
RPM	Revoluciones por minuto
QFT-G	QuantiFERON-TB Gold

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis persiste como un problema de salud pública a nivel mundial y la tendencia epidemiológica de la incidencia de tuberculosis sigue aumentando en el mundo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que existen 16,2 millones de casos de tuberculosis (TB) en el mundo y que el 95% de los casos corresponden a los países en vía de desarrollo. En el Ecuador en el 2001 se reconoció a la tuberculosis como un problema de salud pública y se implementó la estrategia DOTS (tratamiento directamente supervisado de corta duración), la cual tiene como objetivo poner fin a la epidemia de la tuberculosis. (OMS, 2016)

Una de las enfermedades infecciosas más relevantes en los países en vías de desarrollo o dependientes, es la tuberculosis. A pesar de haber pasado más de un siglo del descubrimiento del bacilo de la tuberculosis por Robert Koch y con los adelantos médicos científicos, se ha logrado reducir en forma notable la mortalidad más no la morbilidad, es decir reducir la cantidad de muertes en una población más no el número de personas que contraen la enfermedad. Hasta el 2014 la tasa de prevalencia de tuberculosis fue de 78 personas por cada 100.000 habitantes y la incidencia fue de 54 personas por cada 100.000 habitantes. (OMS, 2016)

La tuberculosis debe ser considerada como una enfermedad ocupacional, el personal de salud es uno de los grupos más vulnerables a contraer una infección por tuberculosis, debido a su manipulación y exposición diaria con pacientes diagnosticados con tuberculosis y muestras biológicas contaminadas. El mecanismo de transmisión de la tuberculosis es directo, es decir de persona a persona a través de la vía aérea. Esta forma de contagio es la más efectiva y la más difícil de prevenir, por lo tanto la probabilidad de infectarse depende del grado y tiempo de contacto con el bacilo, como por ejemplo, la sala de emergencia de hospitales, salas de broncoscopía o nebulización, servicios de neumología, salas de autopsia, laboratorios de cultivos de micobacterias, etc.

La evidencia que confirma que la tuberculosis es una enfermedad ocupacional para el personal de salud se ha documentado en diferentes estudios que muestran prevalencia e incidencia de contagio de tuberculosis en el personal de salud. (Mazurek, 2011)

1.1 JUSTIFICACIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), considera a la tuberculosis (TB) como una de las principales causas de muerte a nivel mundial; una de cada tres personas está infectada con bacterias de *Mycobacterium tuberculosis* generando su forma latente y solo una pequeña porción de esta población desarrolla la enfermedad (OMS, 2014), por lo que se transforma en un problema de salud pública muy importante. Por este motivo la detección de la tuberculosis en personal de salud expuesto es de suma importancia, ya que es una población muy vulnerable. Se conoce que la transmisión de esta enfermedad puede ser por vía directa, es decir, de una persona a otra, principalmente por gotas de saliva que contengan el microorganismo; sin embargo otra vía de transmisión es por vía indirecta o inhalación ya que se conoce que el bacilo tiene una gran resistencia para persistir viable durante periodos prolongados en condiciones de sequedad, debido a su gran resistencia a condiciones ambientales. (Guerrero, 2006)

Los métodos de diagnóstico en los últimos 30 años no han mostrado avances importantes, basándose únicamente en la detección microscópica del bacilo. La identificación del bacilo mediante cultivo sigue siendo la prueba estándar de oro para el diagnóstico, aún a pesar de la demora para obtener los resultados, que en el mejor de los casos es entre 3 y 4 semanas. (Aguilar, 2008). El cultivo sigue siendo el método más específico y sensible para detectar *Mycobacterium tuberculosis,* ya que permite determinar la enfermedad con escasa población bacilar de hasta 10 BAAR/ml. (MSP, 2013).

La detección de tuberculosis por métodos tradicionales toma alrededor de 12 semanas, debido a esto se han introducido metodologías moleculares rápidas y precisas que son aplicables a grupos de alto riesgo de contagiarse como: personal de laboratorio clínico, personal de enfermería, personal de limpieza, individuos que están en condiciones de aislamiento-cárceles, grupos confinados-refugios para indigentes, poblaciones con HIV/SIDA, inmigrantes, indígenas y otras poblaciones marginales.

El incremento de casos de tuberculosis adquirida en los servicios de salud cobra relevancia en estos tiempos, ya que los trabajadores de salud se encuentran sometidos a un riesgo mayor que la población en general debido a su trabajo diario con los pacientes infectados con *Mycobacterium tuberculosis.* Es por esta razón que la detección temprana de Infección tuberculosa latente (ITBL) en personal de salud es necesaria, ya que se evitaría el contagio a más personas y también de esta manera se puede dar un tratamiento profiláctico adecuado.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Tuberculosis es una enfermedad que representa un grave problema de salud pública a nivel mundial. Según la OMS, un tercio de la población se ve afectada por *Mycobacterium tuberculosis* y la tuberculosis es la segunda causa de muerte a nivel mundial después del SIDA; en el 2013, 9 millones de personas desarrollaron tuberculosis y 1.1 millones de personas murieron por esta enfermedad. La incidencia es mayor en mujeres entre los 15 y 44 años. (OMS, 2014).

Según datos el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP), al 2012 existió una prevalencia del 37,18% y la incidencia del 32.91% del total de la población (15’520.973 habitantes) y se reportó una mortalidad del 2,76%. (MSP, 2012).

La tuberculosis infecta a cualquier persona que esté expuesta a la bacteria o que se encuentre dentro de una población en riesgo. Los factores de riesgo influyen tanto en la posibilidad de exponerse al contagio como en el desarrollo final de la enfermedad, puesto que una persona infectada no siempre desarrolla la enfermedad, ya que depende del estado de su sistema inmunológico. (OMS, 2014).

Hay un conjunto de condiciones influyentes para el desarrollo de tuberculosis: biológicas, sociales y ambientales, las mismas que aumentan las probabilidades de su evolución hacia un estado patológico. Personas infectadas por el virus del HIV-1/2 tienen entre el 21-34% más de probabilidad de contraer esta enfermedad, aunque también afecta a personas con diferentes enfermedades inmunitarias. Uno de los factores que aumenta el riesgo de desarrollar tuberculosis es el consumo de tabaco, según la OMS más del 20% de los casos de tuberculosis se deben al hábito de fumar. (OMS, 2014)

Una de las poblaciones susceptibles al contagio de *Mycobacterium tuberculosis* es el personal de salud que está en contacto directo con el agente causal, ya sea proveniente del paciente infectado o con sus fluidos biológicos, que pueden ser positivos para tuberculosis. Algunos estudios han demostrado que los trabajadores de salud tienen una alta probabilidad de tener ITBL y de desarrollar tuberculosis comparado con el resto de la población. Dentro de esta población se hallan los analistas de laboratorio clínico del área de microbiología de hospitales de III nivel de atención, a la que se refieren muestras biológicas para detección de diferentes patógenos entres estos *Mycobacterium tuberculosis,* siendo uno de los grupos más expuestos y que pese a las buenas prácticas de laboratorio (BPL) y uso de los equipos de protección personal (EPI´s) podrían ser susceptibles al contagio. Por esta razón el estudio se enfoca en personal de salud que trabaja en el área de microbiología, al ser quienes manejan directamente las muestras de pacientes con tuberculosis. (MINSA, 2012).

Se plantearon las siguientes preguntas de investigación:

¿Cuál es la frecuencia de ITBL en el personal de salud del laboratorio de microbiología que labora en el Hospital Carlos Andrade Marín de la ciudad de Quito?

¿Las medidas de seguridad ocupacional empleadas por la casa de salud son suficientes para evitar el contagio del personal frente a *Mycobacterium tuberculosis?*

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer la frecuencia de contagio en el personal de salud de laboratorio clínico del área de microbiología y limpieza de la misma área del HCAM que manipulan y procesan muestras biológicas para detección de *Mycobacterium tuberculosis*

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia de infección tuberculosa latente (ITBL) en el personal de laboratorio de microbiología y en el personal de limpieza de la misma área del HCAM mediante la técnica IGRAs (del inglés, Interferon gamma realease assays).
- Establecer la frecuencia del personal con infección tuberculosa latente (ITBL) según el área a la que pertenecen en el laboratorio clínico del HCAM mediante la técnica IGRAs.
- Verificar el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y uso de Equipos de Protección Individual (EPI´s) por el personal de laboratorio clínico y por el personal de limpieza que está expuesto a *Mycobacterium tuberculosis*, de acuerdo a lo establecido en el Manual de Calidad de Microbiología.
- Relacionar la presencia de personal con infección tuberculosa latente (ITBL) y su tiempo de antigüedad en el área de trabajo establecida.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1.1 ANTECEDENTES

Antes del 2001, el test de la tuberculina en piel (del inglés *Tuberculin Skin Test-TST)* fue la única prueba disponible para la detección de infecciones por *Mycobacterium tuberculosis.* (American Thoracic Society, 2.000)

Con el pasar de los años, se reconoció que el Interferón-γ jugaba un papel crítico en la respuesta inmune mediada por células en la infección de *Mycobacterium tuberculosis,* lo que llevó al desarrollo de los ensayos enfocados en la producción de INF-γ (del inglés *Interferon gamma realease assays – IGRAs*), los mismos que fueron aprobados por la FDA en el 2005 e incorporados a sus guías de manejo de pacientes con Tuberculosis. (C.D.C. 2.010).

La detección de Interferón-γ se da por la sensibilización de linfocitos T en presencia de tres proteínas específicas de *Mycobacterium tuberculosis,* ESAT-6 (del inglés, *early secretory antigenic target – 6*), CFP-10 (del inglés, *cultura fíltrate protein-10*), y TB7-7. En lo relacionado con el test de la tuberculina se confirmó que esta prueba no ayuda a distinguir entre tuberculosis latente y tuberculosis activa. (Gerald H. Mazurek M. J., 2010)

En Italia, en el Hospital de Padua, entre mayo y junio del año 2010 se realizó un screening de TB latente en un grupo de 53 trabajadores de laboratorio que tenían mayor riesgo de contagio debido a la actividad que realizaban como el procesamiento de muestras contaminadas con *Mycobacterium tuberculosis* usando QuantiFERON®-TB Gold. De los 53 trabajadores testeados 46 resultaron negativos es decir el 87% y 7 trabajadores

resultaron positivos, es decir el 13%; estos resultados fueron confirmados con la repetición de QuantiFERON®-TB Gold. También fue analizado por el mismo método otro grupo de 78 trabajadores de diferentes áreas del hospital en el que se encontraron 63 muestras negativas (81%) y 15 positivas (19%) determinándose así la importancia del uso de este método de detección. (Zanetti, 2012)

En Oviedo-España, en el año 2011 se realizó a manera de prueba, un ensayo para saber si la técnica IGRAs podría ser utilizada como una prueba de detección de una infección tuberculosa, al realizar las pruebas y compararlas con la TST, el resultado fue que IGRAs si sirve para la detección de infección tuberculosa. (Guillén, 2011).

