

Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Académica Profesional de Tecnología Médica

Comparacion del huevo de pata y el huevo de gallina en la preparacion del medio Ogawa para disminuir el tiempo promedio de crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis*

Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Tecnología Médica en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Presentado por:

Rosas Paredes, Antino Rogelio Guevara Pérez, Lloy Italo

Asesor: Dr. Benites Azabache Juan Carlos

Código ORCID: 0000-0001-7632-7593

Lima – Perú 2022

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a nuestro señor Jesús por darnos fuerza y no desfallecer en el intento y a mi familia por su gran apoyo y ánimos para poder culminar esta meta que nos propusimos.

AGRADECIMIENTO

Dar las gracias a nuestro asesor por su paciencia, buenos consejos para poder culminar nuestra tesis y a nuestro señor Jesús por el regalo que es amanecer y ver a nuestra familia cada día.

ÍNDICE

DEDIC	CATC	DRIA	ii
AGRA	DEC	IMIENTO	iii
ÍNDIC	E		iv
RESU	MEN	l	vii
ABST	RAC ⁻	Т	viii
CAPÍT	ULO	I. EL PROBLEMA	9
1.1	Pla	anteamiento del Problema	9
1.2	Fo	rmulación del Problema	10
1.3	Jus	stificación del Problema	10
1.4	Ob	jetivos	11
1.	4.1	Objetivo general	11
1.	4.2	Objetivos específicos	11
CAPÍT	ULO	II. MARCO TEÓRICO	12
2.1	An	tecedentes	12
2.2	Ва	se teórica	14
2.3	Те	rminología Medica	23
2.4	Hip	oótesis	23
2.5	Va	riables	24
2.	5.1	Variable 1: Crecimiento del Mycobacterium tuberculosis	24
2.	5.2	Variable 2: Medio de Cultivo Ogawa	24
CAPÍT	ULO	III. DISEÑO METODOLÓGICO	25
3.1	Tip	oo y nivel de investigación	25
3.2	Ро	blación y muestra	25
3.:	2.1	Población	25
3.	2.2	Muestra	25
3.	2.3	Muestreo	25
3	24	Unidad de Análisis	25

	3.2	.5 Criterios de inclusión	25
	3.2	.6 Criterios de exclusión	25
	3.3	Técnicas e Instrumentos de recolección de datos	26
	3.3	.1 Procedimiento	26
	3.3	.2 Técnica	27
	3.3	.3 Instrumento de recolección de datos	27
	3.4	Procesamiento de la información	28
	3.5	Aspectos éticos	28
C/	APÍTU	JLO IV. RESULTADOS Y DISCUSION	29
	4.1	Resultados	29
	4.2	Discusión	39
C/	APÍTU	JLO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
	5.1	Conclusiones	42
	5.2	Recomendaciones	43
RE	EFER	ENCIAS BIBILIOGRÁFICAS	44
ΑN	NEXC)S	48
	Anex	o 1. Matriz de consistencia	49
	Anex	o 2. Matriz de operacionalización de variables	51
	Anex	o 3. Ficha de recolección de datos	53
	Anex	o 4. Formatos de validación del instrumento	54
	Anex	o 5. Galería de imágenes	55
	Anex	o 6. Lectura de cultivos de BK	66
	Anex	o 7. Cuadro de lectura de colonias	75
	Anex	o 8. Relación de pacientes	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Edad promedio de los pacientes
Tabla 2. Distribución de los pacientes por sexo
Tabla 3. Aislamientos positivos del <i>M. tuberculosis</i> en los medios Ogawa con huevo
de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+ 31
Tabla 4. Comparación de cultivos contaminados de <i>M. tuberculosis</i> en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras
de esputo BK+
Tabla 5. Comparación de crecimiento de colonias de <i>M. tuberculosis</i> en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina en los días 10. 11 y 12.
Tabla 6. Comparación de crecimiento de colonias de <i>M. tuberculosis</i> en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 15 34
Tabla 7. Comparación del crecimiento de colonias de <i>M. tuberculosis</i> en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 30 35
Tabla 8. Comparación del crecimiento de colonias de <i>M. tuberculosis</i> en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 45 35
Tabla 9. Comparación del crecimiento de colonias de <i>M. tuberculosis</i> en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 60 36
Tabla 10. Promedio de crecimiento de colonias de M. tuberculosis en los medios
Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras
de esputo BK+

RESUMEN

Introducción: La tuberculosis en cualquiera de sus manifestaciones, en la actualidad, es sin duda uno de los problemas de salud pública más importante y la búsqueda de un método de diagnóstico rápido ha sido y es uno de los principales objetivos en muchas partes del mundo, sobre todo en países como el nuestro que presenta altas tasas de incidencia y cuya población más afectada no cuenta con los medios económicos para acceder a cualquiera de los medios de diagnóstico rápido existentes.

Objetivo: La finalidad del presente estudio fue evaluar el medio de cultivo Ogawa con el huevo de pata para el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis* comparando el tiempo de crecimiento de este medio y las características del crecimiento a los 15, 30, 45 y 60 días.

Metodología: Investigación de tipo descriptiva comparativa, se trabajaron con 50 muestras de pacientes asintomáticos respiratorios, pacientes de TBC (++, +++). Se excluyeron pacientes con tratamiento, pacientes paucibacilares, abandono y recaídas del tratamiento donde se empleó el método de cultivo Ogawa. Se determinó el crecimiento bacteriano en los medios de cultivo a los 15, 30, 45 y 60 días, así como el promedio del tiempo de crecimiento en este medio, usando huevo de pata y huevo de gallina.

Resultados: El tiempo promedio de crecimiento del *M. tuberculosis* en el medio Ogawa cuando se emplea huevo de pata fue de 17,3 días, mientras que, con el huevo de gallina se demoraron 23,6 días, con una diferencia significativa entre ambos promedios (p=0,000). El crecimiento de colonias en huevo de pata fue significativamente mayor que en huevo de gallina a los 15 días (p=0,002), a los 30 días (p=0,001), y a los 45 días (p=0,025). No se halló diferencia significativa en el crecimiento de colonias a los 60 días (p=0,215).

Conclusión: Se justifica el empleo del medio Ogawa con huevo de pata como una alternativa para el diagnóstico presuntivo del *Mycobacterium tuberculosis*.

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis in any of its manifestations, at present, is undoubtedly one of the most important public health problems and the search for a rapid diagnostic method has been and is one of the main objectives in many parts of the world. especially in countries like ours that have high incidence rates and whose most affected population does not have the financial means to access any of the existing rapid diagnostic means.

Objective: The purpose of this study was to evaluate the Ogawa culture medium with the duck egg for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*, comparing the growth time of this medium and the growth characteristics at 15, 30, 45 and 60 days.

Methodology: Comparative descriptive research, we worked with 50 samples of asymptomatic respiratory patients, patients with TBC (++, +++). Patients with treatment, paucibacillary patients, abandonment and relapses of treatment where the Ogawa culture method was used were excluded. Bacterial growth was determined in the culture media at 15, 30, 45 and 60 days, as well as the average growth time in this medium, using duck eggs and chicken eggs.

Results: The average time of growth of M. tuberculosis in the Ogawa medium when using duck egg was 17.3 days, while with the chicken egg it took 23.6 days, with a significant difference between both averages. (p=0.000). Colony growth in paw eggs was significantly higher than in chicken eggs at 15 days (p=0.002), 30 days (p=0.001), and 45 days (p=0.025). No significant difference was found in colony growth at 60 days (p=0.215).

Conclusion: The use of Ogawa medium with duck egg is justified as an alternative for the presumptive diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*.

CAPÍTULO I. EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema

Los avances a nivel mundial en torno a las estrategias de erradicación de la epidemia de tuberculosis proyectada para el año 2030, han evidenciado que el ritmo actual de cambio es insuficiente para lograr ello, ya que, a fines del año 2018, esta enfermedad fue responsable de un millón y medio de muertes, superando a enfermedades incurables como el VIH/Sida. Se estima que el ritmo de reducción de incidencia de la tuberculosis sólo alcanzó el 6,3% en el periodo 2015-2018, muy por debajo del 20% programado para el año 2020 (1).

A nivel nacional, el reporte del Ministerio de Salud muestra que a fines del año 2019 se registraron poco más de 41 mil casos de tuberculosis, de los cuales más de la mitad eran residentes en Lima, el 63,6% eran varones, el 40% eran adultos de 40 a 59 años, el 51% fueron identificados mediante un criterio diagnóstico bacteriológico. Se resaltó además la elevada frecuencia de casos con comorbilidades, como el VIH en el 58,7%, y la diabetes en el 37% (2).

El agente causal de la tuberculosis, el *Mycobacterium tuberculosis*, forma parte de un grupo de bacterias capaz de provocar morbilidad y mortalidad en la especie humana, y en otras especies animales de diversas partes del mundo, y que en los últimos años ha demostrado ser capaz de desarrollar estrategias para afrontar los mecanismos de defensa naturales y hasta farmacológicos (3).

De los métodos de laboratorio más empleados para el cultivo del M. tuberculosis, la técnica de Ogawa-Kudoh ha demostrado tener una sensibilidad y especificidad adecuada para la identificación de pacientes con tuberculosis, y presente entre otras ventajas, un menor costo y menores requerimientos técnicos de bioseguridad y de formación

profesional, en comparación con otras técnicas como la Petroff modificada (4).

Como se mencionó anteriormente, para el aislamiento del *Mycobacterium tuberculosis* el medio de cultivo más utilizado es el medio Ogawa, el cual emplea huevo de gallina. Sin embargo, en la presente investigación se sugiere la utilización de un medio Ogawa con huevo de pata, teniendo en cuenta que los estudios indican que el porcentaje de proteínas y albuminas es mayor al de huevo de gallina. A partir de dicha propuesta, se plantea como problema de investigación: ¿Existe diferencia en el tiempo promedio de crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* en el medio Ogawa con huevo de pata y huevo de gallina?

1.2 Formulación del Problema

¿Existe diferencia en el tiempo promedio de crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* en el medio Ogawa con huevo de pata y huevo de gallina?

1.3 Justificación del Problema

En este trabajo de investigación se realizó la comparación de dos medios de cultivo en paralelo, con huevo de gallina y uno con huevo de pata en el medio Ogawa. El medio Ogawa con huevo de gallina tiene un tiempo de establecido que son 60 días.

La importancia de este trabajo de investigación consiste en averiguar si el huevo de pata con un gran contenido de proteínas y albuminas lograra acelerar el crecimiento en el menor tiempo promedio del *Mycobacterium tuberculosis* en el medio Ogawa. Los resultados del estudio representan un aporte innovador para las pruebas de laboratorio de una enfermedad tan importante en nuestro medio,

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Comparar el tiempo promedio de crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* con huevo de pata y huevo de gallina.

1.4.2 Objetivos específicos

Determinar la existencia de diferencia significativa entre el crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* con huevo de pata y huevo de gallina a los 15 días.

Establecer la existencia de diferencia significativa entre el crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* con huevo de pata y huevo de gallina a los 30 días.

Determinar la existencia de diferencia significativa entre el crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* con huevo de pata y huevo de gallina a los 45 días.

