

INTERÉS CLÍNICO DEL ESTUDIO COMPARATIVO DE LA SENSIBILIDAD DE LA TÉCNICA DE ZIEHL-NEELSEN CON UNA NUEVA TÉCNICA DIAGNÓSTICA EN TUBERCULOSIS

M. Casal y M.J. Clemente.

Centro de Referencia de Micobacterias. Departamento de Microbiología Médica y Medicina Preventiva. Facultad de Medicina de Córdoba.

En nuestro laboratorio se han procesado para diagnóstico de tuberculosis 860 muestras de origen pulmonar. A ellas se les ha realizado simultáneamente la técnica de Ziehl-Neelsen y la de gota-gruesa de fluorescencia (GGF), descrita recientemente por nosotros de manera comparativa.

Se obtuvo una sensibilidad de 86,54 % y 66,36 %, respectivamente para la técnica de gota-gruesa de fluorescencia y Ziehl-Neelsen y una especificidad de 94,66 % y 98,58 %, respectivamente para dichas técnicas. Resultó estadísticamente significativa la diferencia de la sensibilidad de gota-gruesa de fluorescencia frente a la de Ziehl-Neelsen. Por ello se recomienda el uso de esta nueva técnica de microscopía en todas aquellas muestras en que se quiera determinar la presencia de micobacterias.

Arch Bronconeumol 1990; 26:192-194

Clinical relevance of the comparative analysis of the sensitivity of the Ziehl-Neelsen technique and a new test in the diagnosis of tuberculosis.

In 860 samples processed in our laboratory for the diagnosis of pulmonary tuberculosis, the Ziehl-Neelsen technique was compared with our fluorescent procedure in blood drops. The sensitivity was 86.54 % and 66.36 % for the blood drop and for the Ziehl-Neelsen respectively. The specificity was 94.66 % and 98.58 for the two techniques. Differences in the sensitivity rates between both techniques were statistically significant. Thus, the use of fluorescent reaction in blood drops should be recommended in the investigation of mycobacteria.

Introducción

Sabido es que para el diagnóstico rápido de tuberculosis pulmonar, la baciloscopia con tinción ácido-alcohol-resistente de Ziehl-Neelsen es la técnica más usualmente utilizada.

No obstante, esta técnica tiene una sensibilidad limitada que hace que si el número de bacilos presentes en la muestra no es mayor aproximadamente de 10^3 por mililitro de ella, no sea positiva¹, aunque los cultivos puedan serlo más tarde.

En este trabajo comparamos la sensibilidad de la técnica de Ziehl-Neelsen con una nueva modificación

de microscopía de fluorescencia concentrada, descrita por nosotros² y denominada tinción de gota gruesa fluorescente (GGF).

Material y métodos

Se procesaron un total de 860 muestras de origen pulmonar, para diagnóstico de tuberculosis, de las cuales fueron: 29 aspirados bronquiales y 831 esputos procedentes de pacientes sospechosos de padecer tuberculosis, de pacientes diagnosticados de tuberculosis y en tratamiento y de sospechosos de reactivaciones de su tuberculosis.

Las muestras fueron descontaminadas por los métodos usuales de Tacquet y/o Kubica y/o Lowenstein³.

Seguidamente las muestras fueron teñidas y observadas a microscopía simultáneamente por la técnica de Ziehl-Neelsen y gota-gruesa de fluorescencia²⁻⁴.

Esta técnica de gota gruesa fluorescente ha sido recientemente descrita por nosotros² y consiste sólo en una modificación de la

Recibido el 10-10-1989 y aceptado el 6-2-1990



técnica convencional de fluorescencia utilizada en tuberculosis en la que se usa una muestra más concentrada en forma de gota de gruesa (como en el paludismo) de ahí su denominación y se cambian los tiempos de tinción y decoloración. Los reactivos utilizados y lectura de la técnica son los habituales.

El costo material de la técnica es el mismo que el de cualquier técnica de fluorescencia ya que utiliza los mismos reactivos cambiando solo los tiempos. El tiempo necesario para su realización es un poco mayor (unos 30 minutos), si bien luego se gana en rapidez de lectura por la mayor concentración de la muestra.

