Andersson I, Ching M, Valencia T, Carrera S, Osorio CE, Llacza M, Montoya R, Evans C.
La sedimentación con lejía reduce la cantidad de micobacterias visibles en el microscopio de frotis de esputo
Presentación de resumen PC-615-02, 2 de noviembre de 2013.

En Actas de la 44ª Conferencia Mundial sobre Salud Pulmonar de la Unión Internacional contra la Tuberculosis y las Enfermedades Pulmonares (La Unión): 30 de octubre a 3 de noviembre de 2013; París, Francia.
*International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 2013; 17(12 Suppl 2):S309.
Acceso abierto: <https://www.theunion.org/what-we-do/journals/ijtld/body/ABSTRACT_BOOK_2013_Web.pdf>

**Antecedentes:** En los países en desarrollo, el diagnóstico de tuberculosis pulmonar (TB) sigue basándose en la técnica centenaria de Ziehl-Neelsen (ZN) de tinción de frotis de esputo para microscopía. Este procedimiento tiene las limitaciones de riesgo biológico para el personal de laboratorio y baja sensibilidad porque la concentración de bacilos acidorresistentes (AFB) en las muestras de esputo es demasiado baja para la detección microscópica en aproximadamente la mitad de los pacientes con cultivo positivo. El blanqueador se utiliza en varios protocolos para esterilizar el esputo para microscopía, pero esto tiene efectos indefinidos sobre la sensibilidad diagnóstica del frotis de esputo.

**Objetivos:** Determinar el efecto de los protocolos de sedimentación con lejía sobre la concentración de AFB visible para microscopía de frotis de esputo.

**Métodos:** Se utilizaron muestras de esputo de pacientes con tuberculosis confirmada microbiológicamente para preparar frotis directos convencionales y luego se dividieron en cuatro alícuotas de un ml que se agitaron con un volumen igual de lejía al 5%. Para el protocolo de blanqueo rápido, la mezcla se sedimentó luego durante 45 minutos. Para el protocolo de blanqueo durante la noche, después de 15 minutos, se añadieron diez ml de agua y se sedimentaron durante la noche. Para el protocolo de blanqueo-centrifugación, después de 15 minutos, se agregaron 30 ml de agua salina y se centrifugó la mezcla. En todos los casos, el sedimento se aplicó para duplicar los portaobjetos de microscopio simple y duplicar los portaobjetos tratados con albúmina. Uno de cada portaobjetos se tiñó con el colorante ZN y el otro con el colorante Auramina-O. El número de AFB visibles en 100 campos se contó usando un microscopio iLED con aumento de 100x.

**Resultados**: Todos los protocolos de blanqueo redujeron significativamente el número de AFB visibles independientemente de las condiciones de tinción (P ⩽ 0,001). La sedimentación nocturna redujo los recuentos de AFB significativamente más que la sedimentación rápida. El tratamiento con lejía con centrifugación fue menos sensible que cualquier otra técnica (P <0.01), reduciendo los recuentos de AFB aproximadamente 30 veces. El pretratamiento con albúmina de los portaobjetos de microscopio no afectó los recuentos de AFB (P = 0,7). Significativamente más AFB fueron

visible con tinción de auramina que con tinción de ZN (P <0,05).

**Conclusiones**: Aunque el blanqueador mejora la bioseguridad de la microscopía de frotis de esputo, las tres técnicas de blanqueo que evaluamos redujeron la concentración de AFB visible, especialmente cuando se integra con centrifugación. La metodología cuantitativa que desarrollamos define con precisión el efecto de concentración / dilución de los protocolos de microscopía y puede permitir la optimización del tratamiento de esputo con lejía para aumentar la sensibilidad diagnóstica.