



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

ACTA

TGB-2023-04-04

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. ANTONELLA ANTONUCCI y Prof. FERNANDO LINARES, Reunidos en: Salón de Reuniones del Departamento de Parasitología y Microbiología, a la hora: 10:30 am

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA COLORACIÓN DE KINYOUN FRENTE A LA COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN PARA BACILOS ÁCIDOS RESISTENTES EN PACIENTES SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS

Del Bachiller MUÑOZ BASTARDO LUISIANA ISABEL C.I.: 27437096, como requisito parcial para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	☒
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	-------------------------------------

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 10 días del mes de Mayo de 2023

Prof. IVÁN AMAYA
Miembro Tutor

Prof. ANTONELLA ANTONUCCI
Miembro Principal

Prof. FERNANDO LINARES
Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
Coordinador comisión Trabajos de Grado



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS
Avenida José Méndez c/c Columbo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.
Teléfono (0285) 6324976



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

ACTA

TGB-2023-04-04

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. IVÁN AMAYA Prof. ANTONELLA ANTONUCCI y Prof. FERNANDO LINARES, Reunidos en: Salón de Reuniones de Parasitología y Microbiología
a la hora: 10:30 am.

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA COLORACIÓN DE KINYOUN FRENTE A LA COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN PARA BACILOS ÁCIDOS RESISTENTES EN PACIENTES SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS

Del Bachiller **RODRÍGUEZ RAMOS ROSANNY DEL VALLE** C.I.: 27088057, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	X
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	---

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 10 días del mes de Mayo de 2023

Prof. IVÁN AMAYA
Miembro Tutor

Prof. ANTONELLA ANTONUCCI
Miembro Principal

Prof. FERNANDO LINARES
Miembro Principal

Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
Coordinador comisión Trabajos de Grado



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS
Avenida José Méndez c/c Columbo Silva- Sector Barrio Ajuero- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.
Teléfono (0285) 6324976



Universidad de Oriente
Núcleo Bolívar
Escuela de Ciencias de la Salud
"Dr. Francisco Battistini Casalta"
Departamento de Parasitología y Microbiología

**RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA COLORACIÓN DE KINYOUN
FRENTE A LA COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN PARA BACILOS
ÁCIDOS RESISTENTES EN PACIENTES SINTOMÁTICOS
RESPIRATORIOS**

Tutor:

Lcdo. Iván Amaya

Trabajo de grado presentado por

Br. Luisiana Isabel Muñoz Bastardo

C.I. No. 27.437.096

Br. Rosanny del Valle Rodríguez Ramos

C.I. No. 27.088.057

**Como requisito parcial para optar al
título de Licenciado en Bioanálisis**

Ciudad Bolívar, mayo 2023

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVOS.....	20
Objetivo General.....	20
Objetivos Específicos	20
METODOLOGÍA	21
Tipo de estudio.....	21
Universo.....	21
Muestra	22
Procedimientos.....	22
Análisis de datos	26
Aspectos éticos	27
RESULTADOS	28
Tabla 1	28
Tabla 2	29
Tabla 3	30
Tabla 4	31
Tabla 5	32
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
APÉNDICES	48
Apéndice A	49
ANEXOS	50
Anexo 1.....	51

AGRADECIMIENTOS

En memoria y como reconocimiento a la trayectoria de la **Dra. Mercedes Quiroga (†)**.

Al **Licenciado Iván Amaya** por su tutoría.

A los **bioanalistas, médicos, estudiantes y auxiliares de laboratorio** que participaron de las actividades de detección de la tuberculosis en el Ambulatorio La Sabanita y Laboratorio de Microbiología e Infectología del Hospital Universitario Ruiz y Páez.

Agradecimientos muy especiales a los licenciados **Annalia Rondón y Ulises Medina** por todo su apoyo y las enseñanzas recibidas.

DEDICATORIA

Mis padres, Rosa Ramos y David Rodríguez, no solo por darme la vida, sino también por dedicar la suya a mi crianza, por su sacrificio todos estos años, por brindarme todo su apoyo, por su paciencia y amor infinito, muchas gracias.

Mi hermana, Roxelys Rodríguez, por ser mi compañera de vida, por creer en mí, y porque gracias a la luz que brilla en ti, eres una de las razones de este logro.

Mi hermano, Leonardo Rodríguez por su amor, cariño y apoyo incondicional, y por enseñarme que el esfuerzo de hoy, es el éxito del mañana.

Mis tías, Magaly Ramos y Marlene Ramos, por ser mis segundas madres, gracias por su ayuda y preocupación constante.

Al resto de mi familia, porque no importa que nos separe la distancia, siempre habrá un mismo cielo que nos una.

La memoria de mis abuelas Rosa Ramos y María Márquez; y mis tíos, Armida Ramos y Carlos Ramos, que me cuidan y protegen desde el cielo, este triunfo también es de ustedes.

Mis amigos, Gilber López, Kevin Rondón y Noel Ayala, por los momentos vividos, el tiempo compartido, por sacarme sonrisas y por sus palabras de aliento.

Mis compañeros y futuros colegas, que en conjunto aprendimos, que sin importar cuánto tiempo nos tome, todo se puede si de verdad se quiere.

Rosanny del Valle Rodríguez Ramos

DEDICATORIA

En primera instancia a Dios todopoderoso, por permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi carrera profesional.

A mis padres, Carmen Bastardo y David Muñoz, por acompañarme en cada paso que doy en la búsqueda de ser mejor persona y profesional. A mis hermanos y tías por su apoyo incondicional. A mis abuelas Ana y Luisa Rebolledo (†). A mi querido abuelo Justo Raúl Bastardo Mejías que desde el cielo me bendice y acompaña siempre.

A las amistades que hice durante esta etapa: Magdielys Maita, Amalise Alexandre, Reina García y Nathasha Aguilera, por hacer mi vida universitaria más colorida, y las que me acompañaron a lo largo de esta travesía: Andrea Muñoz, Anni Seijas y Frankier Torrelles. A mis compañeros y futuros colegas Claudia Rojas, Pedro Rondón, Viomar López, Jorge Zambrano y a mi compañera de tesis, Rosanny Rodríguez, porque luego de tanto esfuerzo y contratiempo logramos realizar nuestro trabajo de grado con éxito.

A la licenciada Dina Vivas por ser mi guía y darme esa energía que necesitaba para hacer realidad este proyecto.

A los laboratorios que me permitieron desarrollar mis habilidades profesionales como: laboratorio clínico microbiológico Monte Sinaí, LEBCA, laboratorio clínico HERMUZ, laboratorio clínico Las Nieves, Laboratorio la Solución, laboratorio clínico Medical Salud y laboratorio central del Hospital Gervasio Vera Custodio.

A la licenciada Annalia Rondon y todo el personal del laboratorio de Microbiología e Infectología del Hospital Universitario Ruiz y Páez por el apoyo

prestado. A mis profesores en especial mi tutor el Lcdo. Iván Amaya por su tiempo, por su apoyo, así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

Luisiana Muñoz Bastardo

RESUMEN

Título: Rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun frente a la coloración de Ziehl Neelsen para bacilos ácidos resistentes en pacientes sintomáticos respiratorios

Autores: Luisiana Isabel Muñoz Bastardo y Rosanny del Valle Rodríguez Ramos

Tutor: Pofesor Iván Amaya

Año: 2023

Se realizó un estudio para comparar el rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun frente la coloración de Ziehl Neelsen (ZN) para la detección de bacilos ácidos resistentes (BAR) en pacientes sintomáticos respiratorios, periodo abril - julio del 2022, Ciudad Bolívar, estado Bolívar. Fueron estudiadas 165 muestras (155 de esputo y 10 de lavado gástrico) obtenidas de pacientes que no habían iniciado tratamiento antituberculoso. Todas ellas fueron sometidas a la detección de BAR (baciloscopia) mediante las coloraciones de ZN y Kinyoun. Un total de 24 resultaron positivas para una frecuencia de 14,5%. Todas eran muestras de esputo. Ninguna de las muestras de lavado gástrico resultó positiva. Considerando solo el resultado de la baciloscopia realizada con la coloración de ZN se encontraron 21 (12,7%); mientras que con la coloración de Kinyoun un total de 20 de las baciloscopias resultaron positivas (12,1%). Al realizar la comparación de resultados entre las dos coloraciones usadas de las 21 muestras positivas en el ZN, 17 (81%) también estaban positivas en el Kinyoun. Usando la coloración de ZN clásica como estándar de oro, la sensibilidad de la coloración de Kinyoun fue de 80,9% y la especificidad de 97,9%; mientras que la eficiencia fue de 12,1% y el coeficiente Kappa de concordancia de resultados entre ambas coloraciones fue muy bueno (0,805). Finalmente, el índice J de Youden fue de 0,788, lo que indica también una buena concordancia. No hubo relación ($p>0,05$) entre las características de la muestra de esputo y la positividad en la detección de BAR. En conclusión: el rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun fue similar al de la coloración de ZN.

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, diagnóstico, Coloración de Kinyoun

INTRODUCCIÓN

Benjamin Marten, en 1720 tal vez inspirado por la confirmación de la existencia de un universo de organismos vivos a escala microscópica, publicó su obra denominada: “La nueva teoría de las consunciones: más especialmente de una tisis o consunción de los pulmones”. En dicha publicación Marten asegura que la causa de la “inexplicable enfermedad” es un animáculo que infecta los pulmones. Esta fue quizás la primera vez en la historia de la humanidad, donde se propuso a un organismo vivo infectante como la posible causa de la consunción. Dicha hipótesis sería confirmada 163 años después por Robert Koch (Díaz y Nieto Ramírez, 2021).

El concepto de micobacteria toma relevancia en 1873 cuando Gerhard Henrik Hansen identifica al bacilo que posteriormente fuera bautizado con su nombre y agente causal de la lepra. En 1882 Robert Koch logra aislar y cultivar a la primera micobacteria (*M. tuberculosis*); desde ese momento a la actualidad toda micobacteria descubierta que no desarrolle el cuadro clínico de tuberculosis o lepra es denominada “micobacteria atípica”(Quinteros *et al.*, 2016).

El 10 de abril de 1882 se publicó Die Ätiologie der Tuberkulose, donde Koch demostró que el “bacilo de la tuberculosis”, era el agente causal de la enfermedad que lleva su nombre (enfermedad de Koch), dicho trabajo fue presentado 17 días antes, el 24 de marzo de 1882 (actualmente el día internacional de la lucha contra la Tuberculosis) ante la Sociedad de Fisiología de Berlín. En el desarrollo de sus tesis sobre el origen de la Tuberculosis, describió la primera técnica para teñir y visualizar microscópicamente el agente etiológico de la enfermedad, *Mycobacterium tuberculosis*. No obstante, el término tuberculosis había sido acuñado décadas antes (1839) por el naturista Johann Lukas Schönlein (Díaz y Nieto Ramirez, 2021).

