

EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE DOS MÉTODOS DE BACILOSCOPIA

Amador Flores Aréchiga, Jorge M. Llaca Díaz y Esteban G. Ramos Peña*
Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González,
Universidad Autónoma de Nuevo León
*Subdirección de Posgrado, Facultad de Salud Pública y Nutrición , , Universidad
Autónoma de Nuevo León
E-mail: llaca@usa.net

Introducción



A pesar que la tuberculosis es una enfermedad que se puede prevenir y curar, continúa siendo un problema serio de salud pública para el mundo y que causa millones de casos nuevos cada año.

Actualmente una tercera parte de la población se encuentra infectada por el bacilo de la tuberculosis, cada año hay 8 millones de casos nuevos, la Tuberculosis, mata cada año a dos millones de personas, entre el 2000 y el 2020 se infectarán mil millones de personas y 35 millones morirán(1) en 1998 la tasa media por 100,000 hab. De tuberculosis pulmonar en México fue de 18.74, el rango fluctuó de 3.65 en Zacatecas hasta 47.47 para Chiapas, la tasa en el estado de Nuevo León fue de 31.10, el rango de la tasa de mortalidad para el país fue de 1.42 para el estado de México hasta 8.60 para Chiapas, en Nuevo León fue de 5.0 (2)

Entre los factores que influyen en el agravamiento de la enfermedad, se encuentra la pandemia de VIH y la resistencia a las drogas, lo que provocó que la Organización Mundial de la Salud declarara en 1993 a la tuberculosis como una emergencia sanitaria mundial (3)

El Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis tiene por objetivo, disminuir el sufrimiento humano y prevenir la transmisión de la infección. Con las metas de curar al 85% de los casos nuevos de tuberculosis detectados con baciloscopia positiva y detectar al 70% de los casos existentes (4)

Para el propósito del control de la Tuberculosis Pulmonar, un caso, es un individuo que disemina bacilos tuberculosos. El objeto de la detección de casos en el control de la tuberculosis, es identificar las fuentes de infección en una comunidad, es decir las personas que transmiten la infección por el bacilo tuberculoso.

En los países en desarrollo, con una alta prevalencia de tuberculosis o en grupos preseleccionados de pacientes nuevos, aquellos con síntomas como tos persistente, esputo purulento y hemoptisis, el examen microscópico directo o baciloscopia (Bac) es la técnica fundamental tanto en el diagnóstico como en el control del tratamiento en toda investigación bacteriológica de la Tuberculosis Pulmonar (5)

Con el fin de facilitar el trabajo del personal de laboratorio, en este estudio se propone una modificación en la realización e interpretación de la baciloscopia, a lo que

llamaremos baciloscopia de área reducida (BACRED) y compararlo con la baciloscopia que se viene realizando actualmente y al cual nos referiremos como baciloscopia de área extensa (BACEX).

Se pretende establecer si existe diferencia respecto a la sensibilidad y especificidad entre ambos métodos de baciloscopia.

Material y Métodos.

Se le proporcionó a los pacientes, un instructivo con las indicaciones para la recolección y una pomadera para la recolección de la muestra de esputo. Si es necesario, es posible conservar la muestra en refrigeración hasta el momento de su proceso para baciloscopia y cultivo (6, 7)

El área de trabajo para baciloscopias fue un Gabinete de Seguridad Biológica Tipo II, BBL / Becton Dickinson. Se trabajaron un máximo de 12 muestras en cada tanda, una vez.

Con lápiz diamante se numera en uno de los extremos los portaobjetos nuevos de medida estándar (7.5 cm por 2.5 cm). Se utilizaron portaobjetos nuevos marcados como plantillas, sobre los cuales se realizaron las Bac con el fin de delimitar el área de la BACEX (13.75 cm²) y otros fueron marcados para la BACRED (2 cm²).

Para controlar el volumen de la muestra, se utilizaron asas bacteriológicas de platino con un diámetro interno de 3 milímetros, el volumen contenido en esta asa es de unos 0.01 ml (8) , en las BACRED se depositó una asada mientras que en las BACEX se depositaron 6 asadas equivalente a unos 0.06 ml.