Establecer la existencia de diferencia significativa entre el crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* con huevo de pata y huevo de gallina a los 60 días.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Antecedentes internacionales

Franco y col. (5), Ecuador, en su artículo del año 2020 plantearon como objetivo comparar la capacidad diagnóstica del método de hisopado Kudoh-Ogawa (KO) para el cultivo de *M. tuberculosis* en muestras clínicas con el procedimiento estándar Petroff-Lowenstein-Jensen (PLJ). El estudio tuvo un diseño no experimental, descriptivo comparativo, y constó en el procesamiento de un total de 2.287 muestras de esputo y 685 muestras clínicas extrapulmonares con ambos métodos de descontaminación. Los resultados destacan que el método de hisopado KO y el procedimiento PLJ, arrojaron M. tuberculosis después de 8 semanas de incubación en el 23,9 % y el 23,5 % de las muestras, respectivamente. Al comparar su rendimiento diagnóstico para muestras extrapulmonares se halló un resultado similar, sin embargo, si se halló diferencia significativa en el rendimiento a favor del KO cuando se trataba de muestras pulmonares (p = 0,002). También se ha reportado un tiempo de respuesta significativamente más corto para el aislamiento de *M. tuberculosis* para el método de hisopado KO, con un 77% de M. tuberculosis siendo los cultivos positivos dentro de las 3 semanas de incubación, y solo un 6,1% de positividad para el método PLJ. Se concluye que el método de hisopo KO es una alternativa eficiente y rápida, tanto en el procesamiento como el crecimiento de cultivo de M. tuberculosis a partir de muestras clínicas pulmonares o extrapulmonares.

Madeira y col. (6) Mozambique, en su artículo del año 2020, plantearon como objetivo evaluar el uso del cultivo de *M. tuberculosi* con el método

Ogawa-Kudoh (KO) en dos unidades de salud, en la ciudad de Maputo, Mozambique. El estudio tuvo un diseño no experimental, descriptivo comparativo, y consistió en recolectar 122 muestras de pacientes con tuberculosis atendidos en dos hospitales, primero usando el método de KO, y luego enviando esas mismas muestras para aplicar el procedimiento de descontaminación NALC-NaOH-Citrato (NALC) seguido de la inoculación en medios sólidos Lowenstein Jensen (LJ) como el estándar de referencia. Los resultados evidencian que, de las 107 muestras válidas, el 91,6% presentó un resultado concordante, concordancia moderada demostrada estadísticamente con el índice de Kappa (0,68). Además, la tasa de contaminación fue menor con el método KO (4,1% frente a 9,0%), y se encontró una sensibilidad del 80% y especificidad del 94% para el método del KO. Se concluye que el método de KO presenta una buena capacidad diagnóstica y una menor tasa de contaminación que el método NALC/LJ.

Antecedentes nacionales

Oroncoy y Llerena (7) Lima, en su tesis del año 2020, plantearon como objetivo determinar el rendimiento del líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de M. tuberculosis en muestras extrapulmonares. El estudio tuvo un diseño no experimental, descriptivo, de corte transversal, e incluyó 208 muestras extrapulmonares procesadas en el CENEX del Hospital Nacional Hipólito Unanue y que cumplieron los criterios de selección. Los resultados evidencian que la tasa de recuperación de micobacterias fue mejor en medio liquido BACTEC-MGIT 960 que en el cultivo Ogawa-Kudoh (11,5% frente a 5,3%). Además, se halló un grado de concordancia moderada entre los resultados del cultivo líquido frente al Gold standard según el Índice de Kappa (k=0.573; p<0.05), así como una diferencia significativa entre los tiempos de crecimiento del microrganismo, con un promedio de 15,3 días para BACTEC-MGIT 960 frente a 31,3 días para el cultivo Ogawa-Kudoh (p<0,05). Se concluye que el cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 presenta un buen rendimiento en la recuperación de M. tuberculosis de muestras extrapulmonares.

Pasco y Saman (8) Lima, en su tesis del año 2018 planteó como objetivo determinar la concordancia que existe entre los resultados de la baciloscopía y el cultivo Ogawa-Kudoh como métodos de diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar. El estudio tuvo un diseño no experimental, de corte transversal, e incluyó 5299 correlacional, extrapulmonares para el diagnóstico microbiológico de TBC, provenientes de aspirado gástrico, heces, orina y líquido pleural. Los resultados evidencian que el 69,8% de muestras tuvieron un resultado concordante, obteniendo un grado de concordancia moderada según el índice de Kappa (κ=0.54) en ambas pruebas diagnósticas de Tuberculosis extrapulmonar. Se obtuvo además una frecuencia de resultados positivos de 4.6% para la baciloscopía y 4.5% para el cultivo Ogawa-Kudoh, mientras que la frecuencia de baciloscopía negativa fue de 93.1%, en comparación con el 71.4% del cultivo. Se concluye que existe una concordancia diagnóstica moderada entre los resultados de los métodos de baciloscopía y cultivo Ogawa-Kudoh.

2.2 Base teórica

2.2.1 Tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa producida por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, que suele atacar los pulmones de personas que presentan deficiencia a nivel inmunológico o mala alimentación, y en caso de que no se brinda un tratamiento oportuno y adecuado, es capaz de producir la muerte del individuo (9).

De acuerdo con estadísticas proporcionadas por la Organización Mundial de la Salud (2021), sólo en el año 2020 se han reportado alrededor de 9,9 millones de tuberculosos a nivel mundial, de las cuales los varones representaron 5.5 millones, las mujeres constituyeron 3.3 millones y los

niños alcanzaron 1.1 millones. Además, en ese mismo año fueron registrados 1.5 millones de muertes a causa de esta enfermedad, situándose como la segunda infección más letal en el mundo, sólo por detrás de la infección por Covid-19 (10).

Sobre el progreso de las políticas sanitarias para el diagnóstico y control de la tuberculosis, debe considerarse que antes de la pandemia se habían conseguido avances significativos, pero, debido a la crisis generada por la rápida evolución de la pandemia, las cuales han reducido la subvención económica de los programas de prevención y aumentado las brechas existentes, sobre todo a nivel de los estratos socioeconómicos menos favorecidos, en donde se reporta un mayor número de casos (11).

La tuberculosis puede diseminarse también a otros órganos, a los cuales se extienden por vía linfática o hematógena, lo cual representa entre la cuarta y quinta parte de casos diagnosticados, y es denominada tuberculosis extrapulmonar. De acuerdo con los órganos que se afectan con mayor frecuencia se clasifican en: meníngea, ocular, cardiovascular, genitourinaria, miliar y osteoarticular, siendo más común entre las personas que presentan deficiencia en el sistema inmunológico (12).

De acuerdo con el Ministerio de Salud, los síntomas más frecuentes de tuberculosis pulmonar la constituyen la presencia de tos con flema al menos durante dos semanas, temperatura febril, que puede ir acompañada de sudoración por las noches, disminución en el apetito, reducción del peso fatiga y decaimiento. La presencia de alguno de estos síntomas cuando se trata de personas que han estado en contacto con una persona enferma de tuberculosis, eleva significativamente la probabilidad de tener la enfermedad (13).

Para el caso de la tuberculosis extrapulmonar, su sintomatología dependerá del órgano afectado. Se destacan el dolor torácico, los ganglios

linfáticos aumentados de volumen, deformaciones en los huesos de la columna vertebral, entre otros (12).

Entre los factores más relevantes para el desarrollo de la tuberculosis se encuentran la edad, el sexo, el hacinamiento, la condición socioeconómica la existencia de comorbilidades y los estilos de vida. En el caso de la edad, los estudios reportan que esta enfermedad es más frecuente entre la población adulto mayor, de 65 años a más, posiblemente a causa del debilitamiento del sistema inmunológico, y en contraparte, es la población infantil la que presenta una menor frecuencia (14).

Para el caso del factor sexo, la mayoría de estudios coinciden en que los varones constituyen el porcentaje más alto de casos de tuberculosis, y en reportes a nivel nacional se ha obtenido que por cada 10 mujeres hay 17 varones infectados. La diferencia entre ambos puede estar relacionada con el hecho de que muchos factores predisponentes son más comunes entre los pacientes del sexo masculino que en el femenino (15).

En relación al hacinamiento familiar, hay evidencias de que la convivencia de un mayor número de personas en espacios reducidos favorece la diseminación del agente causal de la tuberculosis. Este factor, además, se encuentra estrechamente relacionada con un bajo nivel socioeconómico y una mala alimentación, los cuales también predisponen la aparición de esta enfermedad. La medición el hacinamiento suele realizarse mediante el denominado índice de hacinamiento, que se obtiene mediante la división del número de personas que residen dentro de un hogar, sobre el número de dormitorios que hay en el domicilio. Del valor obtenido se determina la existencia de tres niveles: un valor menor de 2.5 representa ausencia de hacinamiento, un valor entre 2.5 y 4.9 se considera un nivel de hacinamiento medio; mientras que, un valor de 5.0 o más representa un nivel de hacinamiento alto, siendo este último nivel el de mayor riesgo de transmisión (16).

En torno a la alimentación, la estrecha relación que tiene una mala alimentación y el desarrollo de la tuberculosis ha obligado a que muchos países incluyan en sus políticas sanitarias la entrega de alimentos con alto valor nutricional para mejorar su dieta y favorecer el éxito del tratamiento. En el Perú existe para ello el programa PANTBC, el cual ha desarrollado efectos positivos en el estado nutricional de los pacientes, sin embargo, también se han reportado irregularidades en el cumplimiento de las entregas mensuales, las cuales pueden afectar las metas proyectadas o generar reincidencia entre los pacientes (17).

Los medicamentos que se emplean para el tratamiento de la tuberculosis han sido tradicionalmente categorizados en dos grupos: fármacos de primera línea, donde se encuentran la isoniazida, la rifampicina, el etambutol, la pirazinamida y la estreptomicina, y los fármacos de segunda línea, que incluyen a la kanamicina, amikacina, ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, entre otros. Los medicamentos de primera línea constituyen la primera opción en los esquemas de tratamiento, debido a su mayor potencia, así como por la mejor tolerancia presentada por los pacientes. Sin embargo, la resistencia a medicamentos como la isoniazida y la rifampicina han abierto las investigaciones para nuevas alternativas farmacológicas (18).

2.2.2 Mycobacterium tuberculosis

El género Mycobacterium, perteneciente al orden Actinomicetae y familia de los Mycobacteriaceae, está constituido por alrededor de 100 especies, que pueden ser agrupadas desde el punto de vista bacteriológico en tres categorías: a) el complejo tuberculosis, que incluye al *M. tuberculosi*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*; b) el complejo lepra, al que pertenece la *M. leprae* y especies parecidas; y, c) otras micobacterias, con comportamiento variado, algunas son patógenas oportunistas y otras saprófitas, son responsables de las micobacteriosis (19).

Los *M. tuberculosis*, también denominados Bacilos de Koch, son bacilos gram positivo, aerobios estrictos, ácido-alcohol resistentes, cuyo tamaño oscila entre 0.2-0.7 x 1-10 micras (µm), presentan al microscopio una forma ligeramente curva, son inmóviles y carecen de capacidad para formar esporas o cápsulas. Además, presentan sensibilidad a la luz solar y la luz ultravioleta, y se multiplican lentamente: ya que se dividen cada 16 a 20 horas. Su reservorio natural es el ser humano, y cuando se encuentran en un medio adverso, pueden adoptar el estado de latencia, retrasando su multiplicación hasta por varios años (20).

La composición de la pared celular de *M. tuberculosis* contribuye enormemente a sus características patógenas. El alto contenido de lípidos, alrededor del 40%, determina la existencia de respuestas hidrofóbicas, que les permiten adherirse unas con otras cuando su crecimiento se produce en medios acuosos, y de esta manera flotan en la superficie. En el resto de la composición destacan las proteínas, polisacáridos, y un alto contenido de ácido micólico, el cual presenta enlaces covalentes con glicolípidos como la tetrahalosa dimicolato y la trihalosa monomicolato. Esta compleja composición de la pared celular es responsable de su resistencia a la acción de ácidos y álcalis, antibióticos, y hasta la acción bactericida de los anticuerpos fijadores de complemento; además de contribuir con la longevidad de la micobacteria y la persistencia del proceso infeccioso que producen en el huésped (19).