En 1903 Friedman aísla por primera vez una micobacteria atípica (*M. chelonae*) de una tortuga y posteriormente Da Costa-Cruz en 1938 describe la primera enfermedad por micobacterias atípicas específicamente por *M. fortuitum*, aislándose de un absceso cutáneo posinyección. Basado en los hechos, en 1950 Timpe y Runyon propusieron una división de las micobacterias no tuberculosas (atípicas) en cuatro grupos según la velocidad de crecimiento (rápido o lento, con referencia a una semana), producción de pigmento en presencia o ausencia de luz (fotocromógeno, escotocromógeno y no cromógeno) y características de sus colonias (Quinteros *et al.*, 2016).

La clasificación de Runyon fue la primera en agrupar a las micobacterias con objeto diagnóstico. Pero una de las clasificaciones más prácticas y didácticas es aquella que las agrupa en complejo tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), complejo lepra (*M. leprae* y *M. lepraemurium*) y micobacterias atípicas. Los adelantos en genética, estructura celular y el análisis ribosomal (16S), han hecho avanzar los conocimientos más allá de la simple clasificación por características fenotípicas formalmente ya obsoleta.

Basados en modernas técnicas de secuenciamiento, hibridización e identidad nucleotídica media, se ha cuestionado la nomenclatura de especies del complejo tuberculosis y han recomendado designaciones infraespecíficas utilizando el término "variante" (var.) como *M. tuberculosis* var. *tuberculosis*, *M. tuberculosis* var. *africanum* (Mekonnen *et al.*, 2019).

El género *Mycobacterium* pertenece al orden Actinomycetales, Suborden: Corynebacterineae, Familia: Mycobacteriaceae. Las micobacterias, son microorganismos que presentan una morfología entre cocoide y bacilar. Dentro de este grupo *Mycobacterium* existen más de 100 especies descritas. Son aerobios estrictos, inmóviles, no poseen cápsula ni flagelos y tampoco forman esporas

(Kanabalan *et al.*, 2021). Durante las dos últimas décadas, se han realizado importantes esfuerzos para comprender la diversidad genética a nivel de cepa en *M. tuberculosis* y su distribución geográfica. En la actualidad se reconocen nueve linajes de *M. tuberculosis* (L1-9) (Freschi *et al.*, 2021).

De estos nueve miembros, *M. tuberculosis* sigue siendo el principal y más frecuente agente causal de la tuberculosis humana, que provoca una elevada mortalidad y morbilidad en todo el mundo (Kanabalan *et al.*, 2021). Sin embargo, no todas las micobacterias son patógenas, siendo conocidas como micobacterias no tuberculosas (MNT), aunque en determinadas ocasiones pueden comportarse como microorganismos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos e incluso inmunocompetentes llegando a producir la enfermedad. Las denominadas micobacterias atípicas o ambientales pueden hallarse en el suelo, el agua, o en productos de animales (Casal, 2003; Kanabalan *et al.*, 2021).

La tuberculosis se caracteriza por diversas manifestaciones clínicas y con amplia distribución mundial (MPS/UNC/IIP, 2011; González-Martin, 2014). Una enfermedad prevenible y con un elevado porcentaje de cura gracias a las drogas actualmente disponibles (OMS, 2021).

Las manifestaciones clínicas de la tuberculosis no permiten diferenciarla de otras entidades nosológicas. La mayoría de los casos son de inicio insidioso, poco alarmante y bastante variable, dependiendo de la virulencia del agente causal, la edad, el órgano afectado y el estado inmunitario del huésped. Los síntomas pueden dividirse en dos grupos: 1) Sistémicos. Los más frecuentes son fiebre, pérdida de apetito y peso, astenia, sudoración nocturna profusa y malestar general. 2). Específicos de órgano. Varían según la localización de la enfermedad: Por ejemplo la tuberculosis pulmonar (Ruiz-Manzano *et al.*, 2008; MPS/UNC/IIP, 2011; MPPS, 2016).

Pero la enfermedad puede comprometer también los riñones, huesos, ganglios linfáticos, sistema nervioso central, órganos genitales, pericardio, peritoneo, articulaciones (tuberculosis extrapulmonar) o diseminarse por todo el organismo. Como resultado del proceso patológico y de acuerdo con la historia natural de la enfermedad se puede producir la curación espontánea o bajo tratamiento, la cronificación del paciente o la muerte (Ruiz-Manzano *et al.*, 2008; MPS/UNC/IIP, 2011; MPPS, 2016).

La transmisión se efectúa por vía aérea al inhalar la persona sana las partículas de esputo que exhala el enfermo al toser, hablar o estornudar. La tos es la forma más efectiva de transmisión del bacilo; donde existe Tuberculosis bovina, la vía de transmisión es la ingestión de leche cruda. La tos, es el síntoma más precoz y se presenta en más del 90% de los casos de tuberculosis pulmonar (MPS/UNC/IIP, 2011; MPPS, 2016).

El contagio se presenta mientras el enfermo elimina bacilos, al iniciar el tratamiento rápidamente se suprime la población bacteriana, por lo tanto desaparece el riesgo. Una vez iniciado el tratamiento, la población en riesgo que puede contagiarse disminuye progresivamente. Sin embargo, se deben tomar todas las medidas de protección para evitar el contagio de las personas que interactúen con el enfermo. Cada enfermo bacilífero, sin tratamiento, puede infectar entre 10 a 15 personas por año (MPS/UNC/IIP, 2011; MPPS, 2016).

Desde la antigüedad se conoce que la tuberculosis está asociada a: la pobreza, desigualdades e inequidades sociales presentes en las diversas poblaciones. En la actualidad esta enfermedad no solo es un problema de salud de los países pobres, también afecta a las comunidades pobres de los países ricos. Factores de riesgo como la desnutrición, la diabetes, el tabaquismo, la silicosis, el consumo indebido de alcohol y drogas, dificultan su control. La pandemia de infección por el Virus de la

inmunodeficiencia humana (VIH) y el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (SIDA), la aparición de bacilos resistentes a los medicamentos esenciales en el tratamiento de la tuberculosis, la movilidad de las poblaciones y más recientemente la pandemia de COVID-19, son desafíos importantes para el control de la tuberculosis en nuestros países (MPS/UNC/IIP, 2011; González-Martin, 2014; MPPS, 2016; OMS, 2021; WHO, 2022)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró en abril de 1993 que la Tuberculosis había adquirido carácter de urgencia mundial, debido principalmente a falta de atención a la enfermedad por parte de muchos gobiernos, con programas de control mal administrados, además del crecimiento demográfico y ahora último al vínculo entre la Tuberculosis y la infección con el VIH. Según ésta organización, cerca de la tercera parte de la población mundial está infectada con el bacilo *M. tuberculosis* (MPS/UNC/IIP, 2011).

La distribución de casos de tuberculosis no es homogénea en todo el mundo, con incidencia mayor en los países de baja renta, indirectamente proporcional al desarrollo económico. Por este motivo, más del 80% de los casos se concentran en 20 países, como China, India, Pakistán, la Federación Rusa y Sudáfrica, entre otros (González-Martin, 2014; OMS, 2021).

Datos actualizados de la OMS (2021) indican que un total de 1,5 millones de personas murieron de tuberculosis en 2020 (entre ellas 214.000 personas con VIH). En todo el mundo, la tuberculosis es la decimotercera causa de muerte y la enfermedad infecciosa más mortífera por detrás de la COVID-19 (por encima del VIH/SIDA). Se estima que en 2020 enfermaron de tuberculosis 9,9 millones de personas en todo el mundo: 5,5 millones de hombres; 3,3 millones de mujeres y 1,1 millones de niños en todo el mundo. En 2020, los 30 países con una carga elevada de tuberculosis representaron el 86% de los nuevos casos de la enfermedad. Ocho países

acaparan los dos tercios del total; encabeza esta lista la India, seguida de China, Indonesia, Filipinas, Pakistán, Nigeria, Bangladesh y Sudáfrica.

Mundialmente, la incidencia de la tuberculosis está disminuyendo en aproximadamente el 2% anual, y entre 2015 y 2020 la reducción acumulada fue del 11%. Esto supone más de la mitad del camino para lograr el objetivo intermedio de la Estrategia Fin a la Tuberculosis, consistente en alcanzar una reducción del 20% entre 2015 y 2020. Por otro lado, se estima que entre 2000 y 2020 se salvaron 66 millones de vidas gracias al diagnóstico y el tratamiento de la tuberculosis. Acabar con la epidemia de tuberculosis para 2030 es una de las metas de los Objetivos de Desarrollo Sostenible relacionadas con la salud (OMS, 2021).

Según el último informe mundial sobre la tuberculosis (año 2022) publicado por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2022), alrededor de 10,6 millones de personas contrajeron esta enfermedad en 2021 —una cifra superior en un 4,5% a la correspondiente a 2020— y 1,6 millones fallecieron a causa de ella (entre ellas 187.000 seropositivas para el VIH).

También, la carga de tuberculosis farmacorresistente aumentó un 3% entre 2020 y 2021, año en que se detectaron 450.000 nuevos casos de tuberculosis resistente a la rifampicina. Es la primera vez en muchos años que aumenta el número de personas que contraen la enfermedad y que están infectados por bacilos resistentes a los medicamentos. La pandemia de COVID-19 causó interrupciones en los servicios de lucha contra la tuberculosis en 2021 y afectó especialmente a las actividades encaminadas a controlar la enfermedad. Además, los conflictos que afectan a Europa del Este, África y Oriente Medio han agravado aún más la situación de los grupos vulnerables (WHO, 2022).

En Venezuela, para el año 2018, la tuberculosis estuvo entre las diez principales causas de mortalidad con una tasa moderada de 26,1 por cada 100.000 habitantes. El estado Delta Amacuro cuenta con una de las mayores casuísticas en Venezuela, especialmente en las poblaciones indígenas como la etnia Warao donde se han conseguido prevalencias en niños de hasta 60% de tuberculosis pulmonar (Sánchez Gutiérrez y Martínez Padilla, 2018).

El incremento en el número de casos se debe principalmente al aumento de la resistencia del agente causal a los fármacos, el incremento en el número de casos de pacientes con VIH, el debilitamiento de los programas de vigilancia epidemiológica, la presencia de casos de tuberculosis pulmonar no diagnosticada y no tratada, retardo en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la enfermedad, así como la persistencia de la desnutrición y el hacinamiento las cuales son expresiones de la vulnerabilidad económica en este grupo de pacientes (Sánchez Gutiérrez y Martínez Padilla, 2018).

Respecto a las cifras emanadas por los entes oficiales de Venezuela, desde el año 2016, no ha sido publicado el boletín epidemiológico que permite llevar registro de condiciones de salud del país. A pesar de ello se sabe que enfermedades como tuberculosis, malaria, dengue, zika o hepatitis han tenido un repunte importante en los últimos años, según datos de varias Organizaciones No Gubernamentales (ONGs), De acuerdo a ello durante el año 2021 se contabilizaron 56 casos relacionados con eventos sobre tuberculosis y en el 2022 hasta el mes de Agosto se contabilizaron 50 casos; lo que significa un aumento de 98% antes del tercer trimestre (Rodrigues Goncalves, 2022).