El asa bacteriológica una vez que fue utilizada para depositar la muestra, se introduce en un matraz Erlenmeyer de 250 ml que contiene arena de mar y fenol al 5% para limpiarla y desinfectarla. Los aplicadores de madera utilizados para hacer el frotis se desechan en un frasco de vidrio de un litro de capacidad aproximadamente el cual contendrá unos 100 mililitros de fenol al 5%. Es recomendable la protección con bata de manga larga, guantes y mascarilla (9, 10, 11).

La técnica de tinción utilizada fue la de Ziehl-Neelsen tradicional (12).

La observación microscópica la realizaron tres Químicos distintos. Un inexperto, que recibió entrenamiento en la técnica para el presente estudio, tanto en la preparación del frotis, como tinción y observación microscópica. Un segundo Químico, con mediana experiencia de 5 años en observación de baciloscopias. Un tercer Químico, experto con 15 años en observación de baciloscopias.

Los tres emplearon el mismo microscopio binocular marca Zeiss modelo K7, con oculares de 20X y objetivo de inmersión 100X. Antes de la observación se limpiaban las lentes con algodón y se ajustaba la iluminación según Köhler..

La observación debe establecer en primer término si se encuentran BAAR en el extendido y si los hay, el número aproximado de ellos por campo microscópico útil.

Se considera un campo microscópico útil aquel en el cual se encuentran elementos celulares de origen bronquial como leucocitos y células ciliadas además de moco, en los campos donde no se encuentren dichos elementos no deberán contabilizarse en la lectura.

El criterio a seguir en la BACEX es: el número de campos varía según la cantidad de bacilos encontrados:

1. Si no se encuentran bacilos debe examinarse por lo menos 100 campos útiles.
2. Si se encuentran de 1 a 10 bacilos por campo es suficiente observar 50 campos.
3. Si se encuentran más de 10 bacilos por campo es suficiente observar 20 campos.

El criterio a seguir en la BACRED es: el número de campos varía según la cantidad de bacilos encontrados:

1. Si no se encuentran bacilos debe examinarse por lo menos 100 campos útiles.
2. Si se observan menos de 9 bacilos en los 100 campos útiles, reportarlo positivo por número, es decir desde 1 bacilo hasta 9.
3. Si se encuentran de 1 a 10 bacilos por campo es suficiente observar 50 campos.
4. Si se encuentran más de 10 bacilos por campo es suficiente observar 20 campos.

Terminada la observación de la Bac es requisito que se limpie con algodón el objetivo de inmersión para evitar que se transporten fragmentos de una Bac a otra.

INFORME DE RESULTADOS.

BACEX.

Negativo: no se observan BAAR en 100 campos observados.

Positivo +: se observan menos de un bacilo por campo en promedio en 100 campos observados.

Positivo ++: se observan de 1 a 10 bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.

Positivo +++: Se observan más de 10 bacilos por campo en promedio en 20 campos observados.

Es necesario encontrar como mínimo 4 BAAR en la Bac para reportarlo positiva, si se encuentran de 1 a 3 bacilos esta es la conducta a seguir:

1. Ampliar la lectura a 200 campos.
2. Si lo anterior no modifica la lectura repetir la Bac.
3. Si se encuentra la misma cantidad de bacilos (1 a 3) se reporta como negativo poniendo una nota en el diario de trabajo sobre lo observado.

BACRED.

Negativo: no se observan BAAR en 100 campos observados.

Positivo por número si se observan menos de 9 bacilos en los 100 campos útiles, reportar desde 1 hasta 9 bacilos.

Positivo +: se observan más de 10 bacilos, equivalentes a menos de un bacilo por campo en promedio en 100 campos observados.

Positivo ++: se observan de 1 a 10 bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.

Positivo +++: Se observan más de 10 bacilos por campo en promedio en 20 campos observados.

Para el cultivo del bacilo tuberculoso, previamente se descontaminan las muestras por el método de Petroff (13) , se utilizó un medio de cultivo líquido de Middlebrook selectivo MB/Bact, el cual llega a tener una sensibilidad y especificidad del 100% en comparación con otros métodos de cultivo tradicional. (14, 15)

Los cultivos positivos detectados por el sistema MB/Bact, fueron identificados mediante pruebas como: niacina, catalasa a 25 y 68°C, ureasa, hidrólisis del Tween 80, reducción de nitratos a nitritos, características macroscópicas de las colonias en medio de Lowenstein-Jensen y frotis de la colonia para observar sus características microscópicas. (16, 17, 18)

Resultados.

