

Validación del método de concentración con hipoclorito de sodio para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar

Sodium hypochlorite method validation for the diagnosis of lung tuberculosis.

Juan Callisaya¹, Virginia Catacora¹

¹Laboratorio Clínico. Hospital Obrero. Av. Brasil s/n. La Paz. Bolivia.

Dirección para correspondencia: Juan Callisaya M. Sc. Laboratorio Clínico. Hospital Obrero. Av. Brasil S/N. La Paz - Bolivia
E mail : juancalibo@yahoo.com

RESUMEN

Para validar el método de concentración con hipoclorito de sodio para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, frente a la baciloscopia convencional y la técnica de concentración con NaOH, se realizó un estudio prospectivo de 108 muestras de esputos extra e intrahospitalarias. Se utilizó el cultivo en Lowenstein Jensen como prueba de referencia. Las 108 muestras fueron cultivadas y analizadas al mismo tiempo por los métodos de baciloscopia, resultaron 48 positivas y 60 negativas. La técnica de concentración con hipoclorito de sodio presentó una sensibilidad (Sen) del 99.9% y una especificidad (Esp) de 86.7%, con un valor predictivo positivo (VPP) de 85.68% y valor predictivo negativo (VPN) de 99.9%. La razón de verosimilitud positiva (RVP) y razón de verosimilitud negativa (RVN) fue de 7.50 y 0.00 respectivamente. El índice de Younden fue de 0.87. El método de baciloscopia convencional tuvo una Sen de 47,92%, Esp de 99,9%, su VPP y VPN fue de 99,74 y 70,61 respectivamente. La RVP y RVN fueron de 479,20 y 0,52 respectivamente, el índice de Younden fue de 0,48. El método de concentración con NaOH presentó una Sen de 89,58%, Esp de 99,9%, el VPP fue de 99,89, VPN de 92,31, la RVP y PVN fue de 895,8 y 0,10 respectivamente. El método de concentración con hipoclorito de sodio es un método seguro, económico y rápido, que aporta ventajas por sus elevadas tasas de efectividad y su asociación a las técnicas convencionales de diagnóstico, ofrece un adecuado diagnóstico de tuberculosis pulmonar.

Palabras Clave: Baciloscopia, Hipoclorito de sodio, Hidróxido de sodio.

ABSTRACT

In order to validate the concentration method with hypochlorite of sodium for the diagnosis of lung tuberculosis, in contrast with the conventional sputum smear and the concentration technique with NaOH, a prospective study was carried out, consisting of 108 samples of sputum, outside and

inside a target hospital. The Lowenstein – Jensen cultivation method was used as a reference test. The 108 samples were cultivated and analyzed at the same time by the Sputum Smear methods, and the results were 48 positive and 60 negative. The concentration technique with hypochlorite of sodium presented a sensibility (Sen) of 99.9% and a specificity (Esp) of 86.7%, with a Positive Predictive Value (PPV) of 85.68% and Negative Predictive Value (NPV) of 99.9%, the reason of positive verisimilitude (RPV) and reason of negative verisimilitude (RVN) being respectively 7.50 and 0.00, and finally, the Younden index was 0.87. The concentration method with NaOH presented a Sen of 89,58%, Esp of 99,9%, the VPP was 99,89, the VPN was 92,31, the RVP and PVN were respectively 895,8 and 0,10. The concentration method with hypochlorite of sodium is a sure, economic and quick method that contributes advantages to clinical practice because of its high rates of effectiveness, and its association to the conventional techniques for diagnosis, offers an appropriate diagnosis of lung tuberculosis.

Key Words: Basiloscopy, Sodium hypochlorite, Sodium hydroxide.

INTRODUCCIÓN

En América y el Caribe, Bolivia forma parte de los países con una incidencia elevada de tuberculosis (85/100.000 anual). En el departamento de La Paz, en 2007, se registraron 1.928 casos de tuberculosis pulmonar, cuando en 2006 se presentaron 1.291 enfermos. Las cifras revelan que la enfermedad permanece latente y marca un rebrote en la región, lejos de ser erradicada¹.

En los