Algunos datos oficiales, que han sido recogidos en medios de comunicación, señalan que Delta Amacuro, Amazonas y Bolívar se encuentran entre los 10 estados del país con mayor número de casos de tuberculosis, aunque Caracas también ocupa

un puesto dentro de la escala. Los niveles de pobreza, las fallas de los servicios públicos y la desnutrición, son factores que contribuyen al aumento de casos en el país. Solo en 2018 fueron registrados 10.574 casos, lo que representó un pico histórico. Según datos de la OMS, en 2020, se reportaron 9.150 casos, entre nuevos y recurrentes (OMS, 2021; Rodrigues Goncalves, 2022)

Ahora bien, *Mycobacterium tuberculosis*, es un patógeno intracelular obligado y desencadena respuesta de la inmunidad celular. Aunque también afecta a animales domésticos o salvajes, los humanos son el hospedador preferente. Se divide lentamente, cada 18-20 h, en comparación a los 20 minutos de la mayoría de bacterias. La pared celular es rica en lípidos, que le confiere ácido resistencia en las tinciones, esta propiedad, junto con la capacidad de entrar en metabolismo latente cuando se ve agredida, le confieren una especificidad que explica la clínica y la respuesta a las pruebas diagnósticas y al tratamiento. En la práctica diagnóstica, los integrantes del complejo *M. tuberculosis* son difícilmente diferenciables entre sí por características fenotípicas, por lo que se identifican como complejo *M. tuberculosis* sin diferenciar, aunque en más del 95% se trata de *M. tuberculosis* (González-Martin, 2014).

La demostración de que *M. tuberculosis* era visible por microscopía dio lugar a que muchos científicos trabajaran en el desarrollo de diferentes métodos de tinción para mejorar la visualización del bacilo. De manera sobresaliente, Franz Ziehl y Friedrich Neelsen continuaron con el trabajo de tinción basado en la técnica desarrollada por Koch. Dicho procedimiento combinaba la utilización de un mordiente, la aplicación de calor y el uso de un reactivo decolorante. Si bien al perfeccionamiento de esta técnica de tinción se le conoce generalmente como “tinción Ziehl-Neelsen”, es importante mencionar que este proceso de tinción fue el resultado de esfuerzos independientes iniciados por Paul Ehrlich, Ziehl, y finalmente, la

combinación de estos trabajos con los desarrollados posteriormente por Neelsen (Bishop y Neumann, 1970; Díaz y Nieto Ramirez, 2021).

Las micobacterias son bacilos de difícil tinción debido al alto contenido de lípidos complejos (ácidos micólicos) y de ceras que posee su pared celular lo cual les confiere una alta hidrofobicidad frente a los colorantes habituales. Por lo que es necesario utilizar colorantes altamente concentrados, así como la aplicación de calor ya que facilitará su penetración al interior del bacilo (Escalante *et al.*, 2021). Debido a esa característica se les conoce como bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) o simplemente bacilos ácido resistentes (BAR) (Rivera Lozada, 2008), terminología que se utiliza mucho más en años recientes. Los colorantes más frecuentemente empleados a estos efectos son los de la técnica de Ziehl-Neelsen (ZN) y se fundamenta en el hecho de que, una vez teñidos los bacilos, su decoloración posterior no es posible (Escalante *et al.*, 2021).

La baciloscopia es la forma más habitual de diagnóstico a nivel mundial, aunque el “gold standard” es el cultivo. Además, está aumentando el uso de técnicas “rápidas” de biología molecular (Suarez *et al.*, 2019). En el 15-40% de los casos no puede establecerse una confirmación bacteriológica y el diagnóstico se basa en otros criterios. Sin embargo, la confirmación microbiológica de la enfermedad es necesaria para obtener una identificación definitiva del bacilo y su antibiograma, de lo contrario se deberán utilizar tratamientos empíricos que se ven dificultados por el continuo aumento de resistencias a los fármacos antituberculosos (Alcaide y Coll, 2011; Alcaide, 2017).

Las pruebas de biología molecular están especialmente indicadas para casos sospechosos de resistencia a drogas. Actualmente, se puede determinar, en horas, si un paciente presenta tuberculosis sensible o resistente gracias a las bondades que brindan algunos *kits* comerciales. Asimismo, metodologías basadas en sondas *Fret*,

molecular beacons y sondas *TaqMan* son de gran ayuda en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar (Galarza *et al.*, 2018; Suarez *et al.*, 2019; Díaz y Nieto Ramirez, 2021).

La baciloscopia es uno de los métodos convencionales más rápidos para la detección de las micobacterias, consiste en la visualización microscópica mediante la tinción de Ziehl-Neelsen para la búsqueda de BAR en preparaciones obtenidas de los diferentes especímenes biológicos. Es muy útil en tuberculosis pulmonar, donde con tres baciloscopias de esputo se puede establecer la presencia de micobacterias en un 70% a un 80 % de los casos (Rivera Lozada, 2008; OPS, 2018).

En esta técnica se utilizan dos tipos de coloraciones para microorganismos acidorresistentes: 1) coloraciones con carbol fucsina Ziehl-Neelsen (coloración en caliente), Kinyoun (coloración en frío); y 2) la coloración con fluorocromo auramina O, con o sin un segundo fluorocromo, la rodamina (Rivera Lozada, 2008; Díaz y Nieto Ramírez, 2021).

La sensibilidad de las tinciones acidorresistentes varía entre 40% y 70% (Peterson *et al.*, 1999; Warren *et al.*, 2000; Flores-Ibarra *et al.*, 2016). Para aumentar esa sensibilidad se pueden emplear varias estrategias como recolectar 5 a 10 ml de esputo, recolectar 3 muestras de esputo como mínimo, esta última estrategia es muy útil en la tuberculosis pulmonar debido a la liberación irregular e intermitente de las bacterias a la luz bronquial (Rivera Lozada, 2008; Díaz y Nieto Ramírez, 2021).

En muchos países es mandatorio que todo sintomático respiratorio se le descarte la presencia de tuberculosis, ya que los objetivos de los programas de control indican que se debe realizar la búsqueda y localización de casos (fuentes de infección). Es por esa razón que se detectan a los sintomáticos respiratorio, es decir, toda persona que presente tos y expectoración por más de 15 días. A esa persona se le

considera sospechosa de tuberculosis y debe practicársele la baciloscopia seriada de esputo (3 muestras), independientemente de la causa de consulta principal (OPS, 2008; MPS/UNC/IIP, 2011; MPPS, 2016).

El paciente no debe iniciar tratamiento sin haber realizado una comprobación bacteriológica de la enfermedad mediante baciloscopia o cultivo. A todo Sintomático Respiratorio debe practicársele la baciloscopia seriada de esputo de la siguiente manera (OPS, 2008; MPS/UNC/IIP, 2011; OPS, 2018): primera muestra: En el momento de detectarlo como Sintomático Respiratorio; segunda muestra: el día siguiente, el primer esputo de la mañana; tercera muestra: en el momento de entregar la segunda muestra. En Venezuela, de acuerdo a la norma actual vigente (MPPS, 2016) a todo sintomático respiratorio mayor de 15 años solo se le toman dos muestras de esputo.

A los pacientes que viven en áreas de difícil acceso, se les debe recoger las tres muestras el mismo día. En el laboratorio no debe haber horario de recepción para estas muestras, deben recibirse a cualquier hora. No se debe solicitar baciloscopia de esputo como requisito de ingreso al estudio o trabajo, pues este examen sólo está indicado en las personas que son sintomáticas respiratorias. En niños se debe obtener estas muestras por aspirado gástrico (OPS, 2008).

Si la primera muestra es positiva, no se hace necesario procesar las otras dos y con este criterio positivo debe iniciarse el tratamiento acortado supervisado. En caso de que las tres baciloscopias iniciales sean negativas y persista la sospecha clínica de TB debe cultivarse la tercera muestra de esputo para cultivo de Micobacterias, por lo tanto el laboratorio debe conservar esa muestra de esputo en condiciones adecuadas para poder cultivarla (OPS, 2008; MPS/UNC/IIP, 2011; OPS, 2018).

La coloración de ZN es la técnica más apropiada para ser utilizada en todos los laboratorios de los países de América Latina. Es la recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER) por ser la que asegura resultados reproducibles con un entrenamiento sencillo y la más económica (OPS, 2008; 2018).

En esta técnica se emplean tres productos (soluciones): Carbol Fucsina Fenicada (Fucsina Básica), Solución de Azul de Metileno al 1% y Solución de Alcohol Ácido (OPS, 2008; Graterol *et al.*, 2016). Durante el procedimiento se coloca carbol-fucsina y luego se calienta la preparación ligeramente para solubilizar las ceras, lípidos y otros ácidos grasos de la pared celular para que permita el paso libre del colorante, el cual tiene una enorme afinidad por los ácidos micólicos presentes en la pared. Al enfriar con agua, los componentes de la pared vuelven a solidificar, resistiendo la acción abrasiva del alcohol-ácido, donde el azul de metileno se utiliza como contratinción (Graterol *et al.*, 2016; Gil, 2022).

Aunque los principios de esta técnica de tinción han permanecido, se han realizado varias modificaciones a los colorantes y reactivos utilizados (Noack, 1979; Selvakumar *et al.*, 2002; Van Deun *et al.*, 2005; Gordon *et al.*, 2009; Aung *et al.*, 2011; Das *et al.*, 2015; Díaz y Nieto Ramírez, 2021). La modificación realizada por Joseph J. Kinyoun alrededor de 1896 (publicada formalmente en 1914) (Kinyoun, 1915; Bishop y Neumann, 1970), es actualmente la más utilizada en preparaciones derivadas de cultivo. El método de Kinyoun se diferencia del método de ZN en que es un procedimiento de tinción en frío para bacilos ácido resistentes (Díaz y Nieto Ramírez, 2021).

El principal inconveniente con la baciloscopia, es su moderada sensibilidad, que está condicionada por la localización y el grado de afectación de la enfermedad, la calidad de la muestra y el tiempo que dedica el observador para determinar que una

baciloscopia es negativa. La sensibilidad puede incrementarse mediante la concentración de la muestra; sin embargo, la especificidad de la prueba realizada por ZN es muy elevada, superior al 95%, tan sólo limitada por los falsos positivos que pueden aportar otras micobacterias ambientales o por otras causas técnicas muy infrecuentes. Por consiguiente, una baciloscopia negativa no descarta la tuberculosis, pero una baciloscopia positiva prácticamente la confirma en más del 95% de los casos y es indicación de iniciar tratamiento (Ruiz-Manzano *et al.*, 2008; Díaz y Nieto Ramírez, 2021).