Las muestras procesadas se cultivaron en medios de Lowenstein-Jensen y Lowenstein más pirúvico. Dichos cultivos fueron cuantificados cuando eran positivos³.

A los resultados obtenidos se les determinó la sensibilidad y especificidad⁵⁻⁷, así como posteriormente se les realizó la prueba "Zc"⁸ para ver si existían diferencias significativas entre los parámetros estudiados en dichas técnicas.

Resultados

Los resultados de este estudio son mostrados en las tablas I, II y III. En ellas podemos ver cómo se obtuvo en cuanto a verdaderos positivos un 17,21 % para Ziehl-Neelsen y un 22,44 % para gota-gruesa de fluorescencia; 8,72 % de falsos negativos para Ziehl-Neelsen y 3,49 % para gota-gruesa de fluorescencia.

La sensibilidad fue de 66,36 % en el Ziehl-Neelsen frente a un 86,54 % en la gota-gruesa de fluorescencia, la especificidad resultó de 98,58 % en el Ziehl-Neelsen con respecto a la gota-gruesa de fluorescencia que fue de 94,66 %.

Mediante la prueba "Zc", que se refleja en la tabla III, observamos que su aplicación nos dio unos valores de 2,50 y 1,95, respectivamente para la sensibilidad y especificidad. Ello nos indica que la diferencia fue estadísticamente significativa para la sensibilidad y estaba en el límite de significación para la especificidad.

Discusión

En los laboratorios donde se tengan que procesar muestras para diagnóstico de tuberculosis se suele utilizar la microscopía ácido-alcohol-resistencia. La tinción de Ziehl-Neelsen es la más utilizada.

No obstante, es conocido el hecho frecuente en la actualidad de que un 10-20 % de nuestras baciloscopias procesadas hoy resultan negativas a la visualización debido a la existencia de pocos bacilos en la muestra y posteriormente pueden darnos cultivo positivo. Hecho este que nos retrasa el diagnóstico a la vez que nos puede crear confusión previa. Se sabe que se necesitan que existan más de 10³ bacilos por mililitro de esputo para que nos de positiva una baciloscopia por la técnica de Ziehl-Neelsen. En caso contrario, aunque existan bacilos en la muestras no se van a detectar.

También se sabe que en casos de SIDA con tuberculosis, la rentabilidad diagnóstica de esta técnica es muy baja. Aproximadamente la mitad de lo que ocurre en población tuberculosa sin SIDA. Por lo que la técnica de Ziehl-Neelsen en estos casos se presenta como insuficiente.

El tercer inconveniente que tiene la técnica de Ziehl-Neelsen consiste en la necesidad de personal y

TABLE I
Resultados totales y porcentuales de las visualizaciones microscópicas de 860 muestras de origen pulmonar

	Verdaderos positivos	Verdaderos negativos	Falsos positivos	Falsos negativos
Ziehl-Neelsen	148 (17,21 %)	628 (73,02 %)	9 (1,04 %)	75 (8,72 %)
Gota gruesa de fluorescencia	193 (22,4 %)	603 (70,12 %)	34 (3,95 %)	30 (3,49 %)

TABLE II
Comparación de los parámetros estudiados en las 860 muestras de origen pulmonar

	Sensibilidad	Especificidad
Ziehl-Neelsen	66,36 %	98,58 %
Gota gruesa de fluorescencia	86,54 %	94,66 %

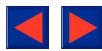
TABLE III
Resultados de la prueba "Zc" para los parámetros estudiados en las dos técnicas de tinción de microscopía ácido-alcohol-resistencia

Sensibilidad	2,5068
Especificidad	1,9502

"Zc" > 1,96 (se considera existe diferencia significativa con una probabilidad de error inferior a 0,05).

de tiempo. Personal se requerirá tanto como puntos de microscopía debemos tener en nuestra organización de la lucha antituberculosa, y tiempo que hace que una persona pase mucho tiempo realizando las lecturas si se hacen correctamente. Este problema ha hecho que expertos mundiales en micobacteriología propongan para ganar tiempo y ahorrar personal, que éste pueda dedicarse al montaje y realización de otras técnicas nuevas en los laboratorios y así reconvertirse; centralizar todas las muestras solo en grandes laboratorios que procesaran las muestras suyas y las remitidas de la periferia. Esto habrá que hacerlo con personal capacitado y una tecnología más sensible y rápida que el Ziehl-Neelsen para conseguir ver en un solo laboratorio el mismo número de muestras que podrían hacer 10 ó más periféricos y además ganar en sensibilidad detectando más casos rápidamente.

