

**CENTRO PROVINCIAL DE HIGIENE Y EPIDEMIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
GUANTANAMO**

**EVALUACION DE LA COLORACION
DE ZIEHL-NEELSEN MODIFICADA**

Lic. Lourdes M. Expósito Boné¹, Téc. Ania Elba Bess Terry², Lic. Milagros Pérez del Valle.³

RESUMEN

La presente investigación se realiza en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Guantánamo en el período comprendido desde enero de 2005 hasta julio de 2008, debido al insuficiente suministro de colorantes para la baciloscopia del bacilo tuberculoso, con el objetivo de evaluar la reducción de la concentración de la fucsina, azul de metileno y ácido clorhídrico. Se realiza la tinción de 500 extensiones de esputos productivos con colorantes de Ziehl-Neelsen normados y modificados de forma concurrente. Se establecen categorías de verdaderos y falsos, positivos y negativos, para determinar la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo que informan sobre correspondencia de los resultados con aplicación de coloración normada y modificada. Se concluye que la coloración modificada mantiene la calidad del diagnóstico, es tan sensible y específica como la normada y ahorra colorantes.

Palabras clave: AGENTES COLORANTES; MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS/aislamiento y purificación; INNOVACIÓN.

INTRODUCCION

En épocas de deficiente abastecimiento se enfrentaron dificultades en el suministro de colorantes, tal es el caso de los utilizados en la coloración de Ziehl-Neelsen que no eran suministrados en forma convencional listos para el uso, o en su defecto, los productos químicos que lo componen, a partir de los cuales se pueden confeccionar en el laboratorio.

¹ *Master en Enfermedades Infecciosas. Licenciada en Ciencias Biológicas. Especialista en Microbiología. Asistente.*

² *Técnico en Microbiología.*

³ *Licenciada en Ciencias Biológicas. Especialista en Microbiología.*

Mycobacterium tuberculosis es el microorganismo productor de tuberculosis (TB), se caracteriza por su resistencia a la decoloración por el alcohol y los ácidos, lo que está dado por la integridad de su cubierta de cera, de ahí, deriva el nombre de bacilo ácido-alcohol resistente (BAAR).¹⁻³

La detección de BAAR en frotis teñidos aplicando tinción de Kinyoun o la de Ziehl-Neelsen, es el procedimiento más sencillo y rápido para el diagnóstico y control del tratamiento de TB pulmonar. Es necesario realizar la confirmación por cultivo con la utilización del medio de Lowenstein-Jensen y llevar a cabo la determinación de la susceptibilidad a los antimicrobianos. Existen nuevas técnicas para realizar este diagnóstico y a pesar de las ventajas que ofrecen no pueden desplazar la baciloscopia y el cultivo por lo costosas y complejas, ya que es una enfermedad que está directamente relacionada a la pobreza.⁴⁻⁷

A partir de esta situación problema, se considera conveniente desarrollar esta investigación, con el objetivo de evaluar la reducción de concentración de los colorantes de Ziehl-Neelsen, con lo que se lograría ahorro de colorantes y posibilidad de profundizar en el conocimiento teórico y práctico al elaborarse un nuevo medio diagnóstico.

METODO

Se realiza un estudio en el laboratorio de Microbiología del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Guantánamo con el objetivo de evaluar la reducción de la concentración de la fucsina, azul de metileno y ácido clorhídrico en el período comprendido desde enero 2005 hasta julio de 2008.

El universo de estudio está formado por 500 extensiones de esputos coloreadas con diferentes lotes de colorantes modificados.

1. Análisis de formulación de colorantes y decolorantes de tinción de Ziehl Neelsen.^{2,8,9}

A continuación se exponen las fórmulas de la coloración de Ziehl-Neelsen y la modificación:

COMPONENTES	Coloración Ziehl Neelsen	Coloración Ziehl Neelsen modificada
Fuschina fenicada		
Fucsina fenicada en polvo (g)	5.0	2.5
Alcohol de 95° (ml)	100.0	100.0
Fenol cristales (g)	50.0	25.0
Solución decolorante		
Acido clorhídrico concentrado (ml)	3.0	1.5
Alcohol al 70 % (ml)	97.0	98.5
Colorante de contraste		
Azul de metileno en polvo (g)	0.01	0.005
Agua destilada (ml)	100.0	100.0

Se propone la reducción de los productos que forman parte de los colorantes de Ziehl-Neelsen al 50 %.

2. Control de la calidad

Para verificar la estabilidad de los colorantes modificados, se confeccionaron diez lotes y se utilizaron de forma concurrente con la coloración de referencia en la tinción de 500 extensiones de esputo.

3. Técnicas de análisis estadísticos¹⁰⁻¹²

Las 500 extensiones de esputo se colorearon de forma concurrente con la coloración de Ziehl-Neelsen normada y la modificada para comparar resultados y determinar:

- a) Confiabilidad o reproducibilidad: Mide nivel de concordancia entre pruebas repetidas.
- b) Validez (sensibilidad y especificidad) y rendimiento (valor predictivo positivo y negativo): Se aplicaron las fórmulas correspondientes y se confeccionó hoja de cálculo donde se introdujeron valores de las siguientes categorías:
 - Verdaderos positivos: La coloración normada, modificada y cultivo son positivos (Se observa y crece BAAR).
 - Verdaderos negativos: La coloración normada, modificada y cultivo son negativos (No se observa y no crece BAAR).
 - Falsos positivos: La coloración normada y cultivo son negativos (No se observa y no crece BAAR) y la coloración modificada es positiva (Se observan imágenes sugestivas de BAAR).