Por otro lado, la *M. tuberculosis* no tiene endo ni exotoxinas, y sus componentes celulares son excepcionalmente poco tóxicos para huéspedes que no han sido sensibilizados anteriormente con la tuberculina. La virulencia de esta bacteria está relacionada con su capacidad para multiplicarse dentro de los macrófagos a pesar de las condiciones adversas existentes. Entre los principales determinantes de patogenicidad de *M. tuberculosis* sobresalen: a) el factor cuerda que favorece la agrupación de las micobacterias en cultivo a manera de conglomerados similares a una cuerda, lo cual estimula la respuesta inflamatoria en el huésped; b) el

lipoarábino-manano (LAM) capaz de unirse a los receptores de manosa para permitir el ingreso a los macrófagos, y suprime la proliferación de linfocitos T; c) sulfátidos, que permiten la supervivencia de la bacteria dentro del macrófago inhibiendo la fusión de los lisosomas secundarios con los fagosomas, además de promover la liberación del factor de necrosis tumoral que genera daño celular; y, d) Ureasa, arginasa, glutaminasa y asparaginasa, responsables de la alcalinización del contenido fagolisosomal mediante liberación de amoniaco, lo cual garantiza también la supervivencia de la bacteria dentro del macrófago (21).

Un tema de constante investigación en torno al *M. tuberculosis* corresponde a la resistencia que esta bacteria ha desarrollado ante los esquemas de tratamiento farmacológico, cuyo mecanismo no incluye la adquisición de genes exógenos mediante plásmidos, bacteriófagos, transposones, como en la mayoría de bacterias. La resistencia a los medicamentos es el resultado de alteraciones en los genes relacionados con la codificación del blanco de los antibióticos, en productos genéticos involucrados en la activación de profármacos o regiones reguladoras (22).

En el caso de la resistencia a la isoniazida, los genes relacionados son el KatG y el InhA. La mutación del gen KatG impide la activación del fármaco, mientras que la mutación del gen InhA estimula la sobreexpresión de la enzima enoil reductasa hasta reducir el poder inhibitorio del fármaco. Para el caso de la resistencia a la rifampicina, el gen relacionado corresponde al rpoB, cuya mutación impide la interacción del medicamento con la enzima ARN polimerasa, mecanismo clave para la replicación bacteriana (22).

También se han identificado los genes cuyas mutaciones son responsables de la resistencia hacia las fluoroquinolonas (gyrA y GyrB) y hacia los aminoglucósidos (rpsL/ rrs), medicamentos que inhiben la actividad de la ADN girasa y la síntesis de proteínas en la subunidad menor 30S, respectivamente (22).

2.2.3 Medios de cultivo del *M. tuberculosis*

Los medios de cultivo empleados a nivel nacional para la recuperación de *M. tuberculosis* comprenden los medios sólidos que contienen proteínas del huevo como el Löwenstein-Jensen y el medio Ogawa, que incluyen como fuente de nitrógeno ingredientes como la L-asparagina y el ácido glutámico, respectivamente, así como la glicerina como fuente de carbono. Para la inhibición de la flora asociada suele utilizarse el verde de malaquita. Por otra parte, también se pueden emplear medios líquidos como el Mycobacterial Growth Indicador (MGIT) y el BACTEC (23).

La composición general del medio de cultivo de Löwenstein-Jensen incluye 1000 ml. de huevos enteros, 2.5 g de fosfato monopotásico, 0.24 g de sulfato de magnesio, 0.6 g de citrato de magnesio, 3.6 g de asparragina, 30.0 g de harina de papa, 12 ml. de glicerina, 0.4 g de verde de malaquita y 600 ml de agua purificada. El color característico es el verde pálido opaco, y se recomienda su almacenamiento a una temperatura entre 2 y 8 grados centígrados (24).

De acuerdo con las pautas de la Organización Panamericana de la Salud, se recomienda el método de diagnóstico por cultivo de Petroff, usando el medio de Löwenstein-Jensen. Sin embargo, debido a su elevado costo, la mayoría de laboratorios en el Perú no tienen la capacidad para realizar dicho cultivo, por lo que la Red Nacional de Laboratorios, supervisada por el Instituto Nacional de Salud, emplea el medio de cultivo Ogawa, de preparación artesanal y menor costo (23).

Para el cultivo, debe tomarse en consideración que el bacilo de la tuberculosis está adaptado para vivir en la oscuridad, por lo que la luz solar afecta notoriamente su supervivencia. Además, está adaptado para vivir a la temperatura del cuerpo humano, por ello, para mejorar la velocidad de desarrollo es necesario una temperatura cercana a los 37°C, ya que su

crecimiento es muy difícil a partir de los 34°C. Asimismo, por encima de los 40° C pueden morir (25).

También debe tomarse en cuenta que el tiempo de detección de un cultivo positivo dependerá de la calidad con que se aplicó el método de descontaminación, del pH en que se encontraba el inóculo luego del tratamiento, de la riqueza del medio de cultivo y de la presencia de algún sensor que evidencie el desarrollo antes de hacerse visible. Otro aspecto que puede afectar el cultivo es lo relacionado con las características propias de algunas cepas, ya que las cepas multirresistentes suelen tener mayor dificultad para multiplicarse, de la cantidad de bacilos existentes en la muestra de la lesión y del tiempo que ha recibido el paciente algún tratamiento contra la enfermedad (25).

Si bien la mayoría de muestras con baciloscopia 3+ suelen desarrollarse visiblemente dentro de las primeras 3 semanas de incubación en medios a base de huevos, y dentro de 10 días en medios más ricos, las muestras con pocos bacilos, pueden generar una aparición tardía de las colonias, hasta 8 semanas después de la siembra en medios a base de huevos y hasta 6 semanas de ser sembradas en agar o caldos enriquecidos (25).

Ante este prolongado tiempo de incubación a 37°C se recomienda el uso de tubos, viales o botellas que eviten la desecación y ofrezcan mayor bioseguridad. Por tratarse de un bacilo es aerobio estricto los tubos deben ser grandes para atrapar una atmósfera de oxígeno dentro del tubo, vial, botella o placa. Una atmósfera de CO2 al 10% en la primera semana de incubación puede ayudar en el desarrollo de las micobacterias en caldos o medios con agar (25).

2.2.4 Huevos de pata y gallina

El huevo es uno de los alimentos más nutritivos y económicos de la naturaleza. Se considera uno de los alimentos más completos por la equilibrada proporción de proteínas, grasas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas que contiene (26).

La estructura del huevo consta de tres partes principales cáscara, clara y yema. La cáscara representa entre el 9% y 12% del peso del huevo, y está compuesta por carbonato de calcio y pequeñas cantidades de carbonato de magnesio y fosfato de calcio. La clara está formada principalmente por agua y proteínas de alto valor biológico que contienen los 8 aminoácidos esenciales. Finalmente, la yema contiene lípidos y proteínas y es la mayor fuente de vitaminas, minerales y sustancias esenciales de este alimento (26).

La principal diferencia entre los huevos de pata y gallina se encuentra en el tamaño, ya que la primera es más grande, razón por la cual tendrá un mayor contenido de proteínas, grasa, colesterol, y calorías. El peso de los huevos de pato oscila en un promedio de 100 gramos, mientras que los de gallina de mayor tamaño pesan en promedio 70 gramos; sin embargo, esa diferencia entre ambos es desproporcionada, ya que la mayor diferencia se encuentra en el tamaño de su yema, componente que concentra la grasa y el colesterol, la cual es de casi dos veces a favor del huevo de pata. Se estima que la composición de grasa del huevo de gallina es de 5 gramos, mientras que en el huevo de pata es cerca de 10 gramos. Por otro lado, en el huevo de pata se pueden alcanzar los 660 miligramos de colesterol y 71 miligramos de ácidos grasos omega-3, en comparación con los 285 miligramos de colesterol y 36 miligramos de ácidos grasos omega-3 del huevo de gallina (27).

La diferencia proteica entre el huevo de pata y de gallina, es de 9 y 7 gramos, respectivamente; razón por la cual el huevo de pata representa una excelente fuente de proteínas, ya que ofrece aproximadamente el 15% del requerimiento diario de este nutriente. En el caso de las calorías, se estima que el huevo de pata contiene alrededor de 130 calorías, a diferencia de las 80 calorías del huevo de gallina (27).

2.3 Terminología Medica

- A. Baciloscopia: Principal herramienta diagnóstica de la tuberculosis, que consiste en la detección de bacilos causantes de la enfermedad al microscopio, de muestras de esputo de los pacientes (28).
- B. **Cultivo:** Prueba para determinar la existencia de bacterias de la tuberculosis, contenidas en determinados fluidos corporales como la flema, que consiste en el crecimiento de colonias en medios específicos, y que puede tardar entre 15 y 60 días, en la mayoría de casos (29).
- C. Esputo: Tipo de flema que se produce en el interior de los pulmones y es expulsado durante la tos. Su examen en laboratorio permite la detección de bacterias de la tuberculosis a través de frotis simple, aunque una parte puede usarse también para hacer un cultivo (29).
- D. **Frotis:** Prueba que permite la identificación de bacterias de tuberculosis en las flemas a través de su visualización al microscopio, previa colocación en una lámina portaobjetos y coloración especial. Sus resultados no demoran más de un día en presentarse (29).
- E. **Tuberculosis pulmonar:** Es aquella tuberculosis activa que afecta a los pulmones, la más frecuente de las presentaciones de esta enfermedad, y cuyo síntoma característico consiste en una tos prolongada, que dura no menos de 21 días (29).
- F. Tuberculosis pulmonar con baciloscopia positiva: Es todo aquel caso de tuberculosis pulmonar confirmada mediante un resultado positivo de baciloscopia directa; considerada además la forma más contagiosa de la enfermedad (30).

2.4 Hipótesis

El tiempo promedio de crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis* es menor cuando se emplea huevo de pata en el medio Ogawa, en comparación con el huevo de gallina.

2.5 Variables

2.5.1 Variable 1: Crecimiento del *Mycobacterium tuberculosis*.

- A los 15 días
- A los 30 días
- A los 45 días
- A los 60 días
- Tiempo promedio

2.5.2 Variable 2: Medio de Cultivo Ogawa

- Con huevo de pata
- Con huevo de gallina

Operacionalización de variables

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE
			MEDICIÓN
Crecimiento del	Tiempo promedio	Promedio de días	Razón
M. tuberculosis		en que aparecen	
		las colonias.	
	A los 15 días	Número de	Razón
		colonias	
	A los 30 días	Número de	Razón
		colonias	
	A los 45 días	Número de	Razón
		colonias	
	A los 60 días	Número de	Razón
		colonias	
Medio de cultivo		Huevo de pata	Nominal
Ogawa0		Huevo de gallina	

CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Tipo y nivel de investigación

El presente estudio es de tipo descriptivo comparativo y de nivel básico.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

Está formada por 50 muestras obtenidas de los pacientes con tuberculosis del hospital Sergio E. Bernales.

3.2.2 Muestra

Por conveniencia

3.2.3 Muestreo

Se obtuvieron 100 muestras en total por conveniencia de los 50 pacientes que se trabajaron por duplicado. Dichas muestras se obtuvieron de los pacientes que asisten al hospital Sergio E. Bernales.

3.2.4 Unidad de Análisis

Cada muestra obtenida que se va utilizar en el Medio Ogawa con huevo de pata.