Para que los bacilos sean detectables en el esputo deben existir entre 10.000 y 100.000 bacilos/mL en una muestra de esputo de entre 5 y 10 mL (Flores-Ibarra *et al.*, 2016). Esto hace que un porcentaje variable de los casos de tuberculosis (entre 30 y el 50 %) no sean bacilíferos, por lo que una baciloscopia negativa nunca descarta la enfermedad. Es decir, un frotis negativo no indica necesariamente que el microorganismo no esté presente. Además, la presencia de detritus celulares puede originar falsos positivos, lo que genera confusión en el diagnóstico; esta se considera la principal desventaja de la coloración de ZN (Gil, 2022).

Existe una modificación de esta técnica denominada ZN modificada o coloración de Kinyoun. Aunque en teoría ambas son la misma (solo pequeñas diferencia técnicas), algunos autores consideran que la modalidad tradicional es más efectiva (Noack, 1979; Van Deun *et al.*, 2005; Rivera Lozada, 2008), otros sostienen que ambas son igualmente eficaces (Noack, 1979; Deshmukh *et al.*, 1996; Gupta *et al.*, 2009; Kurup y Chester, 2011; Zhao *et al.*, 2012; Weldu *et al.*, 2013; Flores-Ibarra *et al.*, 2016), pero hay pocos estudios comparativos al respecto (Deshmukh *et al.*, 1996; Van Deun *et al.*, 2005; Kurup y Chester, 2011; Weldu *et al.*, 2013).

A diferencia de la técnica de ZN que ayuda a fijar el colorante a través del calor, en la técnica de Kinyoun este paso no es necesario, ya que la solución de

fucsina fenicada que se prepara para esta técnica contiene alta concentración de fenol. El fenol disuelve el material lipídico de la pared celular, lo que permite la entrada del colorante carbolfucsina. Después de que el colorante penetra, se queda fijo a pesar del lavado con el alcohol-ácido. De esta manera los microorganismos ácido resistentes toman el característico color rojo, mientras que todo lo que no es ácido resistente se decolora y se tiñe de azul (Gil, 2022).

La baciloscopia mediante coloración de Kinyoun por ser más sencilla en su procedimiento al eliminar el paso del calentamiento, tiene la ventaja de un ahorro importante de tiempo, por lo que puede estar indicada como cribado en los centros que procesan muchas muestras diarias. Al no calentarse la muestra su ventaja principal es que evita la emisión de vapores, altamente tóxicos y causantes de cáncer a largo plazo. Por tanto, la tinción de Kinyoun es más segura para el personal encargado de realizar las tinciones (Gil, 2022). Finalmente, al obviar el uso de calor la convierte en una técnica más apropiada para su uso en el campo fuera del ambiente meramente laboratorio (Gupta *et al.*, 2013).

Es oportuno acotar que la modificación de Kinyoun está también formalmente indicada para micobacterias atípicas, *Nocardia* spp. y los coccidios intestinales (*Cryptosporidium* spp.) *Cyclosporas cayetanensis* y *Cystoisospora belli* (Gil, 2022). Por otro lado, se debe ser cuidadoso con todos estos reactivos y evitar que no entren en contacto directo con la piel, pues son corrosivos y el decolorante es inflamable (Gil, 2022).

Respecto a los antecedentes y considerando sólo estudios comparativos entre el ZN clásico y la modificación en frío (Kinyoun), en 1979, Noack realizó una revisión de los estudios entre la coloración de ZN tradicional y la tinción en frío para diagnosticar BAR. Afirman que la tinción en caliente (ZN tradicional) fue superior a todos los métodos de tinción en frío. El autor sugiere que si es necesaria una tinción

en frío se realicen dos métodos, el método de Kinyoun y la tinción con carbolfucsina a la que se le añade cloroformo.

En la India se llevó a cabo un estudio comparativo de la tinción de ZN clásica, la tinción en frío (técnica de Kinyoun) y la tinción de Schaeffer y Fulton modificada para evaluar la eficacia del método de Schaeffer y Fulton modificado en el examen de esputo para BAR. De 187 muestras de esputo estudiadas, 67 (35,82 %) se informaron positivas con el método de tinción de ZN y tinción en frío (técnica de Kinyoun), mientras que 66 (35,29 %) se informaron positivas con el método modificado de Schaeffer y Fulton. En comparación con ZN, se informó 98,5% de positividad para el método de Schaeffer y Fulton modificado. Se encontró que el método de Schaeffer y Fulton modificado es simple, confiable, menos costoso y tan eficiente como la tinción de ZN y la tinción en frío (técnica de Kinyoun) para la demostración rápida de BAR en el esputo (Deshmukh *et al.*, 1996).

En 2005 Van Deun *et al.* realizaron un estudio para comparar la eficacia de las variaciones de tinción de carbolfucsina comúnmente utilizadas. Compararon la coloración de ZN clásica a dos diferentes concentraciones de fucsina (1% y 0,3%) y dos tiempos de coloración (1 min y 15 min) vs. la coloración de Kinyoun. Los resultados indican que la sensibilidad fue significativamente menor con Kinyoun que con ZN 1 % 5 min. La sensibilidad con ZN al 1 % durante 5 min no fue significativamente mayor que con la tinción al 0,3 % durante 5 min. El examen de rutina usando ZN al 1% durante 15 min identificó más positivos que cualquiera de las técnicas de estudio. Una concentración reducida de fucsina junto con un tiempo de tinción corto puede dejar un margen de error demasiado estrecho.

Gupta *et al.* (2009) evaluaron comparativamente dos métodos de tinción en frío (Tinción de Gabbet y coloración modificada en frío) con el método de ZN para el diagnóstico de tuberculosis. Las sensibilidades para la tinción en frío modificada y de

Gabbet fueron del 85,7 % y del 90,5 %, respectivamente. La concordancia positiva entre ZN y Gabbet (92,3%) y ZN y tinción fría modificada (95%) fue buena. El método de tinción en frío modificado requería menos tiempo y era más fácil de realizar en el campo.

En China se desarrolló un método de tinción acidorresistente modificado para la detección rápida de *Mycobacterium tuberculosis* y sus formas L, en el que se mezclaron carbol fucsina y dioxígeno en el frotis de esputo. Con este método, el tiempo de teñido se acorta y no se requiere calentamiento. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, tasa de positividad y eficiencia diagnóstica del nuevo método se compararon con las obtenidas por PCR utilizando 50 muestras clínicas. Además, se analizaron 468 muestras clínicas utilizando el nuevo método, el método de Kinyoun y el método tradicional de tinción acidorresistente de ZN. No se encontraron diferencias significativas entre el nuevo método y el método de Kinyoun, mientras que las tasas de ambos métodos fueron más altas que las del método tradicional de tinción ácido-resistente. Además, el tiempo de teñido en el nuevo método fue notablemente menor que el método de tinción de Kinyoun (Zhao *et al.*, 2012).

Weldu *et al.* (2013) hicieron una evaluación comparativa de un método de tinción en frío (Kinyoun) de dos reactivos con el método de ZN para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Se encontró que el método de tinción en frío con dos reactivos era una alternativa adecuada al método convencional de ZN; fue al menos tan específico como el método de ZN aunque algo menos sensible. Sin embargo, los autores sostienen que es necesario realizar estudios multicéntricos a gran escala para una mayor evaluación de este método de tinción en frío.

Por todo lo anterior, se plantea realizar un estudio comparativo entre las coloraciones de ZN (estándar de oro) y la coloración de Kinyoun en la realización de

la baciloscopia para la detección de BAR. Dependiendo de los resultados y sus ventajas o desventajas se podría sugerir cual resultaría más adecuada para ser incluida como parte de la estrategia para la lucha contra la tuberculosis.

JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico de tuberculosis es esencialmente microbiológico y es uno de los pilares en el control, en conjunto con la búsqueda activa de casos y el tratamiento directamente supervisado (Suárez *et al.*, 2019). El laboratorio de micobacteriología realiza, por lo tanto, labores cruciales e indispensables para el control de la tuberculosis y necesita proporcionar resultados tan rápidos y precisos como sea posible. Las técnicas microbiológicas empleadas en el diagnóstico son muy específicas, pero su sensibilidad está estrechamente ligada a la calidad y el procesamiento de la muestra recogida (Ruiz-Manzano *et al.*, 2008; OPS, 2018).

A pesar de que en los últimos años la micobacteriología ha experimentado importantes avances tecnológicos, que permiten la detección rápida mediante pruebas moleculares automatizadas, su alto costo constituye una desventaja (Graterol *et al.*, 2016; Suárez *et al.*, 2019). Es por ello que en la mayoría de los países afectados el diagnóstico precoz de la tuberculosis, sigue recayendo en el examen microscópico de las muestras clínicas, mediante el uso de la técnica de tinción de ZN ya que es el procedimiento más simple, económico y rápido que proporciona al clínico una orientación diagnóstica preliminar. Por todo lo anterior, esta coloración es la más apropiada para ser utilizada en todos los laboratorios de los países de América Latina (Graterol *et al.*, 2016).

Las tinciones de ZN y Kinyoun, utilizan prácticamente los mismos reactivos y colorantes (Carbol fucsina, alcohol ácido), así como el mismo colorante de contraste (azul de metileno). La diferencia está en la preparación de estos reactivos y en el procedimiento empleado de cada técnica. Para la tinción de ZN se tiene que calentar

la preparación o portaobjeto, mientras que en la de Kinyoun (coloración en frío) no se tiene que calentar la preparación (Gil, 2022).

Se encontraron pocos estudios comparativos entre ZN y Kinyoun (Deshmukh *et al.*, 1996; Van Deun *et al.*, 2005; Kurup y Chester, 2011; Weldu *et al.*, 2013) y en nuestro medio no se sabe realmente el rendimiento diagnóstico del Kinyoun comparado con el ZN aunque en otros países se han realizado algunos estudios obteniéndose resultados divergentes (Noack, 1979; Deshmukh *et al.*, 1996; Van Deun *et al.*, 2005; Rivera Lozada, 2008; Gupta *et al.*, 2009; Kurup y Chester, 2011; Zhao *et al.*, 2012; Weldu *et al.*, 2013). Es por ello que se justificó realizar una investigación para comparar los resultados obtenidos usando la tinción de Kinyoun respecto a la de ZN en el diagnóstico de BAR en muestras de esputo y lavado gástrico procedentes de pacientes sintomáticos respiratorios.

OBJETIVOS

Objetivo General

Comparar el rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun frente a la coloración de Ziehl Neelsen para la detección de bacilos ácidos resistentes en pacientes sintomáticos respiratorios, periodo abril - julio del 2022, Ciudad Bolívar, estado Bolívar.

Objetivos Específicos

1. Señalar frecuencia de bacilos ácidos resistentes según tipo de coloración y tipo de muestra.
2. Determinar la sensibilidad y especificidad de la coloración de Kinyoun al comparar con la técnica de Ziehl Neelsen.
3. Determinar la sensibilidad y especificidad de la técnica de Kinyoun según tipo de muestra analizada.
4. Comparar según el índice de Kappa el rendimiento diagnóstico de la técnica de Kinyoun contra la de Ziehl Neelsen.
5. Relacionar el tipo de muestra de esputo y la positividad de la baciloscopia en las coloraciones aplicadas.
6. Señalar la densidad bacilífera de la técnica de Kinyoun contra la de Ziehl Neelsen.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Se realizó una investigación descriptiva y multifactorial.