- Falsos negativos: La coloración normada y cultivo son positivos (Se observa y crece BAAR) y la coloración modificada negativa (No se observa BAAR).

RESULTADOS Y DISCUSION

Se diseñó e implementó el uso de coloración de Ziehl-Neelsen modificada, a la que se le realizaron diferentes ensayos para verificar y comprobar su efectividad.

Como resultado de control de calidad, de los 10 lotes de colorantes confeccionados, se obtuvo que los resultados de la coloración concurrente de las 500 extensiones de esputo utilizando Ziehl-Neelsen normado y modificado fueron idénticos, esto garantiza la estabilidad de los colorantes durante su conservación.

EVALUACION DE COLORACION DE ZIEHL NEELSEN MODIFICADA

1. Confiabilidad o reproducibilidad: La formulación modificada resultó reproducible, es decir, existe concordancia entre coloraciones repetidas de la misma muestra.
2. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo: Al determinar los verdaderos positivos y negativos, se encontró que la coloración de BAAR utilizando coloración modificada estuvo en correspondencia total con la coloración de referencia, por lo que no se registraron falsos positivos y negativos. Los valores de los verdaderos y falsos positivo y negativos fueron calculados los valores de la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo, obteniéndose para todos los casos valores de 100 %, lo que expresa correspondencia total que existe entre la información ofrecida por la coloración modificada y la obtenida con la coloración de referencia.

VENTAJAS DEL USO DE LA COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN MODIFICADA

1. Por cada 100 ml de cada solución que forma parte de coloración de Ziehl-Neelsen se ahorra 2.5, 25 y 0.005 g de fucsina fenicada en polvo, fenol y azul de metileno en polvo, respectivamente, así como 1.5 ml de ácido clorhídrico concentrado.

2. Se atiende el doble de pacientes con los mismos recursos.
3. El bacilo puede observarse en el microscopio con buena nitidez.
4. Al estar más diluido el colorante, no se observan restos de fucsina en la coloración, lo cual puede confundir a microscopista no experimentado.
5. Los controles de calidad enviados a Ciudad de La Habana han resultado satisfactorios.

La coloración de Ziehl-Neelsen modificada ha sido utilizada con muy buenos resultados a partir del año 1999 en el laboratorio de Microbiología. En la revisión bibliográfica realizada no se encuentran trabajos similares a este.

CONCLUSIONES

- Se logró diseñar, implementar y evaluar coloración de Ziehl-Neelsen modificada.
- Se obtienen valores de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo, que expresan correspondencia total entre información obtenida con utilizando de coloración normada y modificada.

RECOMENDACIONES

Es una formulación sencilla, económica, fácil de preparar, estable en su conservación, que ofrece garantía en el diagnóstico, por lo que recomendamos su uso.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg Edward A. Manual de Microbiología Médica. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
2. Norma Cubana de Microbiología. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 1971.
3. Llop Hernández A, Valdés Dapena Vivanco MM, Suazo Silva JL. Microbiología y parasitología médicas. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2001.

4. Betancourt J, Ruiz N, Cruces P, Velásquez W. Sensibilidad de los métodos baciloscopia, cultivo y ELISA para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar, en pacientes del Edo. Vargas-Venezuela. Maracaibo[BD en Internet]. 2002[citado: 22 oct 2007]. Disponible en: http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?pid=S0075-222002012000005&script=sci_arttext.
5. Llaca Díaz JM, Flores Aréchiga A, Martínez Guerra MG, Cantú Martínez PC. la Baciloscopia y el cultivo en el diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar. Revista de Salud Pública y Nutrición. 2003[citado: 22 oct 2008]; 4(3). Disponible en: http://www.respyn.uanl.mx/iv/3/articulos/tbexp_co.htm.
6. www.paho.org[En página web]. Hospitales seguros frente a desastres. Vigilancia Sanitaria y Prevención y Control de Enfermedades. Organización Panamericana de la Salud. 2008/2009. [citado: 22 jul 2009]. Disponible en: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/tb-labs-baciloscopia.htm>.
7. [wikipedia.org](http://es.wikipedia.org/wiki/Tuberculosis)[En página web]. Conocimiento para siempre. Tuberculosis. Nov. 2009[citado: 22 dic 2009]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Tuberculosis>.
8. [En pdf]Coloración BK. 2007/2008. Disponible en: <http://www.ihrdiagnostica.com/tecnicas/pdf/ColoracionBKv2.pdf>.
9. [En página web]Wikipedia para siempre. Tinción de Ziehl Neelsen. [citado: Oct 2009]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Tinci%C3%B3n_de_Ziehl_Neelsen.
10. Baryarre H, Hersford R. Metodología de la Investigación. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004.
11. Hernández Sampier R. Metodología de la Investigación I. La Habana: Editorial Félix Varela; 2004.
12. Baryarre H, Hersford R, Oliva M. Estadística descriptiva y estadística de salud. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2005.

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS UTILIZANDO COLORACION DE ZIEHL NEELSEN NORMADA Y MODIFICADA.

RESULTADOS	COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN NORMADA	COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN MODIFICADA
Verdaderos positivos	38	38
Verdaderos negativos	462	462
Falsos positivos	-	-
Falsos negativos	-	-
<i>TOTAL</i>	500	500