3.2.5 Criterios de inclusión

- Muestras provenientes de pacientes con tuberculosis
- Muestras de pacientes de 18 a 45 años.
- > Tipo de muestra (mucopurulenta, hemoptoico)

3.2.6 Criterios de exclusión

Muestras de pacientes control TBC

- Muestra de paciente MDR y XDR.
- ➤ Tipo de muestra (saliva, hidrolizadas)
- Muestras extrapulmonares

3.3 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

3.3.1 Procedimiento

- a. Se coloco las muestras numeradas en orden creciente sobre la mesa de trabajo, poner en una gradilla igual cantidad de tubos estériles numerados con la misma secuencia de las muestras. Se consideró como grupo de estudio el medio de cultivo que emplea el huevo de pata, mientras que el grupo control o referencial es aquel medio de cultivo que usaba el huevo de gallina.
- b. Se realizo el trasvase en cada tubo 1 ml. de muestra de esputo o de suspensión obtenida por macerado y en caso de muestras centrifugadas emplear todo el sedimento (flamear los bordes de los tubos al abrir y cerrarlas tapas). Agregar 4 ml. de solución estéril de hidróxido de sodio (NaOH) al 4 %.
- **c.** Dejar a 37°C por 20 minutos en estufa o baño maría
- d. Se retiro los tubos de la estufa o baño maría, homogenizar la muestra con una pipeta e inocular 0.1 ml. (por tubo) en 2 tubos de medio de Ogawa por duplicado y bañar toda la superficie del medio.
- **e.** Colocar los tubos en una bandeja de madera de fondo inclinado, e incubar en estufa a 37°C.
- f. Después de 48 horas revisar los tubos y ajustar las tapas, además de verificar si algún tubo está contaminado, alcalinizado (color blanco amarillento) o acidificado (color azul oscuro) por mala neutralización de la muestra. El desarrollo de colonias antes de 48 horas es indicativo de contaminación, algunas veces el medio se licua por acción de gérmenes proteolíticos.
- g. Las revisiones posteriores se realizaron durante la incubación, a los 15, 30, 45 y 60 días.

Lectura

El desarrollo de *M. tuberculosis* generalmente aparece luego de 2 a 3 semanas. Las colonias típicas son de color crema, secas, rugosas de aspecto de coliflor y de borde irregular. Si no se observan colonias en el tiempo antes mencionado se deja los cultivos hasta las 8 semanas, antes de proceder a informar el resultado como negativo.

Informe de resultados del cultivo

Se recomienda la siguiente escala semicuantitativa.

- No se observan colonias.
- Número total de colonias, si hay menos de 20.
- + De 20 a 100 colonias.
- ++ Colonias separadas más de 100.
- +++ Colonias confluentes (se observa desarrollo en toda la superficie del medio).

Cultivo contaminado

Se debe realizar frotis y coloración Ziehl-Neelsen de las colonias que no tienen morfología típica. De observarse B.A.A.R.*, se enviará el cultivo para su tipificación al I.N.S.

3.3.2 Técnica

Cultivo Ogawa Kudoh

Es un medio de cultivo para microbiología selectivo utilizado principalmente para aislamiento y cultivo del *Mycobacterium tuberculosis*, lo cual se estandarizo de acuerdo al protocolo establecido por el Instituto Nacional de Salud.

3.3.3 Instrumento de recolección de datos

Se empleó como fuente de información la ficha técnica de baciloscopía, y para la recolección de datos y el seguimiento del crecimiento de colonias se empleó una ficha de recolección elaborada por los autores y validada mediante juicio de expertos.

3.4 Procesamiento de la información

Los resultados estadísticos que a continuación se detallan, corresponden a la evaluación 50 muestras aleatorias de esputo (BK+) provenientes de pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales" del Distrito de Collique, con la finalidad de comparar cuantitativa y cualitativamente los cultivos en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina, para el aislamiento del *Micobacterium tuberculosis*. Se sembró por duplicado en los medios de cultivo motivo del presente estudio y se observó, a partir del día 2 de forma diaria hasta el día 15 y luego de acuerdo a lo establecido por el protocolo correspondiente, hasta los dos meses.

Los datos consignados en las fichas técnicas de baciloscopia fueron trasladadas a una matriz de Excel, luego se codificaron y trasladaron al programa SPSS 20, en donde se realizó el análisis estadístico utilizando la estadística descriptiva e inferencial. La prueba estadística para determinar la existencia de diferencia significativa entre los tiempos de crecimiento fue la T de Student para muestras independientes, empleando un nivel de significancia de 0,05.

3.5 Aspectos éticos

Todos los datos obtenidos de los pacientes del hospital Sergio E. Bernales en este trabajo de investigación sus identidades o sus datos personales no van a ser divulgados.

Es un aporte muy importante en el diagnóstico oportuno y preciso por parte de laboratorios clínicos y debe contar con un medio de diagnóstico aceptado de un medio de cultivo de alta calidad.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Resultados

En el presente estudio se evaluó un total de 50 muestras aleatorias provenientes de pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar, las muestras esputo se trataron en el medio de cultivo Ogawa con huevo pata. Se determino el crecimiento bacteriano por días de forma respectiva:

Del segundo día al séptimo día no hubo crecimiento y apartir del noveno día se observó crecimiento en el medio Ogawa con huevo de pata hubo un crecimiento primario observándose las colonias respectivas y a los 15 días se observó que las colonias crecían simultáneamente tanto como en el huevo pata y huevo de gallina.

El estudio realizado justifica el empleo del medio Ogawa con huevo de pata presentándose como una alternativa para el diagnóstico presuntivo del *Mycobacterium tuberculosis*.

Tabla 1. Edad promedio de los pacientes

Características de la edad							
Muestra	50						
Media	34,56						
Desviación estándar	15,09						
Edad mínima	14						
Edad máxima	69						

La edad promedio, de los pacientes de donde provinieron las muestras de esputo, fue de 34,56 años, con una desviación estándar de ±15,09 años y un rango de edad que iba desde los 14 a 69 años.

Tabla 2. Distribución de los pacientes por sexo

			Porcentaje
	Frecuencia	Porcentaje	acumulado
Masculino	32	64,0	64,0
Femenino	18	36,0	100,0
Total	50	100,0	

Fuente: Elaboración propia

Con relación al sexo de los pacientes, de los cuales provenían las muestras de esputo, 32 eran del sexo masculino mientras que 18 eran del sexo femenino. La mayor parte de los pacientes fueron del sexo masculino.

Resultados de la evaluación de los cultivos en los medios Ogawa

Siembra en medios de cultivo

En la presente investigación se realizó la siembre en dos medios de cultivo: Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina, con la finalidad de comparar cuantitativa y cualitativamente los cultivos en los dos medios y establecer el tiempo promedio de crecimiento del *Mycobacterium Tuberculosis*. En ambos medios se sembró por duplicado en los tubos correspondientes

Comparación de aislamientos del *M. Tuberculosis* en los medios de cultivo

Tabla 3. Aislamientos positivos del *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+

		– Total			
	Positivo Negativo				TOLAI
Medio Ogawa / Huevo de pata	50	100%	0	0%	50
Medio Ogawa / Huevo de gallina	50	100%	0	0%	50

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3 presenta la comparación de los aislamientos positivos y negativos en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales". El total de las muestras (50), en ambos medios, Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina, fueron positivas. Se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas, en la positividad de ambos medios.

Comparación de cultivos contaminados de *M. tuberculosis* en los medios de cultivo

Tabla 4. Comparación de cultivos contaminados de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+

	Contaminación de los medios de cultivo				
	Contaminados No contaminados				_
Medio Ogawa / Huevo de pata	2	4,0%	48	96,0%	50
Medio Ogawa / Huevo de gallina	2	4,0%	48	96,0%	50

La tabla 4 presenta la comparación de la contaminación de los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales". De los 50 cultivos para ambos medios, solo 2 cultivos (4,0%) presentaron contaminación tanto en el medio Ogawa con huevo de pata como en el medio Ogawa con huevo de gallina. Se observa que no existen diferencias, estadísticamente significativas, en el número de cultivos contaminados de ambos medios.

Tabla 5. Comparación de crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina en los días 10. 11 y 12.

	Crecimiento de las colonias en los días 10-11-12 en los medios de cultivo				
	Presencia de colonias No hay presencia de colonias				. Total
Medio Ogawa / Huevo de pata	2	4,2%	46	95,8%	48
Medio Ogawa / Huevo de gallina	0	0,0%	48	100,0%	48

La tabla 5 presenta la comparación del crecimiento de colonias en los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales", en los días 10, 11 y 12. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de pata, en solo 2 muestras (4,2%) se encontró presencia de colonas mientras que en 46 muestras no encontró presencia de colonas. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de gallina, no se encontró presencia de colonas en ninguna de las muestras.

Análisis inferencial

Crecimiento de colonias hasta el día 15

Tabla 6. Comparación de crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 15.

	Crecim	iento de las o en los medi					
	Medio Ogawa / Huevo de pata		Medio Ogawa / Huevo de gallina		_ p *		
0	15	31,3%	29	60,4%			
< de 20 colonias	29	60,4%	19	39,6%			
20 a 100 colonias	3	6,3%	0	0,0%	0,002		
> de 100 colonias separadas	1	2,1%	0	0,0%			
Colonias confluentes	0	0,0%	0	0,0%			
Total	48	100,0%	48	100,0%			

^{*}Obtenido mediante la prueba t para la diferencia de las medias

La tabla 6 presenta la comparación del crecimiento de colonias en los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina de las 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales", hasta el día 15. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de pata, 15 muestras no presentaron colonias; en 29 muestras se encontró menos de 20 colonias; en 3 muestras se encontró entre 20 a 100 colonias; en una muestra se encontró más de 100 colonias separadas y en ninguna muestra se encontró colonias confluentes. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de gallina, 29 muestras no presentaron colonias; en 19 muestras se encontró menos de 20 colonias; en ninguna muestra se encontró entre 20 a 100 colonias; en ninguna muestra se encontró más de 100 colonias separadas y en ninguna muestra se encontró colonias confluentes. La diferencia, del crecimiento de colonias en ambos medios, fue significativa (p<0,05).

Crecimiento de colonias hasta el día 30

Tabla 7. Comparación del crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 30.

	Crecim	iento de las o en los medi			p*
		Ogawa / o de pata	•		ρ
0	0	0,0%	3	6,3%	
< de 20 colonias	0	0,0%	8	16,7%	
20 a 100 colonias	44	91,6%	37	77,0%	0,001
> de 100 colonias separadas	3	6,3%	0	0,0%	
Colonias confluentes	1	2,1%	0	0,0%	
Total	48	100,0%	48	100,0%	

^{*}Obtenido mediante la prueba t para la diferencia de las medias

La tabla 7 presenta la comparación del crecimiento de colonias en los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes, diagnosticados con tuberculosis pulmonar, hasta el día 30. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de pata, todas las muestras presentaron colonias; en ninguna muestra se encontró menos de 20 colonias; en 44 muestras se encontró entre 20 a 100 colonias; en 3 muestras se encontró más de 100 colonias separadas y en solo 1 muestra se encontró colonias confluentes. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de gallina, 3 muestras no presentaron colonias; en 8 muestras se encontró menos de 20 colonias; en 37 muestras se encontró entre 20 a 100 colonias; en ninguna muestra se encontró más de 100 colonias separadas y en ninguna muestra se encontró colonias confluentes. La diferencia, del crecimiento de colonias en ambos medios en el día 30, fue significativa (p<0,05).