En la actualidad se están realizando varios estudios para detección de infección tuberculosa latente, el PhD Madhukar Pai en su investigación indica que la técnica IGRAs no puede identificar entre una infección tuberculosa latente y una tuberculosis activa, ya que para este último el estándar de oro sigue siendo el cultivo microbiológico, además es útil en el diagnóstico de infección tuberculosa latente en personas que han sido vacunadas con la BCG, ya que estos IGRAs no se ven afectados por la vacuna con el Bacilo de Calmette-Guerin. (Madhukar Pai, 2015)

Ecuador es uno de los países que no cesa contra la lucha de tuberculosis debido a que es una enfermedad que ha prevalecido a lo largo de la historia y sigue afectando a millones de personas en todo el mundo, por ello el Ministerio de Salud Pública mediante el PAI (Programa ampliado de inmunizaciones) asegura y garantiza la inmunización universal y equitativa de los ecuatorianos usando vacunas de calidad y gratuitas para la prevención y control de enfermedades infecto-contagiosas. Un ejemplo de aquello es la vacuna de la BCG (bacilos Calmette–Guérin) que debe ser aplicada a todos los recién nacidos o menores de 1 año y es de vital importancia para prevenir la meningitis tuberculosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, la misma que puede desarrollarse principalmente en niños durante los 5 primeros años. (PAI, 2012)

La vacuna BCG causa una reacción cruzada con la prueba de tuberculina debido a que el tipo de antígeno utilizado consiste en derivados proteicos purificados del *inglés purified protein derivative* que contiene proteínas de *Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium*

bovis (presente en la BCG) y otras bacterias no tuberculosas lo que le resta especificidad a la prueba. (Rodríguez, 2014).

Existen profesiones directamente asociadas con un mayor riesgo de padecer tuberculosis entre estas el personal de salud, la probabilidad de estos individuos de infectarse depende del grado y tiempo de contacto con el bacilo, el laboratorio microbiológico y el área de limpieza son lugares donde existe una mayor oportunidad de entrar en contacto con el bacilo debido a que se manipulan cultivos, muestras y material contaminados con el bacilo; por lo tanto, las personas que laboran en estos ambientes están en riesgo de infectarse y padecer tuberculosis por consecuencia de su ocupación.

2.2 TUBERCULOSIS

La tuberculosis es una enfermedad causada por la bacteria alcohol ácido resistente *Mycobacterium tuberculosis*, afectando a varios órganos pero principalmente a los pulmones. Esta bacteria produce diferentes cuadros patológicos debido a sus características biológicas como por ejemplo su virulencia variable y multiplicación lenta que favorece la cronicidad de la enfermedad. No posee toxinas conocidas, lo que influye en la persistencia de su estado de latencia y sus diferentes antígenos hacen que el huésped produzca varias respuestas inmunológicas. Entre los factores de riesgo que producen la morbilidad de esta enfermedad están: la pobreza, la negligencia en el diagnóstico, el tratamiento y la enfermedad de HIV/SIDA. La OMS ha estimado que para el 2020, 200 millones de personas enfermarán y 35 millones fallecerán por tuberculosis. (OMS, 2014)

2.2.1 INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN DE LA SALUD (IAAS)

En la actualidad se conoce que los peligros que corren los trabajadores de la salud en adquirir y desarrollar la enfermedad son muchos, y estos aumentan si la persona posee HIV o tiene alguna enfermedad que comprometa su sistema inmunológico. A continuación se detallan las áreas de mayor riesgo en un hospital, según la O.M.S. al 2014:

Personal de laboratorio de anatomopatología: en especial el personal que realiza autopsias tienen un riesgo elevado de contagio, debido a que varios pacientes mueren sin

saber que habían tenido la infección y al momento de realizar las autopsias el bacilo se dispersa por el aire y puede infectar al personal. (OMS, 2014)

Personal de laboratorio clínico: en especial los que laboran en el área de pre-análisis, análisis y pos-análisis, en los últimos años se ha estimado un incremento de riesgo en nueve veces más que cualquier persona que labore en otra área. (OMS, 2014)

Personal de enfermería: presentan un riesgo elevado, ya que tratan con pacientes que padecen de tos, y al momento de recolectar la muestra de esputo en un ambiente cerrado el bacilo queda en el aire si no es bien recogida la muestra. (OMS, 2014)

Personal médico: los profesionales con un mayor riesgo de contraer tuberculosis son los neumólogos, cirujanos torácicos, médicos que laboran en las salas de emergencia y médicos generales. (OMS, 2014)

Personal no profesional: estudiantes, voluntarios, ayudantes, personal de limpieza y mantenimiento. (OMS, 2014)

2.2.2 SÍNTOMAS

Cuando la persona tiene infección de tuberculosis latente, no presenta ningún síntoma, pero si la persona desarrolla la enfermedad de tuberculosis presenta varios síntomas y estos dependen del lugar del cuerpo donde se estén reproduciendo las bacterias; generalmente el crecimiento bacteriano ocurre en los pulmones, aunque los síntomas pueden variar de forma individual en cada paciente.

La infección de tuberculosis activa presenta estos síntomas habituales que pueden ser leves durante los primeros meses:

- debilidad o cansancio generalizado;
- sudores durante la noche;
- pérdida de peso;
- fiebre;

Cuando la infección en los pulmones se agrava, los síntomas se presentan más fuertes e incluyen:

- una tos intensa que dura 3 semanas o más;
- dolor en el pecho;

- tos con sangre o esputo (flema desde el fondo de los pulmones);
- falta de apetito;
- escalofríos;
- disnea (dificultad para respirar);

Si la infección se vuelve extrapulmonar y se disemina a otros órganos, los síntomas van a depender de los órganos afectados.

A lo largo de un año, un enfermo tuberculoso puede infectar a unas 10 a 15 personas cuando tose, estornuda o escupe, de esta manera expulsa bacilos tuberculosos al aire y basta con que una persona inhale unos pocos bacilos para quedar infectada. (MSP, 2013) (OMS, 2015)

2.2.3 BASE INMUNOLÓGICA

M. tuberculosis puede sobrevivir en el ser humano a pesar de que se genere una respuesta inmunitaria y permanecer en infección latente sin presentar síntomas. La reactivación de la infección causa la enfermedad tuberculosa que puede ser ocasionada por varios factores que provoquen una inmunosupresión en el individuo como: desnutrición, HIV1/2, enfermedades neoplásicas, fumar y otros factores. La infección por *M. tuberculosis* ocurre en cuatro estadios: Primer estadio*:* comienza con la inhalación del bacilo y su llegada a los alveolos pulmonares donde son ingeridos y destruidos por los macrófagos alveolares y células dendríticas, los bacilos que escapan de la destrucción intracelular inicial se multiplican y se produce una muerte de los macrófagos llamado “estallido celular”

Para el segundo estadio con el estallido celular se inicia la liberación de PAMP (Patrón molecular asociado a patógenos) y DAMP (Patrón molecular asociado al daño) y producción de quimiocinas inflamatorias que provocan el reclutamiento de monocitos en el pulmón y luego se diferenciarán en macrófagos para ingerir los bacilos, pero las bacterias crecen logarítmicamente. Tres semanas después la inmunidad es mediada por células T $CD4^+$ y Th_1 (Linfocito T helper 1). En el tercer estadio se detiene el crecimiento logarítmico bacteriano y las células Th_1 controlan el desarrollo de los bacilos dentro de los macrófagos que constituyen el granuloma (formado por el bacilo, macrófagos y otras células reclutadas) volviéndose una infección latente. Finalmente el cuarto estadio es la

consecuencia de la rotura del granuloma y la diseminación de la infección permitiendo la diseminación intrapulmonar o extrapulmonar de varios bacilos infecciosos. (Guillén, 2011)

2.2.3.1 RESPUESTA INMUNITARIA INNATA DEL HUÉSPED

Cuando los mecanismos propios de la inmunidad innata son capaces de destruir los bacilos, los individuos no desarrollan la infección, para esto actúan los macrófagos y las células dendríticas secretando quimiocinas inflamatorias que reclutan monocitos al sitio de infección y logran fagocitar las bacterias en la primera etapa de la infección, además los monocitos, macrófagos y células dendríticas presentan en su superficie receptores tipo Toll (TLR) que son capaces de reconocer la pared celular de las micobacterias y estimulan su capacidad microbicida y liberación de citocinas para una mejor respuesta inflamatoria local. (Guillén, 2011)

2.2.3.2 RESPUESTA INMUNITARIA ADAPTATIVA DEL HUÉSPED

Ésta respuesta es mediada principalmente por células Th_1 las cuáles viajan hacia el foco de la infección, es decir al pulmón y son capaces de reconocer los péptidos antigénicos de *M. tuberculosis* presentados por los macrófagos, los Th_1 se activan y producen citocinas INF-γ y TNF-α. El Interferón-γ cumple un papel muy importante, debido a que este brinda protección en la respuesta inmune del tipo celular al momento del contacto con el microorganismo. (Guillén, 2011)

2.3 PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO PARA TUBERCULOSIS

Para el diagnóstico de tuberculosis es importante una toma de muestra adecuada en cuanto a calidad y cantidad, al igual que su almacenamiento y traslado al laboratorio con el fin de asegurar unos resultados confiables.

2.3.1 BACILOSCOPIA DIRECTA

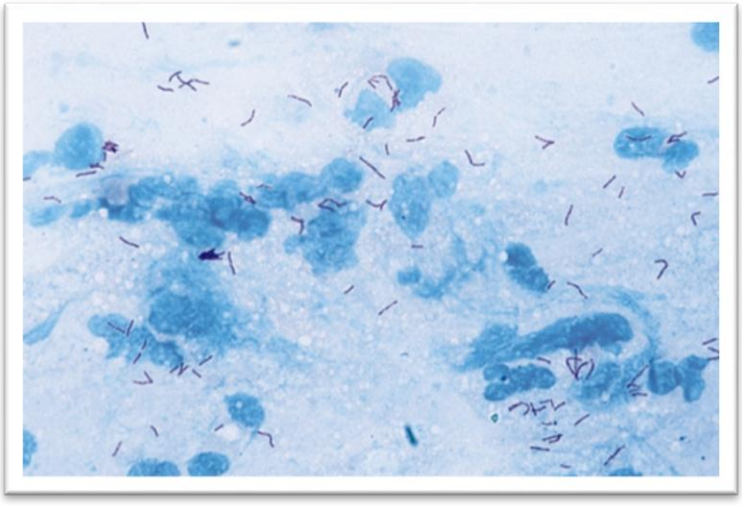
La baciloscopía es la herramienta primaria para el diagnóstico de la tuberculosis y para evaluar la respuesta al tratamiento; de bajo costo y de rápida ejecución, posee una sensibilidad que varía entre el 30-80% el cual dependerá directamente del aislamiento del cultivo, y una especificidad que oscila entre los 96-99%.