Se estudiaron 100 pacientes, 58 hombres y 42 mujeres; el promedio de edad del grupo en estudio es de 49 años, con un rango de 11-103 años.

El cultivo fue negativo en 76 pacientes, en 23 casos fue positivo para *Mycobacterium tuberculosis* y 1 para *Mycobacterium chelonae*.

Las baciloscopias observadas por el microscopista inexperto, cuando se trató de la baciloscopia de área extensa (BACEX), resultaron positivas el 16% de los pacientes y negativas en el 84%; para la baciloscopia de área reducida (BACRED), reportó 18% positivas y 82% negativas. (Ver Tabla 1 y 2)

Al correlacionar los resultados del microscopista inexperto para BACEX con el cultivo, se determinó una sensibilidad de 45%, I_{c95} (0.25, 0.65), y una especificidad de 93%, I_{c95} (0.88, 0.98), y eficiencia de 82%, I_{c95} (0.75, 0.89); así mismo para BACRED, la sensibilidad fue del 54%, I_{c95} (0.43, 0.65), y la especificidad del 93%, I_{c95} (0.88, 0.98), la eficiencia del 84%, I_{c95} (0.77, 0.91).

El microscopista medianamente experto reportó el 19% de baciloscopias positivas y 81% negativas para BACEX; cuando se trató de BACRED se dieron los mismos porcentajes.

Los resultados del microscopista medianamente experto con relación al cultivo, revelaron para BACEX una sensibilidad del 75%, I_{C95} (0.58, 0.92), la especificidad de 98%, I_{C95} (0.95, 1.0) y la eficiencia de 93%, I_{C95} (0.88, 0.98).

Del mismo microscopista para BACRED, la sensibilidad fue del 75%, I_{C95} (0.58, 0.92), la especificidad del 98%, I_{C95} (0.97, 1.0) y la eficiencia del 93%, I_{C95} (0.88, 0.98).

El microscopista experto reportó para BACEX, 19% de positivas y 81% de negativas; para BACRED los mismos porcentajes.

En correlación al cultivo, los resultados del experto para BACEX mostraron una sensibilidad del 79%, I_{C95} (0.63, 0.95), la especificidad del 100% y la eficiencia del 95%, I_{C95} (0.91, 0.99).

Para BACRED la sensibilidad fue del 79%, I_{C95} (0.63, 0.95), la especificidad del 100% y la eficiencia del 95%, I_{C95} (0.91, 0.99).

Tabla 1. Sensibilidad, Especificidad y Eficiencia según experiencia del Químico Clínico Biólogo en la BACEX

<u>Personal</u>	Sensibilidad	Especificidad	Eficiencia
Inexperto	45% (0.25, 0.65)	93% (0.88, 0.98)	82% (0.75, 0.89)
Medianamente experto	75% (0.58, 0.92)	98% (0.95, 1.0)	93% (0.88, 0.98)
Experto	79% (0.63, 0.95)	100% 0	95% 0.91, 0.99

Tabla 2. Sensibilidad, Especificidad y Eficiencia según experiencia del Químico Clínico Biólogo en la BACRED

<u>Personal</u>	Sensibilidad	Especificidad	Eficiencia
Inexperto	54% (0.43, 0.65)	93% (0.88, 0.98)	84% (0.77, 0.91)

	75%	98%	93%
Medianamente experto	(0.58, 0.92)	(0.97, 1.0)	(0.88, 0.98)
	79%	100%	95%
Experto	(0.63, 0.95)	0	(0.91, 0.99)

Discusión

Los métodos nuevos de laboratorio deben evaluarse para determinar su capacidad para diagnosticar las enfermedades, con el fin de comparar los resultados con la presencia o ausencia de enfermedad en el paciente.

El método de baciloscopia propuesto por el investigador, plantea diferencias respecto al método de baciloscopia que tradicionalmente se utiliza en nuestro país para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar.