Crecimiento de colonias hasta el día 45

Tabla 8. Comparación del crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 45.

	Crecimiento de las colonias en el día 45 en los medios de cultivo					
	Medio Ogawa / Huevo de pata		Medio Ogawa / Huevo de gallina		p *	
0	0	0,0%	0	0,0%		
< de 20 colonias	0	0,0%	0	0,0%		
20 a 100 colonias	26	54,2%	37	77,1%	0,025	
> de 100 colonias separadas	20	41,7%	11	22,9%		
Colonias confluentes	2	4,1%	0	0,0%		
Total	48	100,0%	50	100,0%		

^{*} Obtenido mediante la prueba t para la diferencia de las medias

La tabla 8 presenta la comparación del crecimiento de colonias en los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales", en el día 45. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de pata, todas las muestras presentaron colonias; en ninguna muestra se encontró menos de 20 colonias; en 26 muestras se encontró entre 20 a 100 colonias; en 20 muestra se encontró más de 100 colonias separadas y en solo 2 muestras se encontró colonias confluentes. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de gallina, todas las muestras presentaron colonias; en ninguna muestra se encontró menos de 20 colonias; en 37 muestras se encontró entre 20 a 100 colonias; en 11 muestras se encontró más de 100 colonias separadas y en ninguna muestra se encontró colonias confluentes. La diferencia, del crecimiento de colonias en ambos medios en el día 45, fue significativa (p<0,05).

Crecimiento de colonias hasta el día 60

Tabla 9. Comparación del crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina al día 60.

	Crecim	p*			
		Ogawa / o de pata		o Ogawa / o de gallina	ρ
0	0	0,0%	0	0,0%	
< de 20 colonias	0	0,0%	0	0,0%	
20 a 100 colonias	1	2,1%	5	10,4%	0,215
> de 100 colonias separadas	33	68,8%	35	72,9%	
Colonias confluentes	14	29,1%	8	16,7%	
Total	48	100,0%	50	100,0%	

^{*}Obtenido mediante la prueba t para la diferencia de las medias

Fuente: Elaboración propia

La tabla 9 presenta la comparación del crecimiento de colonias en los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina, en el día 60. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de pata, todas las muestras presentaron colonias; en ninguna muestra se encontró menos de 20 colonias; en 1 muestra se encontró entre 20 a 100 colonias; en 33 muestras se encontró más de 100 colonias separadas y en 14 muestras se encontró colonias confluentes. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de gallina, todas las muestras presentaron colonias; en ninguna muestra se encontró menos de 20 colonias; en 5 muestras se encontró entre 20 a 100 colonias; en 35 muestras se encontró más de 100 colonias separadas y en 8 muestras se encontró colonias confluyentes. La diferencia, del crecimiento de colonias en ambos medios en el día 60, no fue significativa (p>0,05).

Promedio de crecimiento de colonias en ambas muestras

Tabla 10. Promedio de crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina a partir de 50 muestras de esputo BK+.

	Promedio de crecin días) en los d	n*	
	Medio Ogawa / Huevo de pata	Medio Ogawa / Huevo de gallina	. р
N	50	50	
Contaminados	2	2	
Media	17,3	23,6	0,000
Desviación estándar	8,5	10,2	
Mínimo	9	14	
Máximo	30	45	

^{*}Obtenido mediante la prueba t para la diferencia de las medias

Fuente: Elaboración propia

La tabla 10 presenta el promedio de crecimiento de colonias de *Mycobacterium tuberculosis* en los medios de cultivo Ogawa con huevo de pata y Ogawa con huevo de gallina, a partir de 50 muestras de esputo BK+ provenientes de los pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar del Programa de Tuberculosis del Hospital "Sergio E. Bernales". En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de pata, el promedio de crecimiento de las colonias fue de 17,3 días con una desviación estándar de ±8,5 días. En el medio de cultivo, Ogawa con huevo de gallina, el promedio de crecimiento de las colonias fue de 23,6 días con una desviación estándar de ±10,2 días. La diferencia, del crecimiento promedio de colonias de *Mycobacterium Tuberculosis* en ambos medios, fue significativa (p<0,05).

4.2 Discusión

En el estudio realizado son muchas las metodologías descritas en la literatura en cuanto a la mejora de los métodos bacteriológicos de cultivo del *M. tuberculosis*, de modo que se pueda disponer de sus resultados en corto tiempo. La tuberculosis en cualquiera de sus manifestaciones en nuestra actualidad es uno de los problemas de salud pública más importante y la búsqueda de un método de diagnóstico rápido ha sido y es uno de los principales objetivos en muchas partes del mundo, sobre todo en países como el nuestro que presenta altas tasas de incidencia y cuya población más afectada no cuenta con los medios económicos para acceder a cualquiera de los medios de diagnóstico rápido existentes.

En relación al objetivo general del estudio, el análisis estadístico con la prueba de Student para muestras independientes demostró que el tiempo promedio de crecimiento del *M. tuberculosis* es significativamente menor en el medio Ogawa cuando se emplea huevo de pata (17,3 días), en comparación con el huevo de gallina (23,6 días). Un estudio con resultado relacionado corresponde al reportado por Oroncoy y Llerena (7) en Lima, en donde se halló una diferencia significativa entre los tiempos de crecimiento del microrganismo, con un promedio de 15,3 días para BACTEC-MGIT 960 frente a 31,3 días para el cultivo Ogawa-Kudoh (p<0,05), aunque en dicha investigación se emplearon muestras extrapulmonares. Ambos estudios demuestran la necesidad de buscar alternativas en los medios de cultivo capaces de reducir el tiempo promedio de espera del crecimiento de colonias para este grupo de pacientes, ya que el tiempo que demora el cultivo convencional de Ogawa-Kudoh es relativamente largo.

Para el caso del primer objetivo específico, al día 15 se encontró un crecimiento significativamente mayor de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa con huevos de pata, las cuales presentaron 60,4% con 20 a 100 colonias, en comparación con el 39,6% hallado en los huevos de

gallina (p=0,002). Debe destacarse que en este primer periodo fueron detectados un 4% de muestras contaminadas en el medio de Ogawa, tanto para las muestras con huevo de pata como para las muestras con huevo de gallina, pequeño porcentaje que se encuentra dentro de lo estimado para estos tipos de procedimientos. Un hallazgo similar fue reportado por Madeira y col. (6) en Mozambique, quienes encontraron que la tasa de contaminación con el método de Ogawa-Kudoh es del 4,1, y era significativamente menor que el 9,0% hallado con el procedimiento de descontaminación NALC-NaOH-Citrato (NALC) seguido de la inoculación en medios sólidos Lowenstein Jensen (LJ). Ello evidencia que el método de Ogawa-Kudoh no sólo favorece el crecimiento de las colonias mejor que otros métodos, sino que también ofrece una menor posibilidad de contaminación.

En relación al segundo objetivo específico, al día 30 se encontró un crecimiento significativamente mayor de colonias de M. tuberculosis en los medios Ogawa con huevos de pata, las cuales presentaron 91,6% con 20 a 100 colonias, en comparación con el 77,0% hallado en los huevos de gallina (p=0,001). Un hallazgo similar fue el reportado por Franco y col. (5) quienes compararon la capacidad diagnóstica del método de hisopado Ogawa- Kudoh (OK) para el cultivo de *M. tuberculosis* en muestras clínicas con el procedimiento estándar Petroff-Lowenstein-Jensen (PLJ), encontrando que a los 21 días de incubación el primer método presentaba una mejor respuesta con un 77% de cultivos positivos, mientras que el segundo solo alcanzaba el 6,1% de positividad. Estos estudios resaltan la utilidad del método de Ogawa para el diagnóstico de la tuberculosis en comparación con otros métodos comunes, y que antes del mes, ya existe un gran número de cultivos que evidencian la positividad de las muestras, pero estos aumentan aún más cuando el huevo de gallina es sustituido por huevo de pata.

El tercer objetivo específico evidencia que, al día 45 aún existe un crecimiento significativamente mayor de colonias de *M. tuberculosis* en los

medios Ogawa con huevos de pata, los cuales presentaron 41,7% con más de 100 colonias separadas, en comparación con el 22,9% hallado en los huevos de gallina (p=0,025), sin embargo, no se encontraron estudios similares que consideren este tiempo de incubación en sus análisis.

Finalmente, para el caso del cuarto objetivo específico, al día 60 ya no se evidenció una diferencia significativa en el crecimiento de las colonias a favor de los medios Ogawa con huevos de pata sobre los que tenían huevos de gallina, las cuales presentaron 68,8% y 72,9% con más de 100 colonias separadas, respectivamente (p=0,215). Esta ausencia de diferencia significativa después de las 8 semanas de incubación también fue reportada por Franco y col. (5) al comparar la capacidad diagnóstica del método de hisopado Ogawa- Kudoh (OK) para el cultivo de *M. tuberculosis* en muestras clínicas con el procedimiento estándar Petroff-Lowenstein-Jensen (PLJ), ya que se obtuvieron resultados positivos en el 23,9% y 23,5% de las muestras, respectivamente. Ello evidencia la necesidad de seguir manteniendo el tiempo de incubación de las muestras hasta los 60 días, a fin de obtener una mayor concordancia en los resultados de los métodos utilizados en aquellas muestras que demoren en formar colonias en alguno de los métodos utilizados.

Un aporte interesante para determinar la utilidad del método de Ogawa-Kudoh fue reportado por Pasco y Saman (8) en Lima, al compararlo con la técnica de baciloscopia, obteniendo una moderada concordancia en sus resultados, con una frecuencia de resultados positivos de 4.6% para la baciloscopía y 4.5% para el cultivo Ogawa-Kudoh.

El estudio realizado justifica el empleo del medio Ogawa con huevo de pata presentándose como una alternativa para el diagnóstico presuntivo del *M. tuberculosis*. Sin embargo, como principal limitación se debe considerar la escasez de estudios que puedan servir como antecedentes de comparación apropiados para la alternativa planteada en la presente investigación.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El tiempo promedio de crecimiento del *M. tuberculosis* es significativamente menor en el medio Ogawa cuando se emplea huevo de pata (17,3 días), en comparación con el huevo de gallina (23,6 días), de acuerdo con la prueba T de Student para muestras independientes (p=0,000).

El crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa al día 15 evidenció una diferencia significativa a favor de los huevos de pata, las cuales presentaron 60,4% con 20 a 100 colonias, en comparación con el 39,6% hallado en los huevos de gallina (p=0,002).

El crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa al día 30 evidenció una diferencia significativa a favor de los huevos de pata, las cuales presentaron 91,6% con 20 a 100 colonias, en comparación con el 77,0% hallado en los huevos de gallina (p=0,001).

El crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa al día 45 evidenció una diferencia significativa a favor de los huevos de pata, las cuales presentaron 41,7% con más de 100 colonias separadas, en comparación con el 22,9% hallado en los huevos de gallina (p=0,025).

El crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa al día 60 evidenció la ausencia de diferencia significativa entre los huevos de pata y gallina, las cuales presentaron 68,8% y 72,9% con más de 100 colonias separadas, respectivamente (p=0,215).