Universo

En el municipio “Angostura del Orinoco” siguiendo las pautas estatales y nacionales del programa de tuberculosis (MPPS, 2016), todo paciente sintomático respiratorio atendido en cualquier consulta de la red pública o privada debe ser referido a un laboratorio de referencia para la realización de la baciloscopia respectiva para el diagnóstico de BAR. En este municipio, esos laboratorios de referencia son el laboratorio de baciloscopia del Ambulatorio tipo II "La Sabanita" y el Laboratorio de Microbiología e Infectología del Hospital Universitario Ruiz y Páez (HURyP).

El universo estuvo constituido por todas las muestras de esputo (adultos y niños) y de lavado gástrico (niños) recibidas en esos laboratorios de referencia del programa de tuberculosis del municipio, procedentes de pacientes sintomáticos respiratorios durante el periodo abril-julio 2022.

Muestra

Todas las muestras biológicas (esputo o lavado gástrico) suficientes y adecuadas que permitieron realizar ambas coloraciones por parte de las autoras, recibidas durante el periodo de estudio.

De acuerdo a la OMS una buena muestra de esputo tiene aproximadamente 3 a 5ml, es generalmente espesa y mucoide. Puede ser fluida con partículas de material purulento. El color es variable (blanco, amarillento y hasta verdoso). A veces son sanguinolentas. Las secreciones nasales, faríngeas o la saliva no son buenas muestras para investigar tuberculosis, aunque es conveniente examinarlas, de todas formas, porque siempre existe la posibilidad de que contengan parte de la expectoración o bacilos expulsados por la tos que hayan quedado en la boca, nariz o faringe (OPS, 2008; 2018).

Procedimientos

Para efectuar el presente trabajo se solicitó el permiso y aval de los responsables de las baciloscopias en el Ambulatorio tipo II La Sabanita, y del Laboratorio de Microbiología e Infectología del HURyP. Todas las muestras de esputo (adultos) o de lavados gástricos (niños) de pacientes sintomáticos respiratorios referidos a los servicios especializados, fueron sometidas primero a la coloración de ZN y luego la coloración de Kinyoun. Todo de acuerdo a los protocolos y normas del Laboratorio de Microbiología e infectología del HURyP y bajo la supervisión y apoyo de los licenciados responsables del laboratorio.

Para la recolección de algunos datos demográficos y epidemiológicos de interés, la información se tomó de la ficha del paciente que se encuentra en el

laboratorio. Para ello se elaboró un instrumento de recolección de datos (Apéndice A).

Estos laboratorios de referencia están preparados para recibir la muestra de esputo pero también cuentan con un espacio y personal entrenado para orientar al paciente e incluso para realizar la toma de la muestra de esputo. Todo siguiendo los protocolos de ese laboratorio. El resultado se le entregará por escrito a cada paciente el día siguiente de realizado el procedimiento.

Coloración de ZN tradicional o Clásica (OPS, 2008; 2018):

Se realizará siguiendo las pautas y procedimientos técnicos así como las normas de bioseguridad del laboratorio que a su vez están apegados a los estándares internacionales (OPS, 2008; 2018) y Nacionales (MPPS, 2016):

Procedimiento:

- Se utilizaron los recursos, materiales e insumos del laboratorio de referencia
- Identificar cada lámina.
- Se realizó el frotis con el esputo o del sedimento de la muestra de lavado gástrico y esperar que se seque a temperatura ambiente.
- Fijación con calor. Tomar la lámina con una pinza manteniendo la cara que contiene la muestra hacia arriba, y pasarlos rápidamente sobre la llama de un mechero tres o cuatro veces cuidando que no se caliente demasiado. Al usar calor, el fenol del colorante consigue introducirse en el interior de las micobacterias.
- Colocar la lámina fijada en un soporte, para realizar la coloración. Para ello se colocaran dos varillas de vidrio en forma paralela, a una distancia de aproximadamente 5 cm entre una y otra sobre un soporte dentro de la batea de lavado (o pileta de coloración).

- Colorear con fucsina fenicada 1% (fucsina básica: 3 g; etanol al 95%: 100 ml; fenol al 5%: 5 g de cristales de fenol en 100 ml de agua destilada; más 800 ml de agua destilada) por 5 minutos. Ésta debe ser filtrada (papel de filtro) antes de ser usada. Cubrir totalmente la superficie del extendido con fucsina básica fenicada recién filtrada. Dispensar el colorante con suavidad, sin salpicar y sin tocar con el gotero el extendido.
- Con la llama de un hisopo embebido en alcohol calentar suavemente por debajo de los extendidos, con movimientos de vaivén, hasta que observe que se desprenden los primeros vapores blancos. No calentar con mechero.
- En caso de derrame del colorante, reponer la fucsina, no dejar secar el preparado.
- En el término de aproximadamente cinco minutos calentar tres veces hasta emisión de vapores. No hervir la fucsina porque la pared de los bacilos puede destruirse y colorearse mal.
- Enjuagar con abundante agua de chorro a baja presión. Lavar muy suave y cuidadosamente la superficie eliminando totalmente la solución de fucsina. Girar el extendido y lavar con cuidado también la parte posterior.
- Cubrir la totalidad del extendido con solución decolorante (alcohol ácido: 30 ml de ácido clorhídrico y 970 ml de etanol al 95%) y dejar actuar aproximadamente 3 minutos.
- Enjuagar con abundante agua a baja presión.
- Cubrir todo el extendido con solución de azul de metileno (3 g de azul de metileno en 900 ml de agua destilada; más 100 ml de etanol). Dejar actuar durante un minuto.
- Enjuagar las láminas en ambas caras con agua a baja presión y limpiar la parte inferior con un algodón o gasa si ha quedado coloreada.
- Dejar secar las láminas a temperatura ambiente, apoyándolas en posición vertical en un soporte sobre un papel absorbente. No apoyar papel absorbente sobre el extendido.
- Realizar observación microscópica a 40x y luego a 100x con aceite de inmersión.

Coloración de Kinyoun:

- Después de realizar la coloración de ZN clásica se procedió a ejecutar la coloración de Kinyoun, previamente se prepararon todos los reactivos necesarios los cuales fueron suministrados por las autoras.
- La fucsina fenicada:
- Preparación de la fucsina: se agregaron 4g de fucsina básica a 200 ml de etanol al 95%.
- Preparación de la solución de fenol: se disolvieron 8g de cristales de fenol en 100 ml de agua destilada. Esto se realizó en una cámara de aislamiento. Una vez agregado el fenol se calienta la solución a 43 grados centígrados, se derrite el fenol y se mezcla lentamente para reducir el esparcimiento de vapores tóxicos, al homogenizarse se deja reposar 24 horas. Se mezclaron las soluciones anteriores (fucsina básica y fenol) para obtener la fucsina fenicada; se dejó reposar en oscuridad por al menos 24 horas previas a ser utilizada.
- El alcohol ácido se preparó utilizando 30 ml de ácido clorhídrico concentrado en 970 ml de etanol al 95%
- El azul de metileno se preparó utilizando 300 mg de azul de metileno en 100 ml de agua destilada.

Procedimiento según Carrol *et al.* (2016):

- Se realizó el frotis con el esputo o el sedimento de la muestra de lavado gástrico, se dejó secar y se fijó con metanol.
- Se tiñó el frotis fijado con fucsina fenicada, dejándolo reposar durante 3 o 5 minutos.
- Se lavó la lámina con agua destilada.
- Se decoloró con alcohol ácido durante 1 minuto.
- Se lavó con agua destilada.

- Se aplicó el colorante de contraste (azul de metileno) por 5 minutos.
- Se lavó con agua corriente.
- Se dejó secar la lámina a temperatura ambiente antes de realizar la observación al microscopio, primero en 40x y luego en 100x con aceite de inmersión.

Respecto al informe de los resultados, tomando en cuenta el protocolo del laboratorio y las pautas de la OMS, para ambas coloraciones el informe de resultado (llamado también densidad bacilar) fue el siguiente (OPS, 2018):

(-): No se encuentran BAR en 100 campos observados.

(+): Menos de 1 BAR por campo en 100 campos observados.

(++): 1 a 10 BAR por campo en 50 campos observados

(+++): Más de 10 BAR por campo en 20 campos observados. Esta será considerada como paciente con alta densidad bacilar.

En caso de encontrar sólo uno a cuatro bacilos en cien campos observados debe ampliarse la lectura a otros 100 campos. Al examinar 200 campos y persistir el número de bacilos en 1 a 4, realizar un nuevo extendido y si persiste el número de bacilos, se informa el número de bacilos observados y se solicita otra muestra al paciente.

Análisis de datos

Con la información obtenida se elaboró una base de datos con el programa SPSS 21.0 para Windows. Los datos se presentaron en tablas según sus frecuencias absolutas y relativas. Para el tratamiento estadístico se emplearon tablas de contingencia de 2x2. Para la evaluación del rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun se tomó como prueba de referencia la coloración de ZN clásica; la concordancia de resultados de las coloraciones se evaluó con el Índice Kappa (k); la validez se determinará mediante el cálculo de sensibilidad y especificidad.

Finalmente se determinó el Índice J de Youden (el cual si arroja un valor de 0,0 indica que la prueba no discrimina no infectados de infectados y un valor de 1,0 indica concordancia perfecta entre la prueba evaluada y la prueba de referencia). Las fórmulas para estos cálculos se muestran en el anexo 1.

Aspectos éticos

La investigación se desarrolló apegada a las normas éticas internacionales según la declaración de Helsinki (WMA, 2008).

RESULTADOS

Entre abril y julio de 2022 se recibieron en el laboratorio 208 muestras para baciloscopia, pero fueron excluidas 2 por inadecuadas o no contar con los datos respectivos y para los fines de este estudio sólo se consideraron 165 muestras de pacientes que no habían iniciado tratamiento antituberculoso. De esas muestras, 155 eran de esputo y 10 de lavado gástrico.

En la tabla 1 se muestran los pacientes evaluados según edad y género, destacando que se evaluaron más pacientes adultos (87,3%; n= 144) y del género masculino (61,2%; n=101).

Tabla 1

Pacientes sintomáticos respiratorios evaluados, según grupo de edades y género. Laboratorio de Microbiología e Infectología, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela.