Tales diferencias nos llevó a plantear una hipótesis tendiente a afirmar que existe diferencia entre ambos métodos, lo cual tendría un impacto en el diagnóstico y control de la tuberculosis.

Los resultados obtenidos demuestran que no existe diferencia entre ambos métodos ($p \Rightarrow 0.05$) respecto a la sensibilidad y especificidad diagnóstica.

Sin embargo la sensibilidad y especificidad diagnóstica en ambos métodos cuando son observados por microscopistas inexpertos son muy pobres; de esta manera no es posible alcanzar la meta que trazó el Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis, que es la de detectar al 70% de los casos existentes.

Esto implica, que en el caso de BACEX el microscopista inexperto no identifica a un 25% de enfermos tuberculosos que arrojan bacilos, los cuales siguen siendo fuentes de infección para la comunidad; para BACRED es un 16% de enfermos bacilíferos que no identifica.

Los microscopistas medianamente expertos y expertos, cumplen con la meta al identificar a más del 70% de los casos de tuberculosis existentes y tienen la capacidad de descartar la enfermedad cuando esta no está presente.

Al preparar adecuadamente las baciloscopias, controlando las variables que influyen en su valor diagnóstico como son; la calidad de la muestra, tamaño del extendido, cantidad de la muestra depositada en la laminilla, coloración del frotis y la observación en un microscopio en buen estado, resulta indudable que la experiencia del microscopista que observa las baciloscopias definitivamente influye en la sensibilidad y especificidad de ambos métodos de baciloscopia.

Respecto a la eficiencia de ambos métodos diagnósticos, no existe diferencia ($p \Rightarrow 0.05$); sin embargo es baja en el caso del microscopista inexperto.

Conclusiones

Ambos métodos de baciloscopia pueden ser utilizados para el diagnóstico y control de la tuberculosis pulmonar, con el mismo nivel de confianza. Así mismo, la experiencia es un factor determinante que influye en el valor diagnóstico de la baciloscopia. Por lo cual todo Laboratorio que realice baciloscopias, deberá contar con un control de calidad interno y externo; donde prevalezca como punto medular el entrenamiento de bacteriología de la tuberculosis para el personal inexperto.

Referencias

1. WHO. 2001 Global tuberculosis Control. WHO Report 2001.
2. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud (www.ssa.gob.mx)
3. Raviglione MC, P Sudre, HL Rieder, S Spinaci, and A Kochi. 1993 Secular trends of tuberculosis in Western Europe. Bull WHO; 71:297-306.
4. OPS 1988. Control de la Tuberculosis. Manual sobre Métodos y Procedimientos para Programas Integrados. OPS/OMS Publicación Científica Núm. 498
5. Toman, K.,1980. Tuberculosis .Detección de Casos y Quimioterapia. Preguntas y Respuestas, OPS/OMS Publicación Científica Núm. 392, pp 3-73
6. OPS 1988a. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para la Bacteriología de la Tuberculosis, Parte I La Muestra. El Examen Microscópico, Nota Técnica Núm. 26/Rev. I
7. OPS 1988b. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para la Bacteriología de la Tuberculosis, Parte II. El Cultivo , Nota Técnica Núm. 27/Rev. I (7)
8. Toman, K, *op cit.*.
9. OPS 1988b., *op cit.*
10. Koneman, W Elmer., Allen D Stephen., Sommers, y M Herbert. 1985 Diagnóstico Microbiológico Ed. Panamericana pp 403-426
11. Richmond JY; and RW McKinney., 1993 Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Publication No. CDC 93-8395. US Dept of Health and Human Services, Public Health Service, C for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, ed3, , pp 93-96.
12. OPS 1988 a *op.cit.*
13. OPS 1988b., *op cit.*
14. Couchot K, and R Talbot,, 1996 Direct DNA Probe of MB/Bact Mycobacterial Culture System Bottles for Mycobacterium avium complex and Mycobacterium

Tuberculosis complex Annual Meeting of the American Society for Microbiology pp 55-58