5.2 Recomendaciones

- Plantear en los laboratorios del Ministerio de Salud el uso de huevos de pata en el medio Ogawa para mejorar el crecimiento de colonias de M. tuberculosis en el diagnóstico temprano de esta enfermedad.
- ➤ Comparar en futuras investigaciones la utilidad del huevo de pata en el medio Ogawa con el uso de otros medios de cultivo como el Löwenstein-Jensen.
- ➤ Evaluar en futuros estudios la influencia de las características sociodemográficas de la población y la existencia de comorbolidades, sobre los resultados del crecimiento de colonias en medio Ogawa con huevos de pata.
- ➤ Valorar la estructura de las vías de información a través de las cuales la población recibe información sobre la Tuberculosis, atendiendo los estratos de riesgos. Sugerir al personal que brinde charlas educativas sobre la importancia y posibles consecuencias al abandonar el tratamiento.
- ➤ Fortalecer el enfoque integral en la difusión del conocimiento a través de las vías de trasmisión de información sobre la Tuberculosis e involucrar a todos los trabajadores del Centro de Salud capacitándolos.

REFERENCIAS BIBILIOGRÁFICAS

- Harding, E. WHO global progress report on tuberculosis elimination. The Lancet Respiratory Medicine, 2020; 8(1): 19. Disponible en: https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30418-7
- Ministerio de Salud. Vigilancia epidemiológica de tuberculosis. Perú -2019. Lima: Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades, 2020. Disponible en: http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/teleconferencia/2020/SE072020/04
- Sia, J. K., Rengarajan, J. Immunology of Mycobacterium tuberculosis infections. Microbiology spectrum, 2019; 7(4): 7-4. Disponible en: https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0022-2018
- Da Costa, R. R., Da Silva, S. F., Costa, R., Macedo, R. L., Vilela, T., Silva, M. R., et al. Comparação entre os métodos de Ogawa-Kudoh e Petroff modificado para o cultivo de micobactérias no diagnóstico da tuberculose pulmonar. Einstein (São Paulo), 2018; 16 (2). Disponible en: https://doi.org/10.1590/S1679-45082018AO4214
- 5. Franco G., Rivera IA, León M., Uruchima SE, Cárdenas G., Perdomo ME, et al. Fast, simple, and cheap: the Kudoh-Ogawa swab method as an alternative to the Petroff–Lowenstein-Jensen method for culturing of Mycobacterium tuberculosis. Diario de Microbiología Clínica, 2020; 58 (4): e01424-19. Disponible en: https://doi.org/10.1128/JCM.01424-19
- Madeira CM., Azam KI., Sato DN., Khosa C, Bhatt N, Viegas S O. Evaluation of the Ogawa-Kudoh method for tuberculosis isolation in two health units in Mozambique. Afr. J. Lab. Med., 2020; 9(1): 1-5. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4102/ajlm.v9i1.929
- 7. Oroncoy N., Llerena M. Rendimiento del cultivo líquido BACTEC-MGIT 960 en la recuperación de Mycobacterium tuberculosis en muestras

- extrapulmonares del Hospital Nacional Hipólito Unanue. Lima-Perú, 2018. [Tesis de pregrado] Lima: Universidad Norbert Wiener, 2018. Disponible en: http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/3904
- Pasco I., Saman J. Relación entre los resultados de Baciloscopía y Cultivo Ogawa-Kudoh para el diagnóstico de Tuberculosis Extrapulmonar en un Hospital General del Distrito de El Agustino, Lima 2016-2017. [Tesis de pregrado] Lima: Universidad Norbert Wiener, 2018. Disponible en: http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1805
- Centers for Disease Control and Prevention. Tuberculosis. Estados Unidos:
 CDC,
 2016.
 Disponible
 https://www.cdc.gov/tb/esp/default.htm#:~:text=La%20tuberculosis%20o%2
 0TB%2C%20como,columna%20vertebral%20y%20el%20cerebro.
- 10. Organización Mundial de la Salud. Tuberculosis. Ginebra, Suiza: Centro de prensa de la OMS, 2021. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis
- 11. Organización Mundial de la Salud. OMS: En riesgo los progresos mundiales contra la tuberculosis. Ginebra, Suiza: Centro de prensa de la OMS, 2021. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/14-10-2020-who-global-tb-progress-at-risk
- 12. Putruele, A. M. Tuberculosis extrapulmonar: un diagnóstico difícil. Revista americana de medicina respiratoria, 2018; 18(3): 150-151. Disponible en: http://imap.ramr.org/articulos/volumen_18_numero_3/editorial/editorial_tube-rculosis_extrapulmonar_un_diagnostico_dificil.pdf
- 13. Ministerio de Salud. Luchando contra la tuberculosis. Lima: Campañas MINSA, 2021. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minsa/campa%C3%B1as/473-lucha-contra-la-tuberculosis
- 14. Escobar, N. Situación epidemiológica de la tuberculosis en Chile en el escenario global 2018. Revista chilena de enfermedades respiratorias, 2019;
 35(1): 63-70. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482019000100063
- 15. Soto, M. G., Munayco, C. V., Escalante, O., Valencia, E., Arica, J., & Yagui,M. J. Perfil epidemiológico de la tuberculosis extensivamente resistente en

- el Perú, 2013-2015. Revista Panamericana de Salud Pública, 2020; 44.: e-29. Disponible en: https://dx.doi.org/10.26633%2FRPSP.2020.29
- 16. Guevara, G., Navarro, M., González, J. Epidemiología de la Tuberculosis en el Área de Salud de Pavas, Costa Rica. Enfermería Actual de Costa Rica, 2018; (35): 85-102. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-45682018000200085&script=sci arttext
- 17. Quesso, A., Vega, E., Mosquera, Z. Efectividad del Programa PANTBC en el estado nutricional de pacientes con tratamiento antituberculoso. CASUS: Revista de Investigación y Casos en Salud, 2019; 4(3): 187-193. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7192558https://dialnet.uniri
- 18. Bayona J. Nuevos fármacos antituberculosos. Acta Médica Peruana, 2009; 26(4): 247-250. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v26n4/a11v26n4

oja.es/servlet/articulo?codigo=7192558

- 19. Ramírez AR, Cocotle E, Méndez R., Arenas J. Mycobacterium tuberculosis: Su pared celular y la utilidad diagnóstica de las proteínas 16 y 38 kDa. Revista médica de la Universidad Veracruzana, 2002; 2(2): 39-43. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2002/muv022i.pdf
- 20. Databio. Fichas de agentes biológicos. Mycobacterium tuberculosis. España: INSST, 2012. Disponible en: https://www.insst.es/documents/94886/353495/Mycobacterium+tuberculosis.pdf/9d648564-f9f0-41ff-9ae9-6c7af638bb52
- 21. Universidad de Buenos Aires. Bacterias que no toman la coloración de Gram
 PARTE I. Micobacterias. Argentina: Facultad de Medicina UBA, 2016.
 Disponible en: https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-07/T6A%20Texto%20Clase%206-Mycobacterium-Sordelli%202020.pdf
- 22. Gómez V. J., Gómez A. J., Robledo J., Hernández J. M. Resistencia a Medicamentos en Mycobacterium tuberculosis: contribución de mecanismos constitutivos y adquiridos. Revista de Salud Pública, 2018; 20: 491-497. Disponible en: https://scielosp.org/pdf/rsap/2018.v20n4/491-497/es

- 23. Parimango D, Chávez M, Luján M, Otiniano M, Robles H, Muñoz E. Comparación de los medios Ogawa y LöwensteinJensen en el aislamiento de Mycobacterium tuberculosis de pacientes con tuberculosis pulmonar. Hospital Regional Docente de Trujillo, Perú. Revista Médica Vallejiana, 2007; 4(1):24-31. Disponible en: https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/revistamedicavallejiana/article/view/52
- 24. Laboratorios Britania. Medio de Lowënstein-Jensen. Argentina: BritaniaLab, 2018. Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/225_inserto_es.p df
- 25. Organización Panamericana de la Salud. Manuel para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guía técnica. Parte II Cultivo. Washington D.C.: OPS, 2008. Disponible en: https://iris.paho.org/handle/10665.2/18616
- 26. Araneda M. Huevos y derivados. Composición y propiedades. [Página Web]. Edualimentaria.com. Recuperado el 07 de junio del 2020. Disponible en: https://www.edualimentaria.com/huevos-composicion-y-propiedades
- 27. Alfaro, D. Huevos de pato vs. Huevos de gallina. [Página Web]. The Spruce Eats. Recuperado el 13 de enero del 2021. Disponible en: https://www.gourmet4life.com/duck-eggs-vs-chicken-eggs-what-s-the-difference-4846383
- 28. Ministerio de Salud. Conociendo la TB. Lima: Dirección de Prevención y Control de la Tuberculosis, 2013. Disponible en: http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/Contenido.aspx?op=1
- 29. Centros para el Control y Prevención de las Enfermedades. Glosario de términos relacionados con la tuberculosis. Estados Unidos: CDC, 2012. Disponible en: https://www.cdc.gov/tb/esp/topic/basics/glossary.htm
- 30. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Anexo 1. Glosario de términos. Lima: INEI, 2013. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones digitales/Est/Lib1065/glosa.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Existe diferencia en el tiempo	Comparar el tiempo promedio	El tiempo promedio de crecimiento	1. Crecimiento	
promedio de crecimiento del	de crecimiento del	del Mycobacterium tuberculosis es	del <i>M.</i>	
Mycobacterium tuberculosis en	Mycobacterium tuberculosis	menor cuando se emplea huevo	tuberculosis	
el medio Ogawa con huevo de	con huevo de pata y huevo de	de pata en el medio Ogawa, en	- A los 15 días	
pata y huevo de gallina?	gallina.	comparación con el huevo de	- A los 30 días	
		gallina.	- A los 45 días	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	- A los 60 días	
¿Existe diferencia entre el	Determinar la existencia de	El crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	-Tiempo	
crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	diferencia significativa entre el	es más rápido a los 15 días	promedio	
en el medio Ogawa con huevo	crecimiento del M. tuberculosis	cuando se emplea huevo de pata	0.14 !! !	
de pata y huevo de gallina a	con huevo de pata y huevo de	en el medio Ogawa, en	2. Medio de	
los 15 días?	gallina a los 15 días.	comparación con el huevo de	cultivo Ogawa	
¿Existe diferencia entre el	Establecer la existencia de	gallina.	- Con huevo	
crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	diferencia significativa entre el	El crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	de pata	
en el medio Ogawa con huevo	crecimiento del M. tuberculosis	es más rápido a los 30 días	- Con huevo	
de pata y huevo de gallina a	con huevo de pata y huevo de	cuando se emplea huevo de pata	de gallina	
los 30 días?	gallina a los 30 días.	en el medio Ogawa, en		
¿Existe diferencia entre el crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	Determinar la existencia de	comparación con el huevo de		
en el medio Ogawa con huevo	diferencia significativa entre el crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	gallina. El crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>		
de pata y huevo de gallina a	con huevo de pata y huevo de	es más rápido a los 45 días		
los 45 días?	gallina a los 45 días.	cuando se emplea huevo de pata		
¿Existe diferencia entre el	Establecer la existencia de	en el medio Ogawa, en		
crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	diferencia significativa entre el	comparación con el huevo de		
en el medio Ogawa con huevo	crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>	gallina.		
de pata y huevo de gallina a	con huevo de pata y huevo de	El crecimiento del <i>M. tuberculosis</i>		
los 60 días?	gallina a los 60 días.	es más rápido a los 60 días		
122 33 4.33	- G	cuando se emplea huevo de pata		
		en el medio Ogawa, en		

	comparación con el huevo de	
	gallina.	