Periodo: abril-julio 2022

Grupo de edades	Género					
	Femenino		Masculino		Total*	
	No.	%	No.	%	No.	%
Niños	9	14,1	12	11,9	21	12,7
Adultos	55	85,9	89	88,1	144	87,3
Total	64	38,8	101	61,2	165	100,0

De las 165 muestras sometidas a la detección de BAR (baciloscopia) mediante las coloraciones de ZN y Kinyoun, un total de 24 resultaron positivas para una frecuencia de 14,5%. Todas eran muestras de esputo, ninguna de las muestras de lavado gástrico resultó positiva. Considerando solo el resultado de la baciloscopia realizada con la coloración de ZN se encontraron 21 positivas para una frecuencia de 12,7%; mientras que cuando se sustituyó por la coloración de Kinyoun un total de 20 de las baciloscopias resultaron positivas para una frecuencia de 12,1% (Tabla 2).

Tabla 2

Frecuencia de BAR global y según coloración en la baciloscopia. Pacientes sintomáticos respiratorios, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. Periodo: abril-julio 2022

Coloración	No.	%
Solo ZN	21	12,7
Solo Kinyoun	20	12,1
Total	24	14,5

Al realizar la comparación de resultados entre las dos coloraciones usadas (Tabla 3), se aprecia que de las 21 muestras positivas en el ZN, 17 (81%) también estaban positivas en el Kinyoun, dejándose de diagnosticar 4 (falsos negativos del Kinyoun). De las 144 muestras negativas, 3 (2%) estaban positivas en el Kinyoun. Usando la coloración de ZN como estándar de oro la sensibilidad de la coloración de Kinyoun fue de 80,9% y la especificidad de 97,9%; mientras que la eficiencia fue de 12,1% y el coeficiente Kappa de concordancia de resultados entre ambas coloraciones fue de 0,805. Finalmente, el índice J de Youden fue de 0,788.

Tabla 3

Comparación entre las coloraciones de ZN y Kinyoun en la detección de BAR en la baciloscopia. Pacientes sintomáticos respiratorios, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. Periodo: abril-julio 2022

Coloración de Kinyoun	Coloración de ZN					
					Total	
	SI		NO			
	No.	%	No.	%	No.	%
SI	17	81,0	3	2,0	20	12,1
NO	4	19,0	141	98,0	145	87,9
Total	21	12,7	144	87,3	165	100,0

S: 80,9%; E: 97,9%; Ef: 12,1%

Índice Kappa de la coloración de Kinyoun (k_{kin}): 0,805; Índice J: 0,788

Relación entre tipo de muestra de esputo y la positividad de la baciloscopia en las coloraciones aplicadas. Pacientes sintomáticos respiratorios, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. Periodo: abril-julio 2022

Tipo de muestra	Coloración de ZN				Kinyoun			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Saliva	2	9,5	19	90,5	2	9,5	19	90,5
Mucoide	14	13,5	90	86,5	13	12,5	91	87,5
Mucopurulenta	4	19,0	17	81,0	3	14,3	18	85,7
Sanguinolenta	1	11,1	8	88,9	2	22,2	7	77,8
Total	21	13,5	134	86,5	20	12,9	135	87,1
p>0,05 (NS)				p>0,05 (NS)				
NS: No significativo estadísticamente								

Ocho pacientes presentaban una alta densidad bacilífera (3+) en el ZN y tres en el Kinyoun, siendo lo más frecuente 2+ para la coloración de ZN (42,9%) y 1+ para la de Kinyoun (35,0%). Las densidades bacilares fueron similares entre ambas coloraciones (Tabla 5).

Tabla 5
Densidad bacilífera según la coloración aplicada. Pacientes sintomáticos respiratorios, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. Periodo: abril-julio 2022

Densidad Bacilífera (*)	Coloración de ZN		Kinyoun	
	No.	%	No.	%
0+	1	4,8	4	20,0
1+	3	14,2	7	35,0
2++	9	42,9	6	30,0
3+++	8	38,1	3	15,0
Total	21	100,0	20	100,0

(*): Promedio de BAR por campos microscópicos observados

0+: Se observan de 1 a 9 BAR en 100 campos observados

1+: Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados

2++: Se observan de 1 a 10 BAR por campo en 50 campos observados

3+++ : Se observan más de 10 BAR por campo en 20 campos observado

DISCUSIÓN

Para los fines del presente estudio además de realizarse con pacientes sintomáticos respiratorios solo fueron incluidos aquellos individuos que no habían iniciado el tratamiento antituberculoso para así no interferir con el resultado de la baciloscopia y el estudio comparativo planteado entre las dos coloraciones.

Las frecuencias de baciloscopias positivas global y según coloración usada fueron similares. Al realizar las comparaciones y los análisis estadísticos respectivos se obtuvo elevadas sensibilidad y especificidad de la coloración de Kinyoun, además, la concordancia fue muy buena, medida por un Kappa de 0,805. Por otro lado, para reflejar la probabilidad de que la prueba haya hecho un diagnóstico correcto, se empleó el índice J de Youden, que también sirve para medir el desempeño de una determinada técnica comparada con otra. En el presente estudio, como su valor resultó más cercano a 1, indica una buena concordancia entre las dos coloraciones y sugiere que hay pocos falsos positivos (o negativos) de la técnica en cuestión, lo que realmente sucedió.

Las tinciones de ZN y Kinyoun, utilizan prácticamente los mismos reactivos y colorantes (Carbol fucsina, alcohol ácido), así como el mismo colorante de contraste (azul de metileno). El ácido carbólico presente en el carbol fucsina actúa como mordiente y fomenta la penetración de la fucsina en los péptidos-glucolípidos bacilares. La diferencia entre las coloraciones está en la preparación de estos reactivos y en el procedimiento empleado de cada técnica. Para la tinción de ZN se tiene que calentar la preparación o portaobjeto, mientras que en la de Kinyoun (coloración en frío) no se tiene que calentar la preparación (Gil, 2022). No se calienta debido a que la solución de fucsina fenicada contiene alta concentración de fenol. El fenol disuelve el material lipídico de la pared celular, lo que permite la entrada del

colorante carbol fucsina. Después de que el colorante penetra, se queda fijo a pesar del lavado con el alcohol-ácido. De esta manera los microorganismos ácido resistentes toman el característico color rojo, mientras que todo lo que no es ácido resistente se decolora y se tiñe de azul (Gil, 2022).

Estos resultados demuestran que ambas coloraciones presentan resultados equivalentes (rendimiento diagnóstico similar) y pueden ser usadas indistintamente. En el laboratorio de Microbiología e Infectología del Hospital Universitario Ruiz y Páez (HURyP) de rutina se usa solo la coloración de ZN y no es porque se considere que la de Kinyoun sea más inefectiva sino que simplemente la coloración recomendada nacional e internacionalmente y la que se encuentra estandarizada y protocolizada en este laboratorio es la de ZN. Cabe destacar, que no fueron encontrados estudios comparativos entre ambas coloraciones en el país.

Internacionalmente varios autores han demostrado que ambas coloraciones presentan rendimientos diagnósticos similares (Deshmukh *et al.*, 1996; Gupta *et al.*, 2009; Kurup y Chester, 2011; Zhao *et al.*, 2012; Weldu *et al.*, 2013; Flores-Ibarra *et al.*, 2016) en investigaciones no comparativas; además, en ningún caso, Kinyoun superó en cuanto a rendimiento a la coloración de ZN. Por otro lado, cuando se consideran los pocos estudios comparativos realizados (Deshmukh *et al.*, 1996; Van Deun *et al.*, 2005; Kurup y Chester, 2011; Weldu *et al.*, 2013), en la mayoría de ellos el rendimiento fue similar entre ambas coloraciones.

En la India se llevó a cabo un estudio comparativo de la tinción de ZN clásica, la tinción en frío (técnica de Kinyoun) y la tinción de Schaeffer y Fulton modificada para evaluar la eficacia del método de Schaeffer y Fulton modificado en el examen de esputo para BAAR. De 187 muestras de esputo estudiadas, 67 (35,82 %) se informaron positivas con el método de tinción de ZN y tinción en frío (técnica de Kinyoun). Es decir, un rendimiento diagnóstico exacto entre ambas (Deshmukh *et al.*,

1996). Cabe señalar, que en el presente estudio la diferencia entre las dos coloraciones fue de apenas un caso a favor de ZN.

Gupta *et al.* (2009) también en la India, evaluaron comparativamente dos métodos de tinción en frío (Tinción de Gabbet y coloración modificada en frío de Kinyoun) con el método de ZN para el diagnóstico de tuberculosis. La concordancia de resultados entre la tinción de Kinyoun y ZN fue buena.

Kurup y Chester (2011) en Guyana, realizaron una evaluación comparativa de las tinciones de ZN clásica vs. Kinyoun, concluyeron que la coloración de Kinyoun es adecuada para usar como sustituto del método ZN para la demostración de BAR pues la sensibilidad y especificidad del Kinyoun fueron de 100%, 99,4%. Resultados que de alguna manera coinciden con los del presente trabajo. Donde la sensibilidad fue de 80,9% (un poco menor) y la especificidad de 97,9% (similar).

En Etiopía, Weldu *et al.* (2013) hicieron una evaluación comparativa de un método de tinción en frío (Kinyoun) de dos reactivos con el método de ZN para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. La concordancia entre ambos fue muy buena dado por un índice Kappa de 0,98; mientras que la sensibilidad y especificidad fueron de 95,8% y 100%, respectivamente.

Un pequeño grupo de autores, de acuerdo a sus resultados, han informado de un pobre desempeño del Kinyoun frente a ZN (Noack, 1979; Van Deun *et al.*, 2005; Rivera Lozada, 2008), lo cual contrasta con los resultados aquí encontrados. Pero en general es un grupo minúsculo comparado con los que han encontrado resultados similares a ZN. Se debe considerar que una coloración de Kinyoun realizada con una técnica depurada, de acuerdo a los estándares, ejecutada por persona calificada y lo más importante, observada por personal entrenado y capacitado, debe tener resultados similares a la de ZN como fue demostrado en el presente estudio.

Hubo un gran número de baciloscopias negativas; sin embargo, un frotis negativo no indica necesariamente que el microorganismo no esté presente (Gil, 2022; OPS, 2018).

Por otro lado, aparte de los aspectos netamente técnicos y de subjetividad dependiente del observador, existen algunas ventajas en favor de la coloración de Kinyoun: 1) se puede hacer más rápido (ahorro de tiempo) y simple (sencilla) al obviar el paso del calentamiento de la lámina (Gupta *et al.*, 2009; Gil, 2022); el Kinyoun no se calienta debido a que la solución de fucsina fenicada usada contiene alta concentración de fenol. 2) Menor toxicidad: Al no calentarse la muestra no existe emisión de vapores (son tóxicos y causantes de cáncer a largo plazo). Por tanto, la tinción de Kinyoun es más segura para el personal encargado de realizar las tinciones (Gil, 2022). 3) Uso en el campo. Al obviar el uso de calor la convierte en una técnica más apropiada para ser realizada en el campo, fuera del ambiente meramente laboratorio (Gupta *et al.*, 2013).

