Datta S, Ching M, Valencia T, Ramos E, Tovar M, Coleman D, Evans C.
Tinción de auramina y microscopía fluorescente para el diagnóstico de tuberculosis: una comparación controlada de protocolos de microscopía de frotis de esputo
Presentación de resumen PD-837-31, 31 de octubre de 2014.

En Actas de la 45ª Conferencia Mundial sobre Salud Pulmonar de la Unión Internacional contra la Tuberculosis y las Enfermedades Pulmonares (La Unión): 28 de octubre a 1 de noviembre de 2014; Barcelona, España.
*International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 2014;18(11 Suppl 1):S291-292.
Acceso abierto: <https://www.theunion.org/what-we-do/journals/ijtld/body/Abstract_Book_2014-Web.pdf>

**Antecedentes:** La microscopía de frotis de esputo fluorescente con tinción de auramina es el método de microscopía de tuberculosis (TB) recomendado, debido a su mayor sensibilidad y eficiencia en el tiempo en comparación con la microscopía óptica con tinción de Ziehl-Neelsen. Sin embargo, los procedimientos operativos estándar de tinción de auramina nacional e internacional varían.

**Objetivos:** Determinar los efectos sobre los resultados de la microscopía de auramina de la duración de: 1. tinción de auramina; 2. extinción de la fluorescencia de fondo con permanganato de potasio (KMnO4), y 3. Aclarar el protocolo óptimo de tinción con auramina.

**Métodos:** Un total de 200 portaobjetos de microscopía de frotis de esputo se obtuvieron a partir de muestras de esputo homogeneizadas con vórtice procedentes de pacientes con tuberculosis pulmonar que se clasificaron mediante microscopía previa como baciloscopia negativa, límite, þ, þþ yþþþ. Cada portaobjetos tenía 40 microlitros de esputo repartidos en un área de 2 3 2 cm. Los portaobjetos se tiñeron con auramina durante 15 o 20 minutos. Después de 2 minutos de decoloración con alcohol ácido al 0,05%, la fluorescencia de fondo se apagó mediante inundación con permanganato de potasio durante 0,5 minutos (recomendación local), 1 minuto (protocolo de la OMS), 2 minutos (recomendación de los CDC), 3 minutos (control positivo) o sin templar (control negativo). Se utilizaron portaobjetos por cuadruplicado para cada protocolo. Los portaobjetos se cegaron y se leyeron el mismo día utilizando un microscopio Nikon iLED de aumento de 100x, y se volvió a leer el 10% de los portaobjetos para el control de calidad. Todos los resultados se registraron como recuentos por cien campos de microscopía.

**Resultados:** La duración de la tinción con microscopía de auramina no tuvo ningún efecto sobre los resultados de la microscopía (ver figura A; 15 (negro) versus 20 minutos (blanco), p = 1.0). Los portaobjetos que no tenían extinción de KMnO4 tenían más fluorescencia de fondo (ver figura C) que hacía que la microscopía fuera menos cómoda y los portaobjetos teñidos con auramina durante 20 minutos tenían recuentos de TB más bajos (p = 0,02). Sin embargo, si la duración de la extinción fue de 0,5, 1, 2 o 3 minutos no tuvo ningún efecto sobre los recuentos de TB (ver figura B, todos p. 0,3). La regresión lineal muestra que ni la auramina ni el tiempo de KMnO4 tuvieron efecto sobre los conteos por cien campos (coef = 0.03 p = 0.7 y coef = 0.00 p = 1.0 respectivamente).

**Conclusiones**: Para la microscopía de frotis de esputo fluorescente con tinción de auramina, el paso de extinción facilita la microscopía. Sin embargo, la duración de la tinción con auramina (15 a 20 minutos) y la duración de la extinción de 0,5 a 3 minutos no tuvieron efecto sobre los resultados de la microscopía, por lo que las duraciones más cortas de tinción y extinción se pueden utilizar para aumentar la conveniencia y la velocidad de la prueba.