Anexo 2. Matriz de operacionalización de variables

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	CODIFICACIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN
Crecimiento del <i>M.</i> tuberculosis	Tiempo promedio	Promedio de días en que aparecen las colonias.	Valor numérico	Razón
	A los 15 días	Número de colonias	Sin colonias (0) Menor de 20 colonias (1) 20 a 100 colonias (2) Más de 100 colonias separadas (3) Confluentes (4)	Razón
	A los 30 días	Número de colonias	Sin colonias (0) Menor de 20 colonias (1) 20 a 100 colonias (2) Más de 100 colonias separadas (3) Confluentes (4)	Razón
	A los 45 días	Número de colonias	Sin colonias (0) Menor de 20 colonias (1) 20 a 100 colonias (2) Más de 100 colonias separadas (3) Confluentes (4)	Razón
	A los 60 días	Número de colonias	Sin colonias (0) Menor de 20 colonias (1) 20 a 100 colonias (2) Más de 100 colonias separadas (3)	Razón

		Confluentes (4)	
Medio de cultivo	Tipo de huevo utilizado	Huevo de pata (1)	Nominal
Ogawa		Huevo de gallina (2)	

Anexo 3. Ficha de recolección de datos

N°	Edad	Sexo	N°	MEDIOS						DIAS	DE LEC	TURA						OBSERVACIONES	OTROS
IN			CULTIVOS		2	7	8	9	10	11	12	13	14	15	30	45	60	MORFOLOGICAS	OTROS
				HP1															
1				HP2															
1				HG1															
				HG2															
				HP1															
_				HP2															
2				HG1															
				HG2															
				HP1															
_				HP2															
3				HG1															
				HG2															
				HP1															
				HP2															
4				HG1															
				HG2															
				HP1															
_				HP2															
5				HG1															
				HG2															

Anexo 4. Formatos de validación del instrumento

Anexo 5. Galería de imágenes



FIGURA N°1. ENTRADA DE LABORATORIO DE BK



FIGURA N°2. AREA DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



FIGURA N°3. MEDICIÓN DE VOLUMEN HUEVO GALLINA Y HUEVO DE PATA



FIGURA N°4. PREPARACION DE MEDIOS



FIGURA N°5. CAMARA DE FLUJO LAMINAR TIPO 3



FIGURA N°6. MUESTRAS REFRIGERADAS





FIGURA N° 7. REACTIVO VERDE DE MALAQUITA 2%





FIGURA N°8. COAGULADOR



FIGURA N°9. ESTUFA



FIGURA N°10. ÁREA DE LECTURA



FIGURA N°11. ÁREA DE FIJACIÓN DE LÁMINAS

PERÚ Minister de Salur	HOSPITAL SERG	KI E. BERNALES.	PROGRAMA D	E CONTROL D	E LA TUBER	RCULOSIS
	SOLICITUD PAR	A INVESTIGA	CIÓN BACTERIO	LÓGICA EN T	вс	
1SERVICIO:						
2 A. PAT		MATERNO	NOMBRES	EDAD TELEFONO:	SEXO	
DOMICILIO: 3TIPO DE MUESTR	A. ESPLITO	OTRO	TIPO DE MUESTRA			
4ANTECEDENTE D		Onto	111			
1NUNCA TRATADO	2AN	ITES TRATADO:		Abandono		
5PARA DIAGNOSTI	CO. EN S P	Rx. Anorma	(sospecha) 1ra M	uestra	2da Niuestr	
SPARA DIAGNOSTI	00. EN 5. A.	roa. Allottila	Independent .	Land Land		- lone
6PARA CONTROL D	E: MES	Esq. Tto Actua	l:	Fraca	so (Sospech	ia)
7CULTIVO:	8 P.S. 1°	Linea 2°	Linea 9SOLI	CITANTE:	FECH	A:
Observaciones:	*************************	************************	***************************************		***************************************	***************************************
RESULTADOS:						
1BACILOSCOPIA	Positivo:	Negativo:	N° de Regis	tro:	Fecha:	
	- Contraction -	among factors	Datum response resident reside			
2CULTIVO	Positivo:	Negativo:	N° de Regis	tro:	Fecha:	****************
FIRMA D	EL MEDICO:			FECHA:		
		OCCODIA VE	L CULTIVO SON O	No.		

FIGURA N°12. SOLICITUD BACTERIOLÓGICA EN TBC

Anexo 6. Lectura de cultivos de BK

1- 5 días

No se observó crecimiento ni medios contaminados.

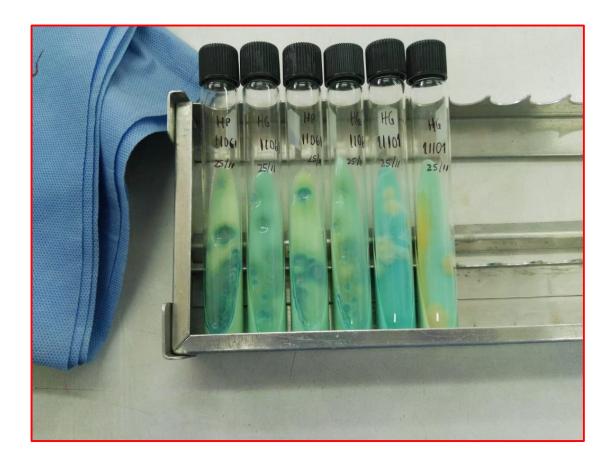


A partir del 7 día (lectura fue diaria)

No se observó crecimiento, pero hubo tubos contaminados



Tubos contaminados



Días 10, 11, 12 (lectura diaria)

A partir del día 10 se observa presencia de colonias más visibles en el huevo de pata.



Días 13 - 14

A partir del 13er día se observó colonias individuales, visibles y no agrupadas.



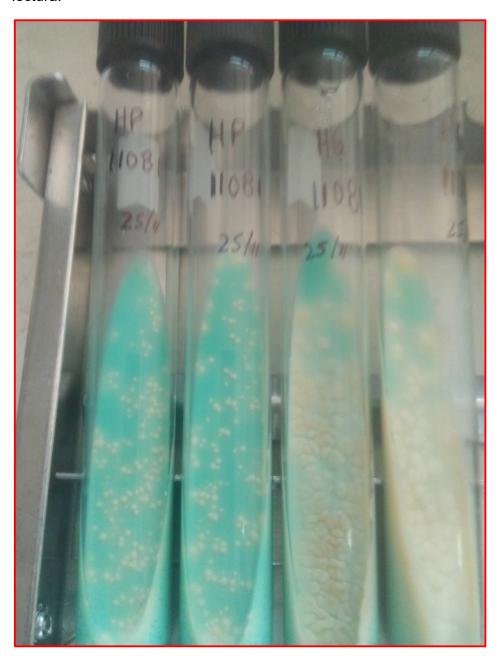
Día 15
A partir del 15to día se observó moderada cantidad de colonias en huevo de pata, muchas más específicas de forma visible con una característica familiar al *Mycobacterium tubeculosis* (colonia forma de coliflor)



15 -30 días

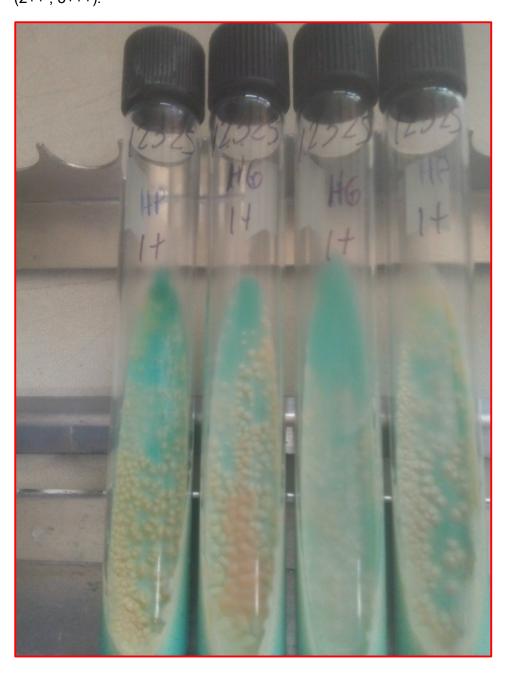
Crecimiento de colonias similares en el huevo pata y en el huevo de gallina (2++).

Se observa colonias aglomeradas en el huevo de gallina que dificulta en la lectura.



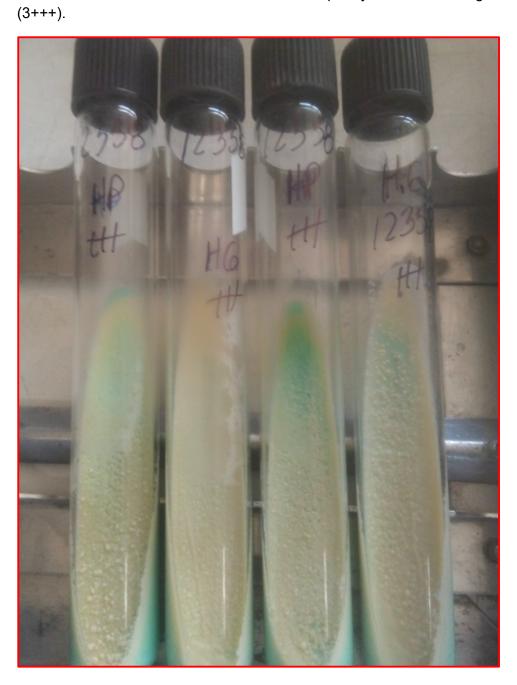
30 -45 días

Crecimiento de colonias similares en el huevo pata y en el huevo de gallina (2++ , 3+++).



45 -60 días

Crecimiento de colonias similares en el huevo pata y en el huevo de gallina



Anexo 7. Cuadro de lectura de colonias

	N°							DIAS	DE LEC	TURA						OBSERVACIONES	
N°	CULTIVOS	MEDIOS	2	7	8	9	10	11	12	13	14	15	30	45	60	MORFOLOGICAS	OTROS
		HP1	NC	NC	NC	1C	2C	5C	8C	1+	1+	2+	3+	3+	3+		
1	11040	HP2	NC	NC	NC	1C	4C	8C	8C	1+	1+	2+	3+	3+	3+		
_	11040	HG1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	5C	5C	1+	2+	2+		
		HG2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	3C	5C	1+	2+	2+		
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	1C	4C	4C	1+	1+	2+	2+	2+		
2	11050	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	1C	3C	4C	1+	1+	2+	2+	2+		
	11030	HG1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6C	1+	2+	2+		
		HG2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6C	1+	2+	2+		
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	3C	5C	8C	8C	1+	2+	2+		
3	11060	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	3C	5C	8C	8C	1+	2+	2+		
	11000	HG1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6C	1+	2+	2+		
		HG2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	5C	1+	1+	2+		
		HP1	NC	NC	NC	1C	4C	5C	5C	8C	1+	1+	2+	2+	3+		
4	11067	HP2	NC	NC	NC	1C	2C	5C	5C	8C	1+	1+	2+	2+	3+		
7	11007	HG1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	5C	5C	1+	1+	3+		
		HG2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	8C	8C	1+	1+	3+		
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	8C	10C	1+	1+	2+		
5	11081	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6C	8C	1+	1+	2+		
	11001	HG1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+		
		HG2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+		

		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1C	1C	3C	3C	1+	1+	2+	
6	11094	HP2	NC	3C	3C	3C	1+	1+	2+							
O	11094	HG1	NC	1C	1+	1+	2+									
		HG2	NC	1C	1+	1+	2+									
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	2C	4C	4C	4C	1+	1+	2+	
7	11101	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1C	3C	3C	4C	1+	1+	2+	
′	11101	HG1	NC	2C	1+	1+	2+									
		HG2	NC	1C	1+	1+	2+									
		HP1	NC	4C	1+	1+	1+									
	110120	HP2	NC	3C	1+	1+	1+									
8	110129	HG1	NC	NC	8C	1+	1+									
		HG2	NC	NC	8C	1+	1+									
		HP1	NC	6C	8C	8C	1+	1+	2+							
9	11120	HP2	NC	4C	6C	6C	1+	1+	2+							
9	11130	HG1	NC	4C	1+	1+	2+									
		HG2	NC	2C	1+	1+	2+									
		HP1	NC	8C	14C	16C	1+	2+	3+							
10	11162	HP2	NC	7C	10C	14C	1+	2+	3+							
10	11163	HG1	NC	7C	1+	2+	3+									
		HG2	NC	5C	1+	2+	3+									