Todos las muestras tanto de ZN como de Kinyoun procedentes de niños resultaron negativas, esto revela que si bien la tuberculosis afecta a niños incluso en la última década ha habido un incremento en algunos países (Moreno-Pérez *et al.*, 2010; Jaganath *et al.*, 2022), es más frecuente entre adultos en nuestro medio (OVS, 2017) aun entre niños con síntomas respiratorios lo que pudiera indicar que la sintomatología obedece a otra etiología (Moreno-Pérez *et al.*, 2010; Jaganath *et al.*, 2022).

Todas las muestras procedentes de lavados gástricos resultaron negativas esto puede interpretarse desde tres aspectos: 1) la cantidad de muestras era poca (n=10) para tener conclusiones definitivas. 2) en nuestro medio la tuberculosis no es tan frecuente en niños. 3) la muestra de lavado gástrico no es adecuada para evidenciar BAR. Cualquiera sea la respuesta, se ratifica lo sostenido por otros autores:

baciloscopia y el cultivo son poco sensibles en las muestras de jugo gástrico de niños con tuberculosis (Gómez-Pastrana Duran *et al.*, 2000).

Según la OPS (2018), la muestra de esputo mucopurulento proveniente del árbol bronquial es la que asegura mayor probabilidad de que se puedan observar bacilos. En el presente estudio la mayor cantidad de muestras positivas correspondió al tipo mucoide y en segundo lugar las mucopurulentas, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Además llamo la atención que en muestras de esputo tipo salivoso se logró evidenciar los BAR. Eso es posiblemente porque contenían parte de la expectoración o bacilos expulsados por la tos que hayan quedado en la boca, nariz o faringe (OPS, 2018). Por ello siempre deben examinarse este tipo de muestras.

La mayoría de los pacientes positivos presentaron un promedio de BAR por campos microscópicos de 1+ a 2+, de acuerdo a la escala semicuantitativa sugerida por la OPS. En el estudio predominó el informe de 2+ en la coloración de ZN y el de 1+ en Kinyoun. También un grupo importante tenía alta densidad bacilífera (> 10 Bar por 20 campos microscópicos). La densidad bacilifera presentada para la coloración de kinyoun puede interpretarse como una limitación en cuanto al mordiente de la fuscina para dicha tinción, podría no ser suficiente la cantidad de fenol en este, obstaculizando así que se colorean todos los bacilos ácido resistentes presentes. Es importante realizar este informe ya que esta escala semicuantitativa estandarizada asegura la reproducibilidad de los resultados y permite evaluar la severidad de la enfermedad, el grado de infectividad del paciente y la evolución del paciente bajo tratamiento (OPS, 2018).

Por otro lado, cabría esperar que a mayor densidad bacilífera, es decir los BAR por campos microscópicos, la coloración permita su identificación. Sin embargo, entre ambas coloraciones hay un comportamiento diferente con respecto a la densidad

bacilífera, que revela que la tinción de Kinyoun es buena para demostrar la positividad de una muestra pero no para informar la densidad bacilífera de la misma, o en todo caso dicho informe se debe confirmar y verificar mediante la tinción de ZN.

Esto indica que la tinción de Kinyoun no colorea los bacilos ácidos resistentes en su totalidad, y puede ser debido a que la concentración de fenol no es la adecuada, por lo que se sugiere aumentar dicha concentración hasta alcanzar un comportamiento similar entre ambas coloraciones. Igualmente, intervienen otros múltiples factores (técnicos y de observación) los cuales deben ser considerados y controlados en lo posible (OPS, 2018).

En resumen, el rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun fue similar al de la coloración de ZN.

CONCLUSIONES

- Entre los pacientes sintomáticos respiratorios evaluados se determinó una frecuencia de BAR de 14,5% (12,7% con la coloración de ZN y 12,1% con la de Kinyoun).
- Se evidenció que el desempeño diagnóstico de la coloración de Kinyoun, tuvo una buena concordancia con respecto a la coloración de ZN.
- Todas las muestras de lavado gástrico resultaron negativas.
- No hubo relación entre las características de la muestra de esputo y la positividad en la detección de BAR, para ninguna de las dos coloraciones.
- La densidad bacilífera (promedio de BAR por campos microscópicos) en ambas coloraciones predominó entre 1+ y 2+
- La coloración de Kinyoun puede ser una alternativa a la coloración de ZN, debido a que presenta un rendimiento similar, pero también es más rápida, sencilla y potencialmente menos tóxica que la coloración de ZN.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaide, F., Coll, P. 2011. Advances in rapid diagnosis of tuberculosis disease and anti-tuberculous drug. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 29(Supl 1): 34-40.
- Alcalde F. 2017. Diagnóstico microbiológico actual de la tuberculosis. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 35(7):399-402.
- Aung, K.J., Nandi, P., Hamid Salim, A., Hossain, A., Van Deun, A. 2011. Hydrochloric vs. sulphuric acid in water for Ziehl-Neelsen staining of acid-fast bacilli. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15(7):955-958.
- Bishop, P.J., Neumann, G. 1970. The history of the Ziehl-Neelsen stain. *Tubercle.* 51(2):196-206.
- Carroll, K., Morse, S., Mietzner, T., Miller, S. 2016. *Microbiología Médica, Jawetz, Melnick y Adelberg.* 27 ed. México D.F, México: McGrawHill interamericana. 866 p.
- Casal, M. 2003. Cómo denominar a las micobacterias diferentes a *Mycobacterium tuberculosis* y a *M. leprae*. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 21(6):296-832.
- Das, S., Narang, P., Nagamiah, S., Mishra, P.S., Deotale, V., Mendiratta, D.K. 2015. Evaluation of variants of carbol fuchsin solution to stain acid-fast bacilli in-situ by the pot method. *Int J Tuberc Lung Dis.*

- Deshmukh, S.R., Mantri, S.B., Kendre, P.B., Nagoba, B.S. 1996. A comparison of sputum examination for acid fast bacilli by modified Schaeffer & Fulton stain, Ziehl-Neelsen stain & cold stain. Indian J. Med. Res. 103:294-295.
- Díaz, G., Nieto Ramirez, L. M. 2021. Diagnóstico de tuberculosis: desde Robert Koch hasta la actualidad. In: Nieto Ramirez, L. M., ed. Estudios de la tuberculosis desde la Sucursal del Cielo [online]. Cali, Colômbia: Editorial Universidad Santiago de Cali; Editorial Universidad Icesi, 2021, pp. 15-46.
- Escalante, M., Caamaño, N., Barron, G., Gonzalez, V. Ramírez, D., Elu, A. 2021. Detección del género *Mycobacterium* con tinción diferencial de Ziehl-Neelsen. Rev. Sanit. Invest. 2 (2):0-0. Disponible en:[https://revistasanitariadeinvestigacion.com/deteccion-del-genero-mycobacterium-con-tincion-diferencial-de-ziehl-neelsen/#:~:text=La%20tinci%C3%B3n%20de%20Ziehl%20Neelsen,\(TBC\)%20y%20la%20lepra](https://revistasanitariadeinvestigacion.com/deteccion-del-genero-mycobacterium-con-tincion-diferencial-de-ziehl-neelsen/#:~:text=La%20tinci%C3%B3n%20de%20Ziehl%20Neelsen,(TBC)%20y%20la%20lepra).
- Ferreira, A.W., Ávila, S.L.M. 1996. Diagnostico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-inmunes. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. pp. 302.
- Flores-Ibarra, A., Ochoa-Vázquez, M., Sánchez Tec, G. 2016. Estrategias diagnósticas aplicadas en la Clínica de Tuberculosis del Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc. 54(1):122-7

- Freschi, L., Vargas, R., Husain, A., Kamal, S., Skrahina, A., Tahseen, S., *et al.* 2021. Population structure, biogeography and transmissibility of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Commun.* 12(1):6099.
- Galarza, M., Guio, H., Reques, J., Omar Piscoya, O., Rodríguez, M. 2018. Diagnóstico molecular de tuberculosis multidrogorresistente en muestras de esputo mediante el análisis de curvas de melting. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 35(3):433-40.
- Gil, M. 2022. Tinción de Kinyoun: qué es, fundamento y técnicas. LIDEFER. [En línea]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/tincion-de-kinyoun/#tcnica-de-kinyoun-en-comparacin-con-la-tcnica-de-ziehl-neelsen>
- González-Martín, J. 2014. Microbiología de la tuberculosis. *Sem. Fund. Esp. Reumatol.* 15(1):25-33
- Gordon, C., Van Deun, A., Lumb, R. 2009. Evaluating the performance of basic fuchsin for the Ziehl-Neelsen stain. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 13(1):130-135.
- Graterol, O., Barreto, M., Ramos, N., Fernández, S., Mata, J., Angulo, J. 2016. Diseño del Kit de Tinción Ziehl Neelsen del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. *Rev. Inst. Nac. Hig. Rafael Rangel.* 47(1-2), 18-26.
- Gupta, S., Prasad, V., Bairy, I., Muralidharan, S. 2009. Comparative evaluation of two cold staining methods with the Ziehl-Neelsen method for the diagnosis of tuberculosis. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 40(4):765-769.

- Kanabalan, R.D., Lee, L.J., Lee, T.Y., Chong, P.P., Hassan, L., Ismail, R., *et al.* 2021. Human tuberculosis and *Mycobacterium tuberculosis* complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiol Res.* 246:126674.
- Kurup, R., Chester, K. 2011. Comparative evaluation of ziehl neelsen staining and knowledge, attitudes and practices of laboratory personnel in relation to ziehl nielsen. *West Indian Med J.* 63(1):34-9.
- López, I., Pita, S. 1999. Medidas de concordancia: el índice de Kappa. *Cad. Aten. Primaria* 6: 169-171.
- Mekonnen, D., Derby, A., Chanie, A., Shumet, A., Biadglegne, F., Kassahun, Y., *et al.* 2019. Molecular epidemiology of *M. tuberculosis* in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis (Edinb)*.118:101858.
- MPPS-Ministerio Del Poder Popular Para Salud. 2016. Norma Oficial Venezolana Del Programa Nacional Integrado de Control de la Tuberculosis. Manual para la Red de Atención Comunal 1er Nivel.
- MPS/UNC/IIP (Ministerio de la Protección Social, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Investigaciones Públicas). 2011. Guía de atención de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *Med. Lab.* [Internet]. 1 de marzo de 2011 [citado 28 de enero de 2023]; 17(3-4):145-94. Disponible en: <https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/329>

Noack, K. 1979. The efficiency of cold staining methods at the light microscopical evidence of acid fast bacilli. Z. Erkr. Atmungsorgane. 153(1):132-138.

OMS-Organización Mundial de la Salud. 2018. La OMS pide acciones urgentes para acabar con la tuberculosis. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/18-09-2018-who-calls-for-urgent-action-to-end-tb-> (Consultado 07 de enero de 2023).

OMS-Organización Mundial de la Salud. 2021. Tuberculosis. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. (Consultado 07 de enero de 2023).

OPS-Organización Panamericana de la Salud. 2008. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Normas y Guía Técnica. Parte I. Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/782/9789275330135.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. (Consultado 07 de enero de 2023).