15. Wanger, A., R. Clarck, J. Bua, A. Eduards, and J. Ho, 1996. Comparison of MB/Bact and conventional methods for detection of Mycobacterium species. Annual Meeting of the American Society for Microbiology pp 73-78

16. OPS 1988b., *op cit.*

17. Koneman, W Elmer *et. al. op cit* (

18. Collins, C.H., J.M.. Grense, M.D. Yates 1997. Tuberculosis Bacteriology: Organization an Practice Ed. Buttetworth Heinemann Second Edition pp 1-56

Resumen

La baciloscopia es la herramienta más útil en el diagnóstico, control y tratamiento de la tuberculosis, sobre todo en países en desarrollo. El propósito fue demostrar si existía diferencia en la sensibilidad y especificidad en la baciloscopia de área extensa (BACEX) con respecto a la de área reducida (BACRED). Fue un estudio de corte transversal, no probabilístico, realizado en esputo de 100 pacientes que acudieron al Hospital Universitario "Doctor José Eleuterio González" UANL en la cd. de Monterrey, el esputo debería tener calidad, aspecto purulento, contenido en un recipiente plástico de alta densidad, translúcido y estéril, se estandarizó el área de observación, la cantidad de muestra y experiencia de los observadores. El 58% fueron del género masculino, 42% femenino; promedio de edad fue de 49 años (rango 11 a 103), 76% tuvo el cultivo negativo, 23% positivo para Mycobacterium tuberculosis, 1% para Mycobacterium chelonae. La BACEX observada por microscopistas inexpertos tuvo una sensibilidad del 45% (IC₉₅ 0.25, 0.65) y especificidad del 93% (IC₉₅ 0.88, 0.98), para la BACRED la sensibilidad fue del 54% (IC₉₅ 0.43, 0.65) y especificidad del 93% (IC₉₅ 0.88, 0.98); La BACEX y la BACRED observada por el microscopista medianamente experto, la sensibilidad fue del 75% (IC₉₅ 0.58, 0.92) y especificidad del 98% (IC₉₅ 0.95, 1.00); para el experto, la sensibilidad fue del 79% (IC₉₅ 0.63, 0.95) y especificidad del 100%. No se encontró diferencia significativa entre la sensibilidad y especificidad de ambos métodos, la experiencia fue un factor determinante que influyó en el valor diagnóstico de la baciloscopia, todo laboratorio que realice baciloscopias deberá establecer controles de calidad interno y externo, los microscopistas inexpertos deberán recibir entrenamiento.

Palabras clave: Tuberculosis, baciloscopia, cultivo.

Abstract

The **direct microscopic exam** is the most useful tool in the diagnosis, control and treatment of the tuberculosis, mainly in countries in development. The purpose was to demonstrate if difference existed in the sensibility and specificity in the **direct microscopic exam** of extensive area (BACEX) with regard to that of reduced area (BACRED). it was a study carried out in 100 patients' that went to the Hospital

University Doctor José Jose Eleuterio González UANL (Monterrey, N.L, México). The sputum should have quality and aspect, content in a plastic recipient of high density, translucent and sterile, it was standardized the observation area, the quantity of sample and the observers' experience. 58% was of the masculine and , feminine42 %; age average was of 49 years (range 11 at 103), 76% had the negative cultivation, positive23 % for *Mycobacterium tuberculosis*, 1% for *Mycobacterium chelonae*. The BACEX observed by inexpert personal had a sensibility of 45% (IC95 0.25, 0.65) and specificity of 93% (IC95 0.88, 0.98), for the BCRED the sensibility was of 54% (IC95 0.43, 0.65) and specificity of 93% (IC95 0.88, 0.98); The BACEX and the BACRED observed by the fairly expert personal, the sensibility was of 75% (IC95 0.58, 0.92) and specificity of 98% (IC95 0.95, 1.00); for the expert, the sensibility it was of 79% (IC95 0.63, 0.95) and specificity of 100%. he/she was not significant difference between the sensibility and specificity of both methods, the experience was a decisive factor that influenced in the value diagnosis of the **direct microscopic exam** ,all laboratory that it carries out **direct microscopic exam** it will establish quality intern's controls and external, the inexpert personal will receive training.

Key words: ***Tuberculosis, direct microscopic exam, cultivate***