Se emplean muestras de procedencia pulmonar ya sea por expectoración natural o inducida o muestras extra_pulmonares (líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, biopsias, etc.); para el diagnóstico se examinan tres o más muestras seriadas de esputo debido a que la eliminación de bacilos no es continua y para control se deben realizar las baciloscopías de manera obligatoria hasta el término del tratamiento.

El procedimiento se basa en la capacidad de las micobacterias para incorporar y retener ciertos colorantes ante la acción de ácido y alcohol, propiedad conocida como ácido-alcohol-resistencia como se puede ver en la figura 1, donde se indica una tinción Ziehl Neelsen positiva

La observación microscópica debe establecer la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes en el frotis y el número promedio aproximado observado por campo. Para que el diagnóstico sea positivo se necesita de 5000 a 10000 BAAR x ml. El resultado se señala en cruces (+ si se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados, ++ si se observa entre 1 y 10 BAAR en 50 campos observados, +++ si se observa más de 10 BAAR en 20 campos observados, o Negativo si no se encuentran BAAR en los 100 campos observados). (Ortiz, 2013) (Balandrano 2013)

Figura 1 Tinción Ziehl Neelsen positiva para bacilo *M. tuberculosis*



Fuente: OMS. (Mazo de 2014). Obtenido de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/

2.3.2 CULTIVO DE *Mycobacterium tuberculosis*

El cultivo es la prueba estándar de oro para el diagnóstico de tuberculosis ya que este método bacteriológico es muy sensible y específico para detectar *Mycobacterium tuberculosis* aun ante escasa población bacilar (desde 10 BAAR por mL). El cultivo es una técnica que requiere mayor tiempo, equipamiento y costo que la baciloscopía, sin embargo ofrece una mayor sensibilidad (70-90%) y buena especificidad (80-95%). (Paz, 2011)

La muestra requiere una descontaminación o neutralización antes de ser procesada y luego es inoculada y sembrada en un medio de cultivo altamente selectivo y específico llamado Lowenstein Jensen como observamos en la figura 2. Uno de los inconvenientes más importantes de este método es que la bacteria tiene un crecimiento lento, por lo que el cultivo demora alrededor de 8 semanas para dar un resultado diagnóstico. Se debe realizar tres lecturas del cultivo: a la primera semana, a la cuarta semana y el resultado definitivo a la octava semana. Se obtiene un resultado negativo si no hay crecimiento y en caso de ser positivo se debe indicar el número exacto de colonias como en la figura2, donde encontrará colonias de *M. tuberculosis* en un cultivo): si hay de 10 a 100 (+), si hay más de 100 colonias (++) y si es incontable positivo (+++) (MSP, 2013)

Figura 2 Colonias de *M. Tuberculosis* en medio Lowenstein Jensen



Fuente: InDRE. (07 de Abril de 2011). *Dirección General de Epidemiología*. Obtenido de http://www.indre.salud.gob.mx/interior/lab_micobacterias.html

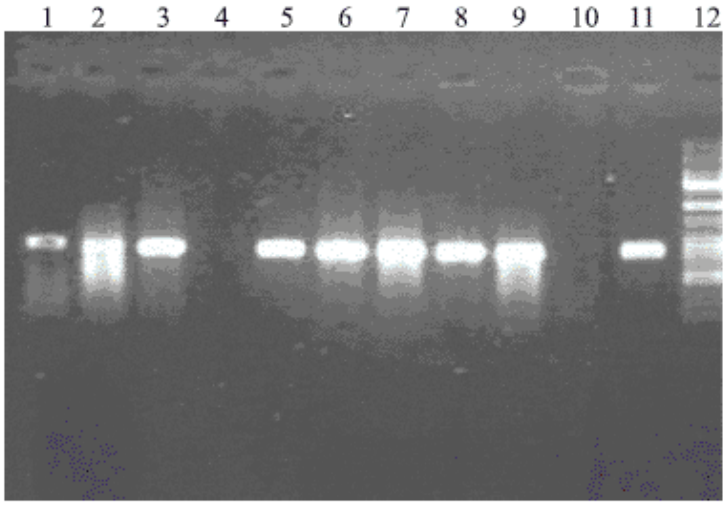
2.3.3 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Esta prueba es una de las más rápidas para el diagnóstico de la tuberculosis, se la puede realizar en varias muestras como: sangre, esputo, lavado bronquial, orina entre otras. (MSP, 2013)

El desarrollo de esta técnica ha revolucionado el diagnóstico microbiológico, ya que esta prueba permite detectar secuencias de ADN y ARN en menos de ocho horas como se observa en la figura 3, dando un buen resultado, debido a su alta especificidad (95-100%) y su moderada sensibilidad (75-90%), se ha recomendado no utilizar esta prueba en pacientes que tengan baja sospecha clínica y que demuestren resultados radiológicos normales.

La desventaja de esta prueba es que puede llegar a dar resultados falsos positivos en pacientes que tengan una infección latente, o se pueden obtener resultados falsos negativos, los cuales se deben a la presencia de inhibidores en la muestra, también se debe a la falta de secuencias de ácidos nucleídos que se amplificarán, o a problemas en la obtención del ADN. (Agudelo, 2012)

Figura 3 Gel de electroforesis de PCR amplificado Gen pcaA



Fuente: Ramazanzadeh, R. (2016). *Indian Journal of Medical Microbiology*. Obtenido de http://www.ijmm.org/searchresult.asp?search=tuberculosis&author=&journal=X&but_search=Search&entries=10&pg=1&s=0

2.3.4 QUANTIFERON®-TB Gold

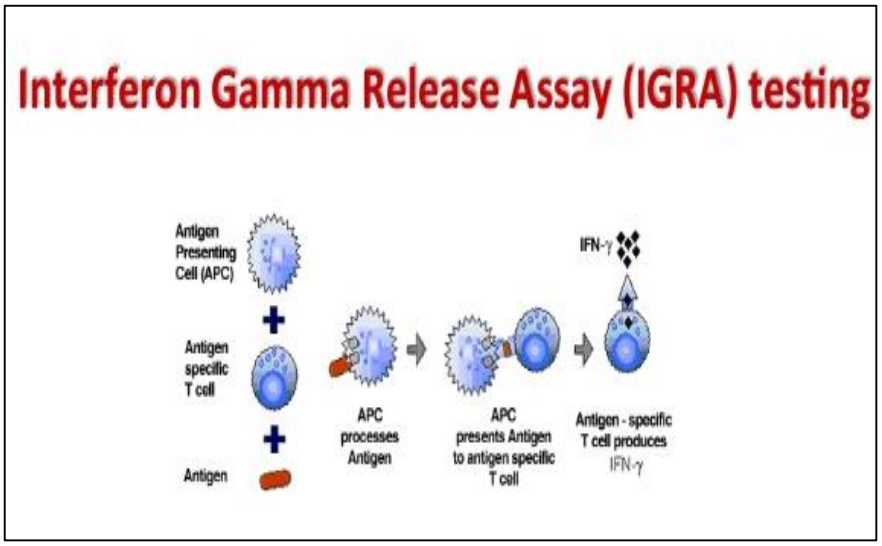
Esta prueba se utiliza como herramienta para la detección de infección de TB latente, y se basa en la detección de Interferón-γ secretado por los linfocitos T sensibilizados en presencia de tres proteínas (ESAT-6, CFP-10 y TB7.7) como observamos en la figura 4. Estas proteínas se encuentran presentes en *Mycobacterium tuberculosis.* La técnica usada para la cuantificación de INF-γ es ELISA (del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). (Gerald H. Mazurek M. , 2011)

El uso de esta prueba ha sido aprobada en varios países, especialmente para la detección de infección tuberculosa latente, tratando así de sustituir a la prueba de la tuberculina, esta prueba es de gran uso debido a que nos da un diagnóstico rápido sobre todo en los pacientes que en la tinción de Ziehl y en la PCR han sido negativos. (Garcia-Gasalla, 2010)

En los pacientes con HIV-1/2 o con trasplante de hígado y que estén tomando medicamentos inmunosupresores, diabetes, insuficiencia renal, leucemia, las mujeres embarazadas con bajas defensas, aunque la prueba de QUANTIFERON®-TB Gold les diera negativo, y tengan tos prolongada por más de ocho días y problemas respiratorios, deberán realizarse otras pruebas más específicas.

Esta prueba puede mejorar las eficiencias en el estudio de contactos, ya que sobrepasa a la prueba de la tuberculina, el QUANTIFERON®-TB Gold ha demostrado ser más específica (90%), pero debido a su limitada sensibilidad (89%), el resultado no permite descartar ni confirmar una tuberculosis activa.

Figura 4 Principios de la prueba de QUANTIFERON®-TB Gold



Fuente: Cascante, J. (2010). *SCIELO*. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272007004400005

2.4 MARCO CONCEPTUAL

- **Individuo de referencia:** es un individuo seleccionado con fines de comparación mediante unos criterios definidos en cada caso. Es importante que el criterio elegido sea el estado de salud, pero la definición no se limita a esto, sino que también puede incluir el sexo, edad, raza, situación geográfica, etc. (OSMAN, 2013)
- **Población de referencia:** conjunto de todos los individuos de referencia, utilizado para establecer criterios de comparación de una población en estudio. (OSMAN, 2013)
- **Muestra de referencia:** es un subconjunto de la población de referencia constituido por el número adecuado de individuos para que sea representativo de dicha población de referencia. (OSMAN, 2013)
- **IGRAS:** Interferon γ realease assays (Ensayos realizados con Interferón Gamma). (Rodríguez, 2014)
- **Interferón gamma:** molécula importante para la detección de la infección tuberculosa. (Abbas, 2012)
- **Gold estándar:** prueba en la que se va a basar el diagnóstico final, la cual sirve de referencia para todas las pruebas. (MSP, 2013)
- **ELISA:** técnica basada en inmunoensayo ligado a una enzima la cual detecta antígeno o anticuerpo. (Rodríguez, 2014)
- **PPD:** prueba de tuberculina en la cual se sensibiliza a la persona para la detección de tuberculosis latente. (MSP, 2013)
- **BCG (Bacillus de Calmette y Guérin)*:*** vacuna contra la tuberculosis preparada a partir de extracto de *Mycobacterium bovis*. (Abbas, 2012)
- **Antígeno:** sustancia extraña que puede causar una reacción inmunológica. (Abbas, 2012)
- **Anticuerpo*:*** sustancia liberada por linfocitos en presencia de una sustancia extraña (antígeno). (Abbas, 2012)
- **Citoquina:** son proteínas que regulan la interacción del sistema inmune. (Abbas, 2012)

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable principal	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Tipo de variable	Técnica
Tuberculosis latente ITBL	Infección ocasionada por *Mycobacterium tuberculosis*, en pacientes asintomáticos.	Interferón-γ producido por linfocitos T en personas sensibilizadas por *Mycobacterium tuberculosis*	Positivo / Negativo	Índices de Interferón-γ encontrados en suero	Nominal	Cualitativa	IGRAs (QuantiFERON®-TB Gold)
Variables secundarias	**Definición conceptual**	**Definición operacional**	**Dimensión**	**Indicador**	**Escala**	**Tipo de variable**	**Técnica**
Edad	Tiempo de vida de una persona desde el momento que nace hasta el momento actual	Años cumplidos	Rangos de edad: 26-35 años 36-45 años 46-55 años 56-65 años	Media, desviación estándar y frecuencia relativa (%)	Continua / Discreta	Cuantitativa / cualitativa	Formulario de registro de datos
Sexo	Variable biológica y genética que divide a los seres humanos en dos posibilidades: mujer u hombre	Hombre/mujer	Sexo	Frecuencia relativa (%)	Nominal	Cualitativa	Formulario de registro de datos
Antigüedad	Años de servicio del individuo en su área de trabajo	Años de permanencia en el Hospital Carlos Andrade Marín	Rangos de años de servicio: 1-10 años 11-20 años 21-30 años 31-40 años	Media, desviación estándar	Continua / Discreta	Cualitativa	Formulario de registro de datos
Servicio al que pertenece.	Área de trabajo a la que pertenece.	Área de trabajo en el laboratorio	Microbiología, Micología, Limpieza	Frecuencia relativa (%)	Nominal	Cualitativa	Formulario de registro de datos

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó una investigación de tipo descriptivo, transversal y observacional, en el que se estudiaron las características del personal que labora en el laboratorio clínico en las áreas de microbiología, micología y limpieza del Hospital Carlos Andrade Marín y se estableció la frecuencia de pacientes con tuberculosis latente en este grupo en un momento del tiempo, además el factor de estudio no fue controlado por las investigadoras, solo se observaron, midieron y analizaron las variables de interés en los sujetos.

3.2 POBLACIÓN

La población corresponde al personal de salud que trabaja en el laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín en la ciudad de Quito, en las áreas de microbiología-micología, en tareas analíticas, técnicas y de limpieza y mantenimiento.

3.3 MUESTRA Y TAMAÑO DE MUESTRAL

Se decidió trabajar con el total del personal que se encuentra trabajando en el área de Laboratorio clínico (Microbiología, micología y limpieza) del Hospital Carlos Andrade Marín los cuales suman 50 personas;

Área de Microbiología: 19 personas

Área de Micología: 9 personas

Área de limpieza: 22 personas

Para conformar la muestra se tomaron los siguientes criterios:

Criterios de inclusión: el personal que tuvo mínimo dos años de servicio en el área y que libre y voluntariamente desearon participar en el estudio y firmó el consentimiento informado.

Criterios de exclusión: personas con menos de 2 años de servicio, y personal no fijo en el área y aquellos que no desearon participar.

3.4 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVO

3.4.1 Equipos:

- Incubadora MEMERT in30 a 37°C
- Centrífuga Hettich ROTOFIX 32A
- Pipetas calibradas de volumen variable (50 µL y 100 µL)
- Agitador de microplacas VRN-360
- Lector de microplacas equipado con un filtro de 450 ηm y un filtro de referencia 620 ηm HUMANREADER Eq- DIS – 40

3.4.2 Materiales y reactivos

- Puntas desechables amarillas
- Agua destilada
- Agujas para toma múltiple, 21G x 38 mm BD Vacutainer REF: 360213
- Alcohol Prep Pad VanSwab
- Tubos para recolección de muestras según el kit (3 por paciente; Nil tube, Antigen tube, Mitogen tube) Marca QUIAGEN® 0594-0201
- QuantiFERON®-TB Gold + calibradores internos Marca QUIAGEN®. 0594-0501

3.5 CONTROL DE CALIDAD

Los resultados del análisis dependen de la curva estándar que se genere. Para esto se revisaron los resultados de cada uno de los estándares incluidos en el kit antes de interpretar los resultados.

Para que el ensayo se considere validado se deben cumplir los siguientes criterios:

- El valor DO medio para el estándar 1 debe ser ≥0.600.
- El % de CV de los valores DO de las réplicas del estándar 1 y del estándar 2 debe ser ≤15%.
- Los valores DO de las réplicas de los estándares 3 y 4 no deben presentar una desviación mayor que 0.040 unidades DO respecto a su media.

- El coeficiente de correlación (r) calculado a partir de los valores medios de absorbencia de los estándares debe ser ≥0.98.

Si no se cumple con los estándares se considera que la prueba es inválida.

El valor medio para el estándar cero debe ser ≤0.150. Si el valor DO medio es > 0.150, debe revisarse el procedimiento de lavado de placas. (QIAGEN, 2013)

3.6 PROCEDIMIENTO

3.6.1 Fase uno: Autorizaciones

- Se solicitó la autorización respectiva al director del Laboratorio Clínico para el acceso a la recolección de muestras y datos del personal. Dirigirse al anexo 2, donde se encuentra la solicitud de autorización del Hospital "Carlos Andrade Marín".
- Se entregó el consentimiento informado a cada uno del personal participante. Dirigirse al anexo 1, donde se detalla el consentimiento informado.

3.6.2 Fase dos

La recolección de las muestras se realizó en el mes de Mayo del 2016, se llenó una ficha, dirigirse al anexo 3, donde se detalla la encuesta que recopiló la información de cada paciente participante en el proyecto.

3.6.3 Recolección de la muestra

Se recolectaron muestras de sangre venosa del personal que cumplió con los criterios de inclusión; se recolectaron 3 tubos con 1 ml cada uno, inmediatamente se etiquetaron con un código numérico para guardar la confidencialidad de las personas y se procedió a homogenizar el tubo como lo explica la técnica durante 10 veces. Dirigirse al anexo 4, donde encontrará el inserto de QFT-G.

Finalmente se incubó a 37ºC ± 1 durante 16 horas antes de la cuantificación del Interferón-γ.

3.6.4 Fase tres: IGRAs, lectura e interpretación

Luego de la de incubación a 37º C de la sangre obtenida en los tubos para recolección, se llevó a centrifugación durante 15 minutos a una velocidad entre 2000 y 3000 rpm. Una vez obtenido el plasma se alicuota para su conservación a 2-8º C hasta el momento de su análisis.

Previo a la determinación del Interferón-γ por ELISA se esperó a que tanto las muestras de plasma como los reactivos tomen la temperatura ambiente. El procedimiento realizado corresponde al establecido por la casa comercial en el inserto para QuantiFERON®-TB-Gold. (Diríjase al anexo 4, donde se detalla el procedimiento).

Los resultados se calcularon utilizando el software Quantiferon-TB Analysis, luego del análisis de la curva de calibración y los controles internos.

Para la validación de la prueba, se consideraron los siguientes datos de la Tabla 1:

Tabla 1 Control de calidad para la validación del test de QuantiFERON®-TB-Gold.

Estándares	Concentración	Media	%CV	Resultados
S1	4.00	0.628	4.2	APRUEBA
S2	1.00	0.092	1.9	APRUEBA
S3	0.25	0.028	No aplicable	APRUEBA
S4	0.00	0.014	No aplicable	APRUEBA
Intersección: -2.1421		Inclinación: 1.1220 (APRUEBA)	Coeficiente de correlación: 0.99	

Autor: Cellestis
Fuente: Software QFT, 2015

El valor medio de DO del estándar 1 es ≥ 0.600, el %CV de los estándares 1 y 2 son ≤ 15% y el coeficiente de correlación obtenido es 0,99. Lo cual indica que el ELISA cumple con los requisitos indicados en el inserto por lo tanto el ensayo se considera válido.

Interpretación de resultados

Los resultados obtenidos en las lecturas del IGRAs se interpretaron de acuerdo a la guía de la casa comercial para este ensayo (Tabla 2) y se realizó la interpretación como positivo, negativo o indeterminado.

Tabla 2 Interpretación de resultados según el inserto de QuantiFERON®-TB-Gold.

Nulo (UI/ml)	Antígeno Tb menos Nulo (UI/ml)	Resultados del QFT	Resultados / Interpretación
≤ 8,0	< 0,35	Negativo	Infección por M. tuberculosis Improbable
	≥ 0,35 y < 25% del valor de nulo	Negativo	Infección por M. tuberculosis Improbable
	≥ 0,35 y ≥ 25% del valor de nulo	Positivo*	Infección por M. tuberculosis probable
>8,0	Cualquiera	Indeterminado	Resultados indeterminados para la respuesta al antígeno TB

Si no se sospecha una infección por M. tuberculosis, un resultado inicialmente positivo puede confirmarse volviendo a analizar por duplicado las muestras de plasma originales con el ensayo QFT ELISA. Si el análisis duplicado de una o de ambas réplicas da positivo, se considerará que el individuo ha dado positivo en el ensayo

Fuente: QIAGEN, C. (Julio de 2013). *Quantiferon*. Recuperado el 13 de Octubre de 2015, de Prospecto de QuantiFERON-TB Gold (QFT) ELISA: http://www.quantiferon.com/irm/content/PI/QFT/2PK/ES.pdf

Limitaciones

Los análisis de los resultados se deben correlacionar con la epidemiología y el estado físico actual del personal, los valores nulos superiores a 8 UI/ml se clasifican como "indeterminados" porque las reacciones a los antígenos TB superiores a la media en un 25% se consideran fuera de los límites de medición del ensayo.

Pueden darse resultados poco fiables o indeterminados si:

- Se producen desviaciones respecto al procedimiento descrito en el Prospecto de QuantiFERON-TB Gold (QFT) ELISA. (Anexo 4: INSERTO PROCEDIMIENTO QUANTIFERON-TB GOLD)
- Existen volúmenes excesivos de IFN-γ en circulación o hay anticuerpos heterófilos.

Han pasado más de 16 horas desde la obtención de la muestra de sangre y su incubación a 37°C. (QIAGEN, 2013)

3.6.5 Fase cuatro

Con la información obtenida del formulario de recolección de datos así como la del análisis por el laboratorio se elaboró una base de datos en una hoja electrónica en SPSS v 20, en la que se trabajó la estadística descriptiva y el cruce de variables correspondiente.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron 50 muestras del personal del laboratorio clínico del HCAM para detectar una infección tuberculosa latente. Para este fin, se estudiaron cuatro variables: Área de trabajo, género, edad y años de servicio.

4.1 DESCRIPCION DE LA MUESTRA

Tabla 3 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según el área de trabajo

Área	Total de muestras
Microbiología	19
Micología	9
Limpieza	22

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

La mayor cantidad de personal se encontró en el área de limpieza con 22 trabajadores debido a que es el personal que más rota, seguido del área de microbiología con 19 trabajadores mientras que en Micología solo tenemos 9 trabajadores.

Tabla 4 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según el sexo

Sexo	Total de muestras
Mujeres	42
Hombres	8

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

Encontramos que gran parte de nuestra muestra son mujeres lo cual se puede deber a que la mayor población demográfica son mujeres, además la profesión de laboratorio clínico es de mayor elección para mujeres que para hombres.

Tabla 5 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según la edad

Edades	Total de muestras
25-35 años	19
36-45 años	9
46-55 años	14
56-65 años	8

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

La mayoría de trabajadores encontramos en el rango de una edad productiva entre los 25-35 años mientras que en el rango de 56-65 años se encontraron el menor número de trabajadores porque la mayoría de ellos se encuentran jubilados.

Tabla 6 Total de muestras del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según años de trabajo

Años de trabajo	Total muestras
1-10 años	26
11-20 años	6
21-30 años	14
31-40 años	4

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

De acuerdo a la tabla 6 observamos que la mayor cantidad de personal se encuentra en el rango de 1-10 años de servicio debido a que es el personal más joven con un total de 26 muestras, mientras que en el rango de 31-40 años de servicio solo encontramos 4 muestras lo cual se debe a que ya están jubilados.

Tabla 7 Estadísticos para edad y años de servicio del personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín

Variable	**Estadístico**			
	Media ± DS	Mediana	Límite inferior	Límite superior
Edad	41.50 ±11.8	38	22	60
Años de trabajo en el área	15.6±11.01	10	2	37

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

Respecto a la edad obtuvimos una media de 41,5 años y tenemos una desviación estándar ± 11,8 lo cual indica que tenemos una distribución normal y que nuestros valores abarcan una desviación estándar lo cual corresponde al 68% de todas las observaciones. De acuerdo a los límites de edad del personal incluido en el estudio encontramos desde 22 años hasta 60 años. Respecto a los años de trabajo obtuvimos una media de 15,6 años con una desviación estándar de 11,01 lo cual nos indica que tenemos una distribución sesgada a la derecha ya que la media es mayor a la mediana y los límites de años de trabajo van desde 2 años hasta 37 años.

4.2 FRECUENCIA DE INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE EN LAS MUESTRAS OBTENIDAS DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN.

Tabla 8 Porcentaje de Infección tuberculosa latente en el personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín

RESULTADOS	N	%
Positivos	16	32 %
Negativos	34	68%
Total	50	100%

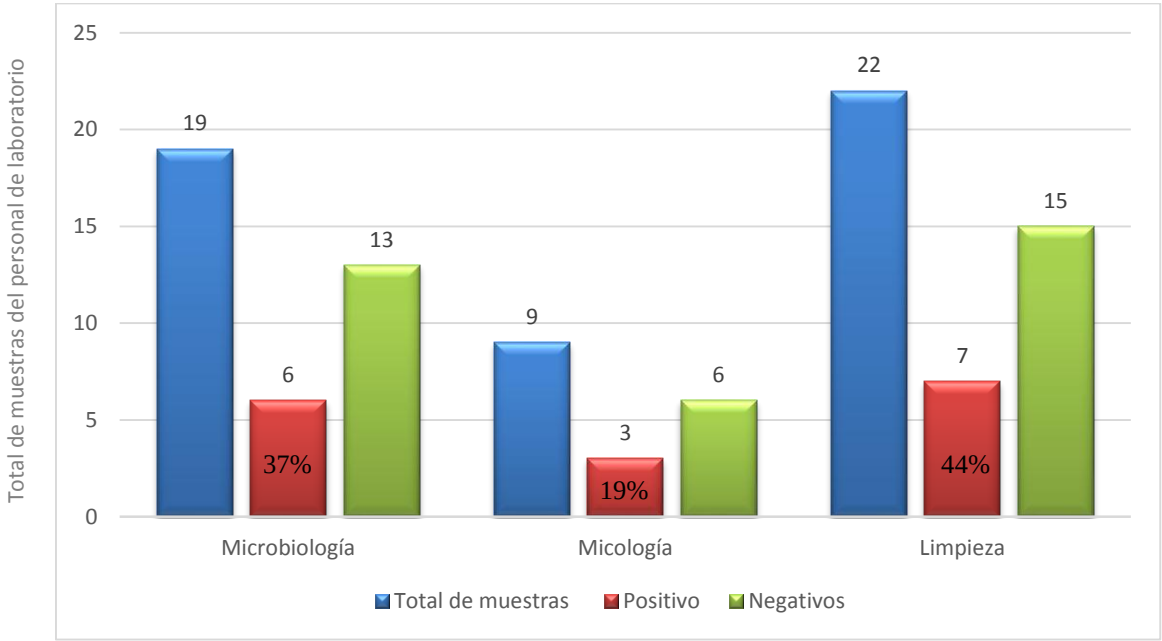
Donde N es el total de muestras del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín.

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

Del total de 50 muestras del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín cuyas muestras sanguíneas fueron analizadas mediante la prueba de QuantiFERON®-TB Gold se obtuvo como resultado 16 muestras positivas para infección tuberculosa latente que corresponde al 32%, y 34 muestras obtuvieron un resultado negativo que corresponde al 68%, como se indica en el la tabla 8.

4.3 RESULTADOS POSITIVOS DE QuantiFERON®-TB Gold DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN POR ÁREA DE TRABAJO

Gráfico 1 Resultados de las muestras del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según cada área



Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

En el gráfico 1 constan los resultados positivos clasificados por el área de trabajo donde se desempeña el personal de salud. El porcentaje más alto de positivos se encontró en el grupo de limpieza, el 44%, seguido por el personal que trabaja en el laboratorio de microbiología, con el 37% y finalmente un 19% para el personal del área de micología.

Tabla 9 Frecuencia positivos del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín de acuerdo al área de trabajo

Área	Total de Positivos/total de personal estudiado	(%)
Microbiología	6/19	37
Micología	3/9	19
Limpieza	7/22	44

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

Observamos que la mayor cantidad de personal contagiado encontramos en el área de limpieza con un 44 %, esto puede deberse a que este grupo de trabajadores no reciben las capacitaciones adecuadas para el manejo de desecho de muestras contaminadas y uso de EPI's. En segundo plano tenemos al área de microbiología con el 37% y el menor porcentaje de contagiados encontramos en micología con 19%.

4.4 RESULTADOS DE QuantiFERON®-TB Gold DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN POR RANGOS DE EDAD

Tabla 10 Total de positivos en el personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín según grupo etario

Edades	Total Positivos/total de personal estudiado	%
25-35 años	6/19	37
36-45 años	1/9	6
46-55 años	6/14	38
56-65 años	3/8	19

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

De acuerdo a los rangos de edad establecidos para el estudio, los porcentajes mayores de positivos se encuentran en el rango de 46 a 55 años con el 38% debido a que a mayor edad mayor riego de contagio.

4.5 RESULTADOS DE QuantiFERON®-TB Gold DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN POR AÑOS DE TRABAJO.

Tabla 11 Total de positivos de las muestras del personal de laboratorio del Hospital Carlos Andrade Marín según los años de trabajo.

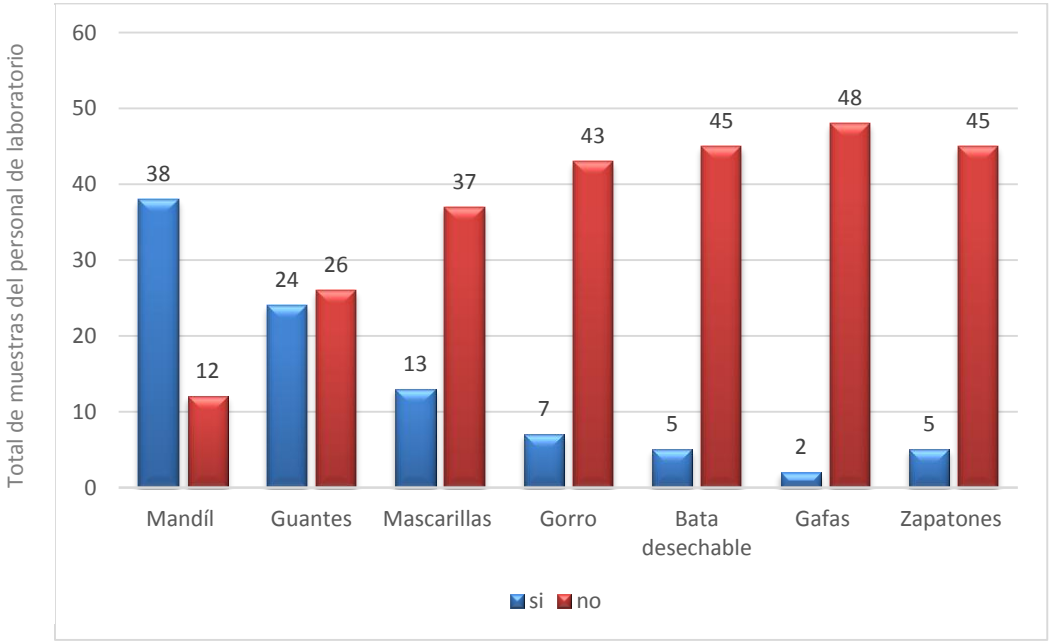
Años de trabajo	Total QFT Positivos/total de personal estudiado	%
1-10 años	6/26	37
11-20 años	2/6	13
21-30 años	7/14	44
31-40 años	1/4	6

Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

Al distribuir a la muestra por años de trabajo en la Tabla 11, los porcentajes de positivos más altos se obtuvieron en el personal que labora de 21 y 30 años, con el 44% ya que es el personal que más tiempo lleva trabajando y tiene mayor riesgo de contagio.

4.6 USO DE EPIS POR EL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO DEL HCAM

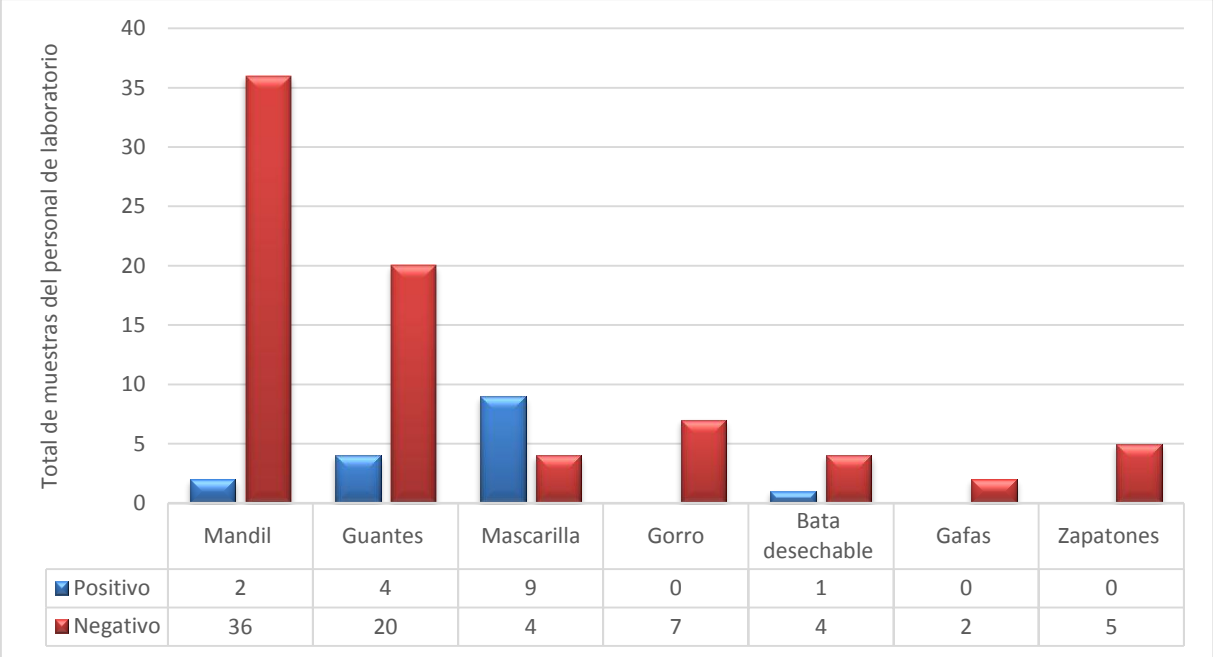
Gráfico 2 Uso de EPIs por el personal del laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín



Autor: Investigadoras
Fuente: Encuestas

De acuerdo a la encuesta realizada al personal de salud logramos recopilar información acerca del uso de EPIS al momento de trabajar, podemos observar que la mayoría del personal no usa todos los EPIS adecuados al momento de trabajar especialmente la mascarilla ya que es muy importante para evitar el contagio de *M. tuberculosis* que se expande libremente por el ambiente.

Gráfico 3 Uso de EPIs / Resultados del personal de laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín.



Autor: Investigadoras
Fuente: HCAM

Observamos que la mayor cantidad de positivos se encuentran en el personal que utiliza mascarilla a pesar de ser un equipo de protección no es el adecuado para el manejo de muestras contaminadas ya que el bacilo puede atravesar la barrera protectora es por esto que el Ministerio de Salud recomienda el uso de la mascarilla N95.

DISCUSIÓN

Aproximadamente una de cada tres personas está infectada por el bacillo de Koch, esto se debe a su mecanismo de transmisión por vía aérea y de persona a persona, a su capacidad de desarrollar una enfermedad crónica, sobre todo en personas con VIH/SIDA y recientemente, a su capacidad de desarrollar resistencia a las drogas anti-TB disponibles, además es considera como una enfermedad transmisible en el medio hospitalario (CDC, 2016). Los factores antes mencionados están asociados con una débil estrategia del tipo preventivo liderada por el Sistema Nacional de Salud convirtiendo a la tuberculosis en una de las más importantes amenazas a nivel nacional e internacional. En nuestro país no existe evidencia de infección tuberculosa latente en el personal de salud que nos permita relacionar con los resultados obtenidos. (OMS, 2014)

En el Ecuador, la tuberculosis está considerada como una enfermedad ocupacional para el personal de salud de acuerdo a la resolución N°. C.D. 513, del REGLAMENTO DEL SEGURO GENERAL DE RIESGOS DEL TRABAJO" IESS, en el literal 1.3 Agentes biológicos y enfermedades infecciosas o parasitarias.

Una de las zonas de mayor exposición es el laboratorio clínico son en especial las áreas de microbiología y micología, por todas las actividades que se realizan en este; desde la recepción de muestras hasta la eliminación de estas o de sus cultivos y material utilizado. (Handle, 2011)

La probabilidad de transmisión de la tuberculosis es directamente proporcional al número de pacientes con tuberculosis que hayan estado en contacto con el trabajador, y en la cual también influye la infraestructura del laboratorio, la cual debe contar con ventilación, regulación del flujo de aire y que se encuentre apartado de las otras áreas. (Handle, 2011)

El estudio se enfocó en el personal de laboratorio del HCAM, debido a que en este hospital se manejan varios tipos de muestras biológicas de pacientes con tuberculosis. Buscamos la frecuencia de personal contagiado con tuberculosis, y relacionamos varios aspectos como: área, edad, y años de servicio, tomando en cuenta que cada área tiene diferentes funciones.

Se utilizó QuantiFERON®-TB Gold para la detección de tuberculosis latente, el cual está basado en la técnica ELISA, esta es una prueba de diagnóstico *in vitro*, además ofrece algunas ventajas sobre la prueba de la tuberculina, y una de estas es que no existen reacciones cruzadas en muestras de individuos vacunados con la BCG, también se evita subjetividad en la interpretación del resultado, además se cuenta con un control positivo que ayuda a la hora de interpretar los resultados, esta técnica tiene varios estudios clínicos que demuestran que existe una especificidad del 90% y una sensibilidad del 89%, además se confirmó, lo que significa que es un método confiable para el estudio. (Rodríguez, 2014)

QuantiFERON®-TB Gold utiliza una mezcla de los antígenos peptídicos que imitan la acción de las proteínas ESAT-6, CFP-10 y TB7.7 que estimulan la producción de INF-γ en las células T, estas proteínas no se encuentran en personas no infectadas, ni en personas que han sido vacunas con la BCG. (Rodríguez, 2014)

En el presente trabajo se analizaron 50 muestras de personal de salud del laboratorio del HCAM para la detección de infección tuberculosa latente mediante IGRAs en las áreas de microbiología (19), micología (9) y limpieza (22), de las cuales nos dieron como resultados para microbiología (6 positivos y 13 negativos), para micología (3 positivos y 6 negativos), y para limpieza (7 positivos y 15 negativos), dando un total de 16 positivas con un porcentaje del 32% y 34 negativas con un porcentaje del 68%.

Nuestros resultados muestran que existe un alto riesgo de contagio de tuberculosis en trabajadores de salud, tomando en cuenta la variable edad obtuvimos que existe una mayor cantidad de individuos infectados entre los 50 años que corresponde aproximadamente a un 38%, lo cual indica que a mayor edad mayor probabilidad de contagio, esto se puede deber a que con la edad el sistema inmune va disminuyendo y es más probable el contraer una infección.

Con respecto a los años de servicio encontramos que la mayoría de infectados están en un rango entre los 21-30 años de servicio, con un porcentaje del 44%, esto se correlaciona con la edad puesto a que, a más años de servicio mayor riesgo de contagio.

El presente estudio tiene varias limitaciones y solo nos permitió estimar la frecuencia de contagio en el grupo seleccionado y relacionarlo con las variables establecidas. La falta de estudios acerca del contagio de tuberculosis en trabajadores de salud en nuestro país, nos impide conocer apropiadamente el riesgo de contagio. Tampoco fue posible conseguir información apropiada sobre las condiciones de trabajo, como por ejemplo el Manual de Procedimientos que se lleva en cada área.

Debido a la falta de estudios acerca de la tuberculosis en personal de salud en nuestro país, no podemos establecer el riesgo de contagio del personal que labora en las diferentes áreas de salud. Sin embargo, realizamos el análisis de resultados y obtuvimos la frecuencia de contagio en la muestra seleccionada, lo cual nos puede ayudar a estimar el porcentaje de contagio de tuberculosis en las áreas del laboratorio clínico. Los resultados de este estudio indican que aún, quedan problemas por resolver para disminuir el riesgo de tuberculosis ocupacional en nuestro medio. Teniendo en cuenta los estudios realizados en varios países sobre QuantiFERON®-TB Gold se podría sustituir la PPD por esta prueba, ya que se ha comprobado que existen menos falsos positivos, debido a que en la PPD existe reacción cruzada en las personas que han sido vacunas con la BCG, en cambio con QuantiFERON®-TB Gold no existe esta reacción. El único inconveniente para reemplazar el QuantiFERON®-TB Gold por la PPD es el costo de la prueba. (Rodríguez, 2014).

Una de las prioridades del MSP es la prevención y control de la tuberculosis, para ello ha desarrollado la Estrategia Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis (ECTB), que asegura la detección, diagnóstico y tratamiento gratuito en todos los establecimientos de salud pública del país, además trabajan en la actualización de la guía Práctica Clínica para Manejo Clínico de Tuberculosis y elaboración de planes de control de infecciones en establecimientos de salud. ((MSP, 2015)

De acuerdo a la OMS la infección latente por tuberculosis puede ser tratada durante 6 meses (profilaxis antituberculosa). Este tratamiento preventivo es eficaz y puede reducir en un 60% el riesgo de contraer la tuberculosis activa a corto plazo. (OMS, 2016)

Es importante el diagnóstico temprano tuberculosis para poder realizar una profilaxis en pacientes que evidencian infección tuberculosa latente, en este caso en el personal de laboratorio que dieron resultados positivos para la prueba de QuantiFERON®-TB Gold para de esta manera prevenir el desarrollo de tuberculosis activa y la propagación de la infección a otros trabajadores de salud. De acuerdo a la normativa vigente en el MSP el medicamento de elección para profilaxis de tuberculosis es isoniazida. (MSP, 2016). La profilaxis garantizaría la prevención de la reactivación en personas con infección latente ya que el riesgo de reactivación aumenta con la edad y con otras condiciones médicas específicas.

CONCLUSIONES

Se obtuvo una frecuencia de ITBL correspondiente al 32% (n=16) de las 50 muestras analizadas lo cual se constituye en una evidencia inicial para que los departamentos de Salud Ocupacional consideren a la tuberculosis como enfermedad ocupacional en diversos profesionales especialmente en los trabajadores de salud. La frecuencia de ITBL en personal de laboratorio de microbiología fue de 37% (n=6) mientras que la del personal de limpieza fue de 44% (n=7) y de personal de micología de 19% (n=3).

En cuanto a las áreas de servicio, 37% microbiología, 44% limpieza y 19% micología, se obtuvo que existe un riesgo más alto para el personal de limpieza ya que se obtuvo un 44% de contagiados en comparación con las otras áreas que obtuvieron para microbiología un 37% y para micología un 19%, esto puede deberse a que el personal de limpieza no tiene la capacitación adecuada para el manejo de desechos contaminados, y corren más riesgo de contagio si no se lleva el control adecuado

De acuerdo a la encuesta realizada al personal de salud, pudimos observar que la mayoría del personal no utiliza los EPI´s adecuados un 38% del personal usa mandil, un 24% usa guantes y un 13% usa mascarillas en cada área al momento de manipular las muestras o al desecharlas, también se observó que existe la ausencia de procedimientos de bioseguridad aplicables para minimizar el riesgo de contagio.

En casi todos los casos, los trabajadores del laboratorio acostumbran a salir con la misma ropa de trabajo, y estos tampoco tienen un protocolo para la limpieza de la misma, por tanto van llevando microorganismos a donde vayan.

Se relacionaron los resultados obtenidos y observamos que existe una mayor frecuencia de contagio en el personal que labora en el área de limpieza, seguido de microbiología y finalmente micología, también se obtuvo que en el rango de edad entre los 45-55 años existe la mayor parte de contagiados y con respecto a los años de servicio se obtuvo el mayor porcentaje de resultados positivos en el rango de los 21-30 años de servicio.

En conclusión, las técnicas basadas en la producción de INF-γ son un gran avance en la detección de infección tuberculosa latente, la cual nos ayuda como profilaxis antituberculosa, reduciendo el riesgo del desarrollo a una enfermedad tuberculosa.

La importancia de nuestro trabajo es la prevención de la enfermedad tuberculosa, de modo que exista un cambio y control de las medidas preventivas para el contagio de la TB, ya que si se sigue careciendo de medidas preventivas, esta enfermedad que es curable no podrá erradicarse.

Además se debe considerar que se necesita mejorar el sistema de salud en los servicios preventivos para la detección temprana en el personal de salud, para brindar un adecuado seguimiento a los casos sospechosos, ya que se ha evidenciado que en otros países esto ha disminuido el contagio. (OMS, 2014).

RECOMENDACIONES

Se debe enfrentar el problema de la TB en el personal de salud, puesto que tanto las condiciones del ambiente hospitalario sumadas al no uso de medidas de bioseguridad, nos llevarán a que el número de casos de ITBL continúe elevándose. Por lo tanto se sugiere mayor monitoreo y control de las buenas prácticas de laboratorio por parte del personal de salud, y de las medidas que debe ejecutar el propio hospital para protección y disminución del riesgo de contraer tuberculosis.

Para disminuir este riesgo deben aplicarse una serie de medidas, de infraestructura y de protección del personal, las que son de lenta implementación en escenarios con escasez de recursos económicos. Varias de ellas están contempladas en el Programa Nacional de TB y en el Manual de Normas y Procedimientos para el control de la TB.

Se recomienda elaborar un manual de bioseguridad para cada área de laboratorio, incluyendo al área de limpieza para el manejo y procesamiento de muestras contaminadas, así de esta manera se lograría evitar el contagio de TB en el medio hospitalario.

Se debería realizar estrategias de salud ocupacional en cada hospital y centro de salud para controlar los procedimientos de bioseguridad que existen en el laboratorio en el cual involucren a todo el personal incluyendo a los estudiantes y rotantes en cada servicio, además se debería establecer las acciones a seguir en caso de contagio y poder minimizar la propagación en las demás áreas.

Se debería tener una ventilación adecuada a través de ventanas en cada área de trabajo, que permita el flujo natural de aire; en los lugares donde no sea posible se recomienda la instalación de sistemas de ventilación.

Se recomienda el uso de respiradores N95 por parte del personal de salud en el laboratorio clínico en casos de toma de muestras de esputo, realización de broncoscopías u otros procedimientos y actividades de limpieza.

El personal de salud que labora en las áreas de mayor riesgo debería realizarse una prueba de QUANTIFERON®-TB Gold al menos cada año para descartar una infección tuberculosa latente ITBL.

Se recomienda la detección precoz y tratamiento oportuno de los trabajadores de salud con casos de TB para disminuir el riesgo de transmisión de *M. tuberculosis* dentro de los establecimientos de salud, hacia los demás trabajadores de salud, visitas o acompañantes.

Para el caso de los trabajadores con pruebas de QUANTIFERON®-TB Gold positivas, se recomienda que los departamentos de Salud y Seguridad Ocupacional de cada institución sigan un régimen de vigilancia y de ser oportuno, empezar con un tratamiento profiláctico con isoniazida.

BIBLIOGRAFÍA

Agudelo, C. A. (2012). Nuevos métodos para el diagnóstico de la tuberculosis. *SCIELO*, 349-351.

Aguilar, R. (04 de Julio de 2008). Obtenido de http://hgculiacan.com/revistahgc/archivos/Rev6%20Art%203%20Detecci%C3%B3n%20de%20mycrobacterium.pdf

Baussano, I. (2011). Tuberculosis among Health Care Workers. *Emerg Infect Diseases*, 488-494.

Cascante, J. (2010). *SCIELO*. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272007004400005

Caterina Zanetti, M. P. (2012). Outbreak of Transient Conversions of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test in Laboratory Health Care Worker Screenings. *Clinical and Vaccine Immunology*, 954 -960.

CDC. (2016). *Tuberculosis (TB)*. Obtenido de http://www.cdc.gov/tb/esp/topic/basics/default.htm

Fica, A. (2010). Tuberculosis en el personal de salud del Servicio de Salud Metropolitano Sur de Santiago, Chile. *Revista Chilena de Infectologia*, 34-38.

Garcia-Gasalla, M. (2010). Valor de QuantiFERON-TB Gold Test in Tube en el diagno´ stico. *Enfermedades infecciosas y Microbiologia clinica*, 685-689.

Gerald H. Mazurek, M. (2011). *Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Test for Diagnosing Latent Mycobacterium tuberculosis Infection*. Recuperado el 01 de MArzo de 2015, de http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5202a2.htm

Gerald H. Mazurek, M. J. (2010). Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect Mycobacterium tuberculosis Infection United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1-25.

Guerrero, M. I. (2006). Obtenido de file:///C:/Users/User/Documents/tesis/detecccion%20de%20micobacterium%20tuberculosis%20por%20metodos%20moleculares.pdf

Guillén, M. A. (Junio de 2011). *Archivos de Bronconeumologia*. Recuperado el 01 de Marzo de 2015, de Avances en el diagnóstico de la infección tuberculosa: http://www.archbronconeumol.org/es/avances-el-diagnostico-infeccion-tuberculosa/articulo/90027939/

Handle. (2011). *HELVIA*. Obtenido de http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/409/13078835.pdf?sequence=1

InDRE. (07 de Abril de 2011). *Dirección General de Epidemiología*. Obtenido de http://www.indre.salud.gob.mx/interior/lab_micobacterias.html

International, I. (2009). Obtenido de http://www.smssupportgroup.co.uk/PDFs/Neurotransmitters_and_GABA/GAD65-Ab%20ELISA%20Enzyme%20immunassay.pdf

Ling, D. I. (2008). Rapid diagnostic of drug-resistant TB using line probe assays. *Experts Reviews*, 583-588.

Madhukar Pai, M. P. (03 de Febrero de 2015). *Interferon-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection*. Recuperado el 01 de Marzo de 2015, de http://www.uptodate.com/contents/interferon-gamma-release-assays-for-diagnosis-of-latent-tuberculosis-infection#H4850512

Madhukar Pai, M. P., Alice Zwerling, M., & and Dick Menzies, M. M. (2009). Systematic Review: T-Cell–based Assays for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: An Update. *Annals of Internal Medicine*, 177-185.

Mendoza, A. (2012). TUBERCULOSIS COMO ENFERMEDAD OCUPACIONAL. *NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH*, 232-236.

MSc, M. I. (2006). Obtenido de file:///C:/Users/User/Documents/tesis/detecccion%20de%20micobacterium%20tuberculosis%20por%20metodos%20moleculares.pdf

MSP. (24 de Junio de 2013). *Control de Infecciones en la lucha contra la TB y TB-DR*. Guayaquil, Ecuador.

MSP. (24 de Junio de 2013). Investigación y Control de Contactos. Guayaquil.

MSP. (2013). TUBERCULOSIS Y DETERMINANTES SOCIALES. Quito, Ecuador.

MSP. (2015). Obtenido de http://www.salud.gob.ec/dia-mundial-de-la-tuberculosis-el-msp-trabaja-con-exito-en-prevencion-y-control-de-la-enfermedad/

MSP. (2016). Obtenido de http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/OPS-libro-prevencion-tuberculosis.pdf

OMS. (Marzo de 2014). Obtenido de http://www.who.int/features/factfiles/tuberculosis/es/

OMS. (Mazo de 2014). Obtenido de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/

OMS. (2016). Obtenido de http://www.who.int/tb/challenges/hiv/talking_points/es/index5.html

ORGENTEC. (2008). *ORG 534A Anti-Gliadin IgA.* Germany.

Ortiz, B.-F. M. (2013). DIAGNOSTICO DE TUBERULOSIS. *Ministerio de Salud Publica*. Quito, Ecuador.

OSMAN. (2013). *Observatorio de Salud y Medio Ambiente*. Obtenido de http://www.osman.es/ficha/12958

P. D. O. Davies, M. P. (2008). The diagnosis and misdiagnosis of tuberculosis. *STATE OF THE ART SERIES TUBERCULOSIS*, 1226-1234.

PAI. (2012). *Programa ampliado de inmunizaciones* . Obtenido de Ministerio de Salud Pública: http://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/programas/folleto_normas.pdf

Paz, N. (2011). Evaluación de la baciloscopia, cultivo y reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. *KASMERA*, 33-38.

QIAGEN, C. (Julio de 2013). *Quantiferon*. Recuperado el 13 de Octubre de 2015, de Prospecto de QuantiFERON-TB Gold (QFT) ELISA: http://www.quantiferon.com/irm/content/PI/QFT/2PK/ES.pdf

Ramazanzadeh, R. (2016). *Indian Journal of Medical Microbiology*. Obtenido de http://www.ijmm.org/searchresult.asp?search=tuberculosis&author=&journal=X&but_search=Search&entries=10&pg=1&s=0

Rodríguez, H. (2014). *Diagnóstico de la tuberculosis en pediatría*. Obtenido de Asociación de patología infecciosa: http://www.aepap.org/grupos/grupo-de-patologiainfecciosa/contenido/documentos]

Zanetti, C. (2012). Outbreak of Transient Conversions of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test in Laboratory Health Care Worker Screenings. *Clinical and Vaccine Immunology*, 954 -960.

ANEXOS

Anexo 1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Estimado paciente:

Le informamos el desarrollo de un estudio de investigación que llevamos a cabo sobre "Detección de infección tuberculosa latente (ITBL) en personal de salud perteneciente al laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín expuesto a *Mycobacterium tuberculosis* mediante IGRA's en el año 2016".

El objetivo del estudio es detectar tuberculosis latente por Quantiferon-TB, en personal de laboratorio del Hospital Carlos Andrade Marín, que están expuestos a *Mycobacterium tuberculosis*.

Por este motivo necesitamos su colaboración, para conocer los resultados y con ellos intentar estimar un porcentaje del personal que puede tener tuberculosis latente.

Gracias por su colaboración.

Atentamente el equipo investigador

Oleas Evelyn y Páez Tatiana

Sr/a……
.Con C.I……., acepto participar en el estudio de investigación de sobre "Detección de infección tuberculosa latente (ITBL) en personal de salud perteneciente al laboratorio clínico del Hospital Carlos Andrade Marín expuesto a *Mycobacterium tuberculosis* mediante IGRA's en el año 2016".

Manifiesto que tras haber leído este documento, me considero adecuadamente informado/a y haber aclarado todas mis dudas con el personal del equipo investigador.

Por lo tanto, doy mi consentimiento voluntario para realizar las pruebas y preguntas que s eme tengas que hacer para dicho estudio.

Quito, ……

FIRMA DEL PACIENTE FIRMA DE LA ENCARGADA

Anexo 2 AUTORIZACIÓN DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN EL HCAM

Pontificia Universidad Católica del

Escuela de Bioanálisis

E-MAIL: bioanálisis@puce.edu.ec

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca

Apartado postal 17-01-2184

Quito, 10 de mayo del 2016

Doctor
Fernando Romero
Director del Laboratorio Clínico
HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN
Quito.

De mi consideración:

Por medio de la presente me dirijo a usted para solicitar la autorización respectiva para el acceso y la recolección de muestras y datos del personal de laboratorio que laboran en las áreas de Microbiología, Micología y limpieza, las cuales serán usadas para el desarrollo del trabajo de disertación previo a la obtención del título de Bioquímico Clínico en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, presentado por las Srtas. Oleas Ayala Evelyn Elizabeth con CI: 1719695403 y Páez Orbe Tatiana Nathaly con CI: 0401555248, estudiantes de la Escuela de Bioanálisis-PUCE, titulado "Detección de tuberculosis latente en personal de laboratorio clínico expuesto a *Mycobacterium tuberculosis* mediante I.G.R.A.S. que laboran en el hospital Carlos Andrade Marín, en el año 2016."

Esperando una respuesta favorable, anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,

M.S.c. Óscar Puente V.
Docente (TC)- Escuela de Bioanálisis
Director de la disertación

Adj.(tres): Plan de disertación, copia de aprobación del plan-Escuela de Bioanálisis y carta de confidencialidad.

Anexo 3 FORMULARIO DE DATOS DEL PERSONAL DE SALUD

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EL PERSONAL DE LABORATORIO

Apellidos y nombres:_____ Edad:_____

Teléfono:_____ Fecha:_____

Hospital:_____ Área o servicio:_____

Años de trabajo:_____

Uso de EPIs:_____ Especifique:

Mandil	☐
Mascarilla	☐
Bata desechable	☐
Gafas	☐
Guantes	☐
Gorro	☐
Zapatones	☐

Anexo 4 ANEXO 4: INSERTO PROCEDIMIENTO QUANTIFERON-TB GOLD

Fase 1: incubación de la sangre y obtención de plasma

Materiales suministrados

- Tubos de recogida de sangre para QFT (consulte el apartado 3).

Materiales necesarios (no suministrados)

- Consulte el apartado 3.

Procedimiento

1. **Si la sangre no se coloca en el incubador inmediatamente después de su obtención, vuelva a mezclar los tubos invirtiéndolos 10 veces inmediatamente antes de la incubación.**
2. **Incube los tubos EN POSICIÓN VERTICAL a 37 °C ± 1 °C por un periodo comprendido entre 16 y 24 horas. El incubador no requiere CO_2 ni humidificación.**
3. **Una vez finalizada la incubación a 37 °C, los tubos de recogida de sangre pueden conservarse entre 4 y 27 °C durante 3 días antes de centrifugarlos.**
4. **Después de la incubación de los tubos a 37 °C, centrifúguelos durante 15 minutos a una velocidad comprendida entre 2.000 y 3.000 RCF (g) para obtener el plasma. El tapón de gelatina separa las células del plasma. Si esto no ocurre, vuelva a centrifugar los tubos a mayor velocidad.**
   - Es posible obtener el plasma sin centrifugar, pero es necesario extremar la precaución al máximo para retirar el plasma sin alterar las células.
5. **Las muestras de plasma solo se deben extraer con ayuda de una pipeta.**
   - **Después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de extraer la muestra. Tenga cuidado en todo momento de no interferir con el material de la superficie del gel.**
   - Las muestras de plasma pueden cargarse directamente desde los tubos de recogida de sangre centrifugados a la placa ELISA para QFT, incluso si se utilizan equipos ELISA automatizados.
   - Las muestras de plasma pueden almacenarse durante 28 días a una temperatura entre 2 y 8 °C o, después de la extracción del plasma, por debajo de –20 °C durante periodos más largos.
   - Se necesita un volumen mínimo de 150 µl de plasma para garantizar la idoneidad de las muestras.

Fase 2: ELISA para el estándar IFN-γ humano

Materiales suministrados

- Kit QFT ELISA (consulte el apartado 3).

Materiales necesarios pero no suministrados

- Consulte el apartado 3.

Procedimiento

1. **Todas las muestras de plasma y los reactivos, excepto el conjugado 100X concentrado, deben estar a temperatura ambiente (22 °C ± 5 °C) antes de ser utilizados. Espere por lo menos 60 minutos para permitir el equilibrado.**
2. **Retire las tiras innecesarias del bastidor, vuelva a cerrar la bolsita de aluminio y colóquela de nuevo en la nevera donde quedará almacenada hasta que se necesite.**

   Deje por lo menos 1 tira para los estándares del QFT y tiras suficientes para el número de sujetos que se quieran diagnosticar (consulte las ilustraciones 2A y 2B para conocer los formatos de 3 y 2 tubos, respectivamente). Después, guarde el bastidor y la tapa para usarlos con el resto de las tiras.
3. **Reconstituya 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 de reconstituir el estándar con el volumen indicado se obtiene 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.

   Utilice el estándar reconstituido del kit para obtener una serie de dilución 1-4 de IFN-γ en diluyente verde (GD) (consulte la ilustración 1). El S1 (estándar 1) contiene 4 UI/ml, el S2 (estándar 2) contiene 1 UI/ml, el S3 (estándar 3) contiene 0,25 UI/ml y el S4 (estándar 4) contiene 0 UI/ml (solamente GD). Los estándares deben analizarse al menos por duplicado.

Procedimiento recomendado para estándares duplicados	Procedimiento recomendado para estándares triplicados
a. Etiquete 4 tubos como "S1", "S2", "S3" y "S4".	a. Etiquete 4 tubos como "S1", "S2", "S3" y "S4".
b. Añada **150 µl** de GD a S1, S2, S3 y S4.	b. Añada **150 µl** de GD a S1.
c. Añada **150 µl** del estándar del kit a S1 y mézclelo bien.	c. Añada **210 µl** de GD a S2, S3 y S4.
d. Transfiera **50 µl** de S1 a S2 y mezcle bien.	d. Añada **150 µl** del estándar del kit a S1 y mezcle bien.
e. Transfiera **50 µl** de S2 a S3 y mezcle bien.	e. Transfiera **70 µl** de S1 a S2 y mezcle bien.
f. **GD por sí solo** sirve como estándar cero (S4).	f. Transfiera **70 µl** de S2 a S3 y mezcle bien.
	g. **GD por sí solo** sirve como estándar cero (S4).

- Utilice exclusivamente diluyente verde.

5. **Mezcle bien las muestras de plasma procedentes de los tubos de recogida de sangre que hayan sido congeladas o almacenadas durante más de 24 horas antes del ensayo antes de verterlas en el pocillo ELISA.**
   - Si las muestras de plasma se añaden directamente desde los tubos para QFT centrifugados, evite mezclar el plasma.
6. **Añada 50 µl de conjugado recién preparado listo para usar a los pocillos de ELISA mediante una pipeta multicanal.**
7. **Añada 50 µl de muestras de plasma de prueba a los pocillos correspondientes usando una pipeta multicanal (consulte el siguiente esquema de distribución recomendada para la placa en la página 16, ilustraciones 2A y 2B). Para terminar, añada 50 µl a cada uno de los estándares 1 a 4.**

	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

Ilustración 2A. Distribución recomendada de muestras para los tubos de medición de nulos, antígeno TB y mitógeno (28 ensayos por placa).

- S1 (estándar 1), S2 (estándar 2), S3 (estándar 3), S4 (estándar 4).
- 1N (muestra 1. plasma de blanco), 1A (muestra 1. plasma de antígeno TB), 1M (muestra 1. plasma de mitógeno)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	5N	9N	13N	17N	*S1*	*S1*	25N	29N	33N	37N	41N
B	1A	5A	9A	13A	17A	*S2*	*S2*	25A	29A	33A	37A	41A
C	2N	6N	10N	14N	18N	*S3*	*S3*	26N	30N	34N	38N	42N
D	2A	6A	10A	14A	18A	*S4*	*S4*	26A	30A	34A	38A	42A
E	3N	7N	11N	15N	19N	21N	23N	27N	31N	35N	39N	43N
F	3A	7A	11A	15A	19A	21A	23A	27A	31A	35A	39A	43A
G	4N	8N	12N	16N	20N	22N	24N	28N	32N	36N	40N	44N
H	4A	8A	12A	16A	20A	22A	24A	28A	32A	36A	40A	44A

Ilustración 2B. Distribución recomendada de muestras para los tubos de medición de nulos y antígeno TB (44 ensayos por placa).

Anexo 5 GALERÍA DE FOTOS DE LAS AUTORAS



Autor: Cellestis
Fuente: QUIAGEN, 2015

Figura 5 KIT QuantiFERON®-TB Gold



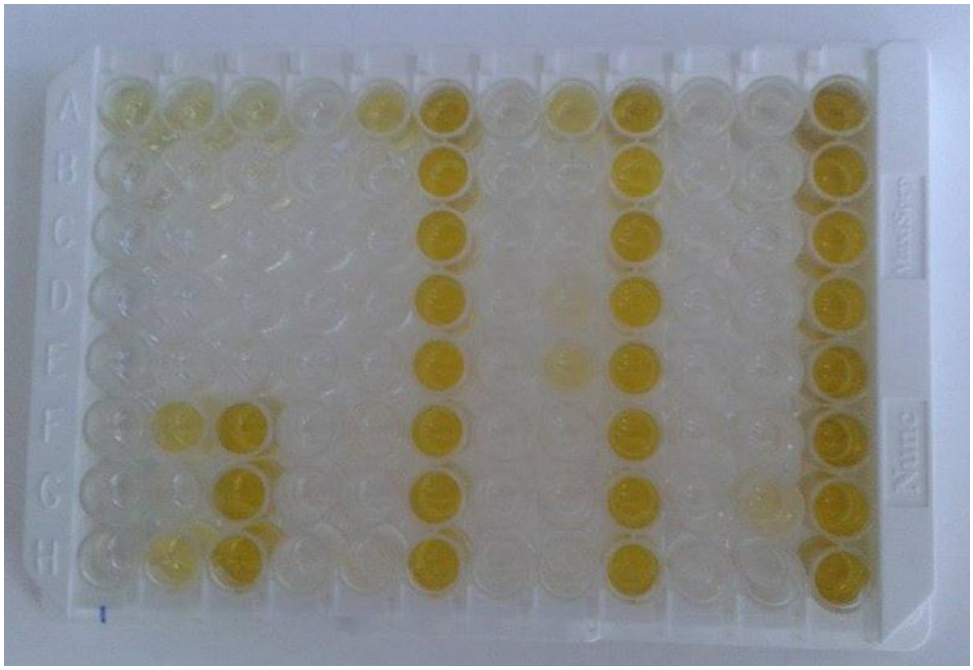
Autor: Investigadoras
Fuente: QuantiFERON®-TB Gold, 2016

Figura 6 TUBOS NIL, TB ANTÍGENO Y MITÓGENO DEL KIT QuantiFERON®-TB



Autor: Investigadoras
Fuente: DISerLAB, 2016

Figura 7 MUESTRAS DEL PERSONAL DE LABORATORIO CLÍNICO



Autor: Investigadoras
Fuente: DISerLAB, 2016

Figura 8 PLACA ELISA



Equipo: Humanreader plus Eq-DIS-40
Fuente: DISerLAB, 2016

Figura 9 LECTOR DE ELISA HUMANREADER PLUS Eq-DIS-40