OPS-Organización Panamericana de la Salud. 2018. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis. Parte 1: Manual De Actualización De La Baciloscopia/ Programa “Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas” -- Lima: ORAS – CONHU. pp.88.

Pai, M., Nicol, M.P., Boehme, C.C. 2016. Tuberculosis Diagnostics: State of the Art and Future Directions. Microbiol Spectr. 4(5).

- Peterson, E.M., Nakasone, A., Platon-DeLeon, J.M., Jang, Y., de La Maza, L.M., Desmond, E. 1999. Comparison of direct and concentrated acid-fast smears to identify specimens culture positive for *Mycobacterium* spp. *J. Clin. Microbiol.* 37(11):3564-3568.
- Quinteros, R., López, V., Gutiérrez, D., Cardemil, F. 2016. Infecciones por micobacterias en otorrinolaringología. Revisión de la literatura. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* 2016; 76: 111-120
- Rivera Lozada, O. 2008. Diagnóstico de la Tuberculosis por el laboratorio de microbiología. *Rev. Fac. Cienc. Salud: Univ. Cauca.* 10(1):43-52.
- Rodríguez Goncalves, J. 2022. Aumento de casos de tuberculosis muestra retroceso en la respuesta del Estado venezolano. Accion solidaria [internet]. Disponible en: <https://accionesolidaria.info/aumento-de-casos-de-tuberculosis-muestra-retroceso-en-la-respuesta-del-estado-venezolano>
- Ruíz-Manzano, J., Blanquer, R., Calpe, J., Caminero, J., Caylà, J., Domínguez, J., *et al.* 2008. Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. *Arch. Bronconeumol.* 44(10): 551-566.
- Sánchez Gutiérrez, G., Martínez Padilla, E. 2018. Tuberculosis en Venezuela un problema constante. *Rev. Venezol. Salud Pública.* 6(2): 39-39.
- Selvakumar, N., Rahman, F., Rajasekaran, S., Narayanan, P.R., Frieden, T.R. 2002. Inefficiency of 0.3% carbol fuchsin in ziehl-neelsen staining for detecting acid-fast bacilli. *J. Clin. Microbiol.* 40(8):3041-3043.

- Suárez, I., Fünfer, S.M., Kröger, S., Rademacher, J., Fätkenheuer, G., Rybníček, J. 2019. The Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. *Dtsch Arztebl Int.* 116(43):729-735.
- Tankeshwar, A. 2013. Ziehl-Neelsen Technique (AFB Staining): Principle, Procedure and reporting. Disponible en: <http://microbeonline.com/ziehl-neelsen-technique-principle-procedure-reporting/>. (Consultado 09 de enero de 2023).
- Van Deun, A., Hamid Salim, A., Aung, K.J., Hossain, M.A., Chantagonj, N., Hye, M.A., *et al.* 2005. Performance of variations of carbolfuchsin staining of sputum smears for AFB under field conditions. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 9(10):1127-1133.
- Warren, J.R., Bhattacharya, M., De Almeida, K.N., Trakas, K., Peterson, L.R. 2000. A minimum 5.0 ml of sputum improves the sensitivity of acid-fast smear for *Mycobacterium tuberculosis*. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161(5):1559-1562.
- Weldu, Y., Asrat, D., Woldeamanuel, Y., Hailesilasie, A. 2013. Comparative evaluation of a two-reagent cold stain method with Ziehl-Neelsen method for pulmonary tuberculosis diagnosis. *BMC Res. Notes.* 6:323.
- WHO-World Health Organization. 2022. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>. (Consultado 09 de enero de 2023).

WMA (World Medical Association). 2008. Ethical principles for medical research involving human subjects. Declaration of Helsinki. Disponible: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/>. (Consultado 09 de enero de 2023).

Youden, W.J. 1950. Index for rating diagnostic tests. *Cancer*. 3: 32-35.

Zhao, D., Yang, X.M., Chen, Q.Y., Zhang, X.S., Guo, C.J., Che, X.Y. 2012. A modified acid-fast staining method for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods*. 91(1):128-32.

APÉNDICES

Apéndice A
Ficha de recolección de datos

IDENTIFICACIÓN

Fecha _____ **Código:** _____

Procedencia: _____

Sexo: _____ Edad: _____ Sintomatología: _____ Pulmonar: _____

Extrapulmonar: _____

MUESTRA

Tipo de Muestra: Espudo _____ Lavado Gástrico _____ Calidad: _____

COLORACIONES:

1. Ziehl-Neelsen: SI _____ NO _____ Fecha: _____

Resultado: _____

2. Kinyoun: SI _____ NO _____ Fecha: _____

Resultado: _____

En tratamiento: SI _____ NO _____

OBSERVACIONES:

ANEXOS

Anexo 1

Parámetros o pruebas estadísticas cuando se comparan técnicas diagnósticas

Prueba a usar	Prueba estándar	
	Positivo	Negativo
Positivo	Verdaderos positivos A	Falsos Positivos B
Negativo	Falsos Negativos C	Verdaderos Negativos D

Fuente: Ferreira y Ávila, 1996.

La Sensibilidad (S) de esa prueba puede ser definida como el porcentaje de individuos con esa prueba positiva (o alterada) que tiene la prueba estándar positiva, es decir:

$$S = A/A+C$$

La Especificidad (E) es el porcentaje de individuos con esa prueba negativa (o no alterada) que tiene la prueba estándar también negativa, es decir: $E = D/B+D$

La Eficiencia (Ef) de esa prueba es la relación entre la suma de los resultados verdaderamente positivos y resultados verdaderamente negativos con la población estudiada. Utilizando los datos de la tabla 1, eficacia es: $Ef = A+B/A+B+C+D$

Índice Kappa (k)

Se calculará en el programa SPSS versión 21.0 para Windows para establecer la concordancia de resultados entre las coloraciones de ZN clásica y Kinyoun en la detección de BAR en muestras de esputo y lavado gástrico. Para interpretar el valor de κ se usará la escala propuesta por López y Pita (1999):

Valoración del Índice Kappa	
Valor de k	Fuerza de la concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy buena

Índice J de Youden

Es una prueba estadística que informa del rendimiento de una prueba de diagnóstico en forma dicotómica. Para su cálculo se emplea la siguiente fórmula (Youden, 1950):

$$J = \text{Sensibilidad} + \text{Especificidad} - 1$$

Su valor puede ser de -1 a 1, y tiene un valor de cero cuando una prueba de diagnóstico da la misma proporción de resultados positivos para grupos con y sin la enfermedad, es decir, la prueba es inútil. Un valor de 1 indica que no hay falsos positivos o falsos negativos, es decir, la prueba es perfecta.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA COLORACIÓN DE KINYOUN FRENTE A LA COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN PARA BACILOS ÁCIDOS RESISTENTES EN PACIENTES SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS
---------------	---

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Muñoz Bastardo Luisiana Isabel	CVLAC: 27.437.096 E MAIL: limbastardo@gmail.com
Rodríguez Ramos Rosanny del Valle	CVLAC: 27.088.057 E MAIL: rosannyr11@gmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Mycobacterium tuberculosis

diagnóstico

Coloración de Kinyoun

Coloración de Ziehl Neelsen

Bacilos Ácidos Resistentes

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA y/o DEPARTAMENTO	SUBÀREA y/o SERVICIO
Dpto de Bioanálisis	Microbiología
	Bacteriología

RESUMEN (ABSTRACT):

Se realizó un estudio para comparar el rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun frente la coloración de Ziehl Neelsen (ZN) para la detección de bacilos ácidos resistentes (BAR) en pacientes sintomáticos respiratorios, periodo abril - julio del 2022, Ciudad Bolívar, estado Bolívar. Fueron estudiadas 165 muestras (155 de esputo y 10 de lavado gástrico) obtenidas de pacientes que no habían iniciado tratamiento antituberculoso. Todas ellas fueron sometidas a la detección de BAR (baciloscopia) mediante las coloraciones de ZN y Kinyoun. Un total de 24 resultaron positivas para una frecuencia de 14,5%. Todas eran muestras de esputo. Ninguna de las muestras de lavado gástrico resultó positiva. Considerando solo el resultado de la baciloscopia realizada con la coloración de ZN se encontraron 21 (12,7%); mientras que con la coloración de Kinyoun un total de 20 de las baciloscopias resultaron positivas (12,1%). Al realizar la comparación de resultados entre las dos coloraciones usadas de las 21 muestras positivas en el ZN, 17 (81%) también estaban positivas en el Kinyoun. Usando la coloración de ZN clásica como estándar de oro, la sensibilidad de la coloración de Kinyoun fue de 80,9% y la especificidad de 97,9%; mientras que la eficiencia fue de 12,1% y el coeficiente Kappa de concordancia de resultados entre ambas coloraciones fue muy bueno (0,805). Finalmente, el índice J de Youden fue de 0,788, lo que indica también una buena concordancia. No hubo relación ($p>0,05$) entre las características de la muestra de esputo y la positividad en la detección de BAR. En conclusión: el rendimiento diagnóstico de la coloración de Kinyoun fue similar al de la coloración de ZN.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
Lcdo. Iván Amaya	ROL	CA	AS	TU(x)	JU
	CVLAC:	12.420.678			
	E_MAIL	rapomchigo@gmail.com			
	E_MAIL				
Lcdo. Fernando Linares	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	24.850.713			
	E_MAIL	fernando.lch17@gmail.com			
	E_MAIL				
Lcda. Antonella Antonucci	ROL	CA	AS	TU	JU(x)
	CVLAC:	12.192.195			
	E_MAIL	nenella1976@gmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2023	05	10
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis: Rendimiento diagnóstico de la coloración de kinyoun frente a la coloración de ziehl neelsen para bacilos ácidos resistentes en pacientes sintomáticos respiratorios laboratorio de microbiología e infectología, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar Estado Bolívar Periodo Abril Junio 2022	. MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: Laboratorio microbiología e infectología, Hospital Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar Estado Bolívar

TEMPORAL: 10 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO:

Dpto. de Bioanálisis

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Firma]*
FECHA 5/8/09 HORA 5:20

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNIEL
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Posgrado.

JABC/YGC/manuja

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

"Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario "

AUTOR(ES)

Br. MUÑOZ BASTARDO LUISIANA ISABEL
C.I. 27437096
AUTOR

Br. RODRÍGUEZ RAMOS ROSANNY DEL VALLE
C.I. 27088057
AUTOR

JURADOS

TUTOR: Prof. IVÁN AMAYA
C.I.N. 16 420698

EMAIL: RAPOUCHIGO@gmail.com

JURADO Prof. ANTONELLA ANTONUCCI
C.I.N. 12.192.195

EMAIL: Nenella1976@gmail.com

JURADO Prof. FERNANDO LINARES
C.I.N. 24.850.713

EMAIL: fernando.lch17@gmail.com

P. COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS
Avenida José Méndez c/c Columbo Silva - Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.
Teléfono (0285) 6324976