En este sentido es en el que hemos desarrollado una modificación de la técnica de fluorescencia que concentra la muestra, utiliza los mismos colorantes con tiempos diferentes de tinción y decoloración y, con unos pocos minutos más de tiempo y el mismo costo que una tinción de fluorescencia convencional, consigue una mayor sensibilidad digna de resaltar que se equipara a la del cultivo posterior. También resulta muy rápida pues, debido a la concentración de la muestra, se ve la mayor cantidad de muestra en el menor tiempo posible.



En comparación con la tinción de Ziehl-Neelsen, sin perder especificidad de manera significativa gana ostensiblemente en sensibilidad.

También la sensibilidad resulta mayor que la que se suele obtener con la técnica de fluorescencia convencional que oscila entre 51 % y 78 %⁹.

Un hecho a destacar es que los casos que fueron falsos positivos, es decir, cultivo negativo y microscopía positiva por nuestra técnica y no por el Ziehl-Neelsen fueron 25. En su historia clínica se reflejaba que estaban recibiendo terapia antituberculosa. Por todo ello no se descarta que existan bacilos en la muestra sino que sólo existen en pequeña cuantía o están con un potencial de crecimiento bajo o incluso muertos. Por ello serían falsos positivos teóricos o convencionales, pero no falsos positivos reales. Hay que tener en cuenta que este hecho es el que hace que la especificidad aparezca como inferior que en el Ziehl-Neelsen, aunque sin diferencia estadísticamente significativa.

En realidad, el concepto de falso positivo tiene validez para relacionar la tinción de Ziehl-Neelsen con el cultivo, dado que el cultivo es más sensible que la tinción, pero no puede ser igualmente aplicable, como hemos visto, a esta nueva tinción mucho más sensible pues se presta a confusión.

Como conclusión podemos decir que la técnica de gota-gruesa de fluorescencia, en muestras de origen pulmonar, obtuvo mayor sensibilidad que las hasta ahora utilizadas, equivalente al cultivo, siendo sencilla y rápida de realizar. Por ello se recomienda como técnica de *screening* en laboratorios de microbiología que procesen muestras clínicas en las que quieran detectar la presencia de micobacterias.

BIBLIOGRAFÍA

1. David H. (1976). Bacteriology of the mycobacterioses. DHEW Publication 1976; 76-8316 (CDC) US Department of Health Public Health Service. CDC, Atlanta, Georgia 30333, USA.
2. Casal M, Clemente M J. Interés en microbiología clínica de una nueva técnica de microscopía para el diagnóstico de la tuberculosis. Rev Esp Microb Clin 1989; 4:183-185.
3. Casal M. Bacteriología de la tuberculosis y micobacteriosis. 1 ed. Madrid Editorial AC. 1983.
4. Casal M, Clemente MJ. A new fluorescence technique of major sensitivity in the diagnosis of tuberculosis. En: Mycobacteria of clinical interest. Amsterdam Excerpta Médica 1986; 51-54.
5. Laven GT. Diagnosis of tuberculosis in children using fluorescence microscopy examination of gastric washings. Am Rev Respir Dis 1971; 115:743-749.
6. Morton RF, Hebl JR. Bioestadística y epidemiología. 2 ed México DF. Ed. Interamericana 1985; 59-64.
7. Toman K. (1980) Tuberculosis: detección de casos y quimioterapia. 1 ed. México OPS. 1980.
8. Domenech I, Massons JM. Bioestática. Métodos estadísticos para investigadores. 3 ed. Barcelona. Herder 1980; 135-171.
9. Strumpf IJ, Tsang AY, Sayre JW. Re-evaluation of sputum staining for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1979; 119:599-602.