						1				1			1	1		1	1
		HP1	NC	3C	3C	1+	1+	2+									
11	11284	HP2	NC	1+	1+	2+											
11	11204	HG1	NC	1+	1+	2+											
		HG2	NC	1+	1+	2+											
		HP1	NC	1+	2+	3+											
12	11205	HP2	NC	1+	2+	3+											
12	11305	HG1	NC	1+	2+	3+											
		HG2	NC	1+	2+	3+											
		HP1	NC	1C	1+	1+	2+										
12	11212	HP2	NC	17C	1+	1+											
13	11312	HG1	NC	15C	1+	1+											
		HG2	NC	13C	1+	1+											
		HP1	NC	1+	1+	2+											
1.1	11226	HP2	NC	1+	1+	2+											
14	11326	HG1	NC	1+	1+	2+											
		HG2	NC	1+	1+	2+											
		HP1	NC	10C	1+	2+	2+										
15	11042	HP2	NC	15C	1+	2+	2+										
15	11842	HG1	NC	NC	1+	2+											
		HG2	NC	NC	1+	2+											

												1		_	1	1	ı	
		HP1	NC	1+	2+	3+												
16	11042	HP2	NC	1+	2+	3+												
16	11843	HG1	NC	1+	2+													
		HG2	NC	1+	2+													
		HP1	NC	2+	3+	3+												
47	44050	HP2	NC	2+	3+	3+												
17	11850	HG1	NC	1+	1+	2+												
		HG2	NC	1+	1+	2+												
		HP1	NC	1+	2+	2+												
4.0	44040	HP2	NC	1+	2+	2+												
18	11918	HG1	NC	16C	1+	1+												
		HG2	NC	15C	1+	1+												
		HP1	NC	1+	1+	2+												
10	44004	HP2	NC	1+	1+	2+												
19	11924	HG1	NC	1+	2+													
		HG2	NC	15C	1+	2+												
		HP1	NC	1+	1+	2+												
20	44004	HP2	NC	1+	1+	2+												
20	11931	HG1	NC	1+	1+	2+												
		HG2	NC	1+	1+	2+												

		1	1		1	1				1	1	1	1				
		HP1	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
21	11954	HP2	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
21	11954	HG1	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
		HG2	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
		HP1	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
22	11070	HP2	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
22	11970	HG1	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
		HG2	NC	NC	NC	1+	2+	2+									
		HP1	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
23	11988	HP2	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
23	11900	HG1	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
		HG2	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
		HP1	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
24	11992	HP2	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
24	11992	HG1	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
		HG2	NC	С	С	С	С	С	С	Contaminado							
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	8C	10C	10C	14C	1+	1+	2+		
25	12033	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6C	10C	10C	13C	1+	1+	2+		
25	12053	HG1	NC	NC	5C	1+	1+	2+									
		HG2	NC	NC	5C	1+	1+	2+									

			1											1	1	
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	15C	15C	18C	18C	1+	1+	2+	
26	12040	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	15C	15C	18C	18C	1+	1+	2+	
20	12040	HG1	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+							
		HG2	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+							
		HP1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	9C	14C	20C	1+	1+	2+	3+	
27	12040	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	6C	10C	17C	1+	1+	2+	3+	
21	12048	HG1	NC	NC	NC	NC	1+	2+	3+							
		HG2	NC	NC	NC	NC	1+	2+	3+							
		HP1	NC	NC	NC	NC	1+	2+	3+							
28	12052	HP2	NC	NC	NC	NC	1+	2+	3+							
20	12052	HG1	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+							
		HG2	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+							
		HP1	NC	8C	10C	14C	1+	2+	3+							
29	12080	HP2	NC	8C	10C	14C	1+	2+	3+							
29	12080	HG1	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+							
		HG2	NC	NC	NC	NC	1+	1+	2+							
		HP1	NC	NC	NC	4C	1+	2+	2+							
30	12083	HP2	NC	NC	NC	3C	1+	2+	2+							
30	12003	HG1	NC	NC	NC	NC	1+	2+	2+							
		HG2	NC	NC	NC	NC	1+	2+	2+							

		I			1					ı	1		1			ı	
		HP1	NC	NC	1+	1+	2+										
31	12123	HP2	NC	NC	1+	1+	2+										
31	12123	HG1	NC	NC	15C	1+	1+										
		HG2	NC	NC	17C	1+	1+										
		HP1	NC	7C	10C	13C	1+	1+	2+								
22	12124	HP2	NC	5C	8C	1+	1+	2+									
32	12134	HG1	NC	4C	1+	1+	2+										
		HG2	NC	4C	1+	1+	2+										
		HP1	NC	6C	10C	1+	1+	2+									
22	12175	HP2	NC	6C	10C	1+	1+	2+									
33	12175	HG1	NC	5C	1+	1+	2+										
		HG2	NC	6C	1+	1+	2+										
		HP1	NC	5C	8C	8C	1+	1+	3+								
24	12204	HP2	NC	5C	8C	8C	1+	1+	3+								
34	12394	HG1	NC	5C	1+	1+	3+										
		HG2	NC	5C	1+	1+	3+										
		HP1	NC	6C	1+	1+	2+										
25	12246	HP2	NC	5C	1+	1+	2+										
35	12348	HG1	NC	NC	1+	1+	2+										
		HG2	NC	NC	1+	1+	2+										

		ı														
		HP1	NC	1+	2+	2+										
36	12315	HP2	NC	1+	2+	2+										
30	12313	HG1	NC	1+	1+											
		HG2	NC	1+	1+											
		HP1	NC	1+	2+	3+										
37	12325	HP2	NC	1+	2+	3+										
37	12323	HG1	NC	1+	2+											
		HG2	NC	5C	1+	2+										
		HP1	NC	3C	1+	1+	2+									
38	12344	HP2	NC	3C	1+	1+	2+									
30	12344	HG1	NC	1+	1+	2+										
		HG2	NC	1+	1+	2+										
		HP1	NC	4C	1+	1+	2+									
39	12358	HP2	NC	4C	1+	1+	2+									
39	12556	HG1	NC	2C	1+	1+	2+									
		HG2	NC	1C	1+	1+	2+									
		HP1	NC	4C	1+	2+	3+									
40	12780	HP2	NC	4C	1+	2+	3+									
40	12/00	HG1	NC	1C	15C	1+	3+									
		HG2	NC	3C	1+	1+	3+									

			1	1					I	1			1		
		HP1	NC	6C	1+	1+	3+								
41	12403	HP2	NC	7C	1+	1+	3+								
41	12405	HG1	NC	NC	1+	1+	3+								
		HG2	NC	NC	1+	1+	3+								
		HP1	NC	4C	6C	7C	1+	1+	2+						
42	12440	HP2	NC	4C	5C	1+	1+	2+							
42	12440	HG1	NC	4C	1+	1+	2+								
		HG2	NC	5C	1+	1+	2+								
		HP1	NC	6C	10C	10C	1+	1+	2+						
43		HP2	NC	4C	8C	10C	1+	1+	2+						
43		HG1	NC	NC	1+	1+	2+								
		HG2	NC	NC	1+	1+	2+								
		HP1	NC	2C	6C	8C	1+	1+	2+						
44		HP2	NC	2C	6C	8C	1+	1+	2+						
44		HG1	NC	NC	1+	1+	2+								
		HG2	NC	NC	1+	1+	2+								
		HP1	NC	5C	8C	8C	1+	2+	3+						
45		HP2	NC	5C	8C	8C	1+	2+	3+						
43		HG1	NC	4C	1+	2+	3+								
		HG2	NC	3C	1+	2+	3+								

		1	1	1				1	1		1		ı		
	HP1	NC	4C	5C	1+	2+	2+								
46	HP2	NC	4C	5C	1+	2+	2+								
40	HG1	NC	4C	6C	6C	1+	1+	2+							
	HG2	NC	6C	8C	8C	1+	1+	2+							
	HP1	NC	NC	NC	NC	NC	4C	8C	8C	8C	10C	1+	1+	2+	
47	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	3C	5C	6C	8C	10C	1+	1+	2+	
47	HG1	NC	5C	1+	1+	2+									
	HG2	NC	4C	1+	1+	2+									
	HP1	NC	NC	NC	NC	NC	2C	2C	4C	5C	10C	1+	1+	2+	
40	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1C	4C	5C	10C	1+	1+	2+	
48	HG1	NC	4C	1+	1+	2+									
	HG2	NC	3C	1+	1+	2+									
	HP1	NC	NC	NC	NC	NC	2C	4C	4C	6C	10C	1+	1+	2+	
40	HP2	NC	NC	NC	NC	NC	1C	2C	4C	5C	10C	1+	1+	2+	
49	HG1	NC	15C	1+	2+										
	HG2	NC	18C	1+	2+										
	HP1	NC	1+	2+	2+										
F0	HP2	NC	19C	1+	2+										
50	HG1	NC	8C	1+	2+										
	HG2	NC	10C	1+	2+										

Anexo 8. Relación de pacientes

		NOVIEME	BRE 2017	
N°	CODIGO	EDAD	SEXO	FECHA
1	11040	43	M	25/11/2017
2	11050	20	M	25/11/2017
3	11060	42	M	25/11/2017
4	11067	47	M	25/11/2017
5	11081	45	M	25/11/2017
6	11094	25	M	25/11/2017
7	11101	16	F	25/11/2017
8	11129	44	F	25/11/2017
9	11130	14	M	25/11/2017
10	11163	58	M	25/11/2017
11	11284	25	M	25/11/2017
12	11305	17	M	25/11/2017
13	11312	34	F	25/11/2017
14	11326	47	M	25/11/2017
15	11327	16	M	26/11/2017
16	11311	34	F	26/11/2017
17	11313	28	M	26/11/2017
18	11315	35	F	25/11/2017
19	11320	27	F	25/11/2017
20	11326	22	F	25/11/2017
21	11330	28	M	25/11/2017
22	11329	42	M	25/11/2017

		DICIEMBRE 2	2017	
23	11842	66	М	02/12/2017
24	11843	68	F	02/12/2017
25	11850	23	F	02/12/2017
26	11918	29	F	05/12/2017
27	11924	21	F	05/12/2017
28	11931	69	М	06/12/2017
29	11954	34	М	06/12/2017
30	11970	29	М	06/12/2017
31	11988	59	F	06/12/2017
32	11992	26	М	07/12/2017
33	12033	19	F	09/12/2017
34	12040	19	М	09/12/2017
35	12048	30	М	09/12/2017
36	12052	47	М	09/12/2017
37	12080	41	М	12/12/2017
38	12083	36	М	12/12/2017
39	12123	25	М	12/12/2017
40	12134	20	М	12/12/2017
41	12175	20	F	13/12/2017
42	12315	60	F	16/12/2017
43	12325	18	F	16/12/2017
44	12344	28	М	16/12/2017
45	12348	21	F	16/12/2017
46	12358	57	М	16/12/2017
47	12394	41	M	19/12/2017
48	12403	31	М	19/12/2017
49	12440	56	F	19/12/2017
50	12780	26	M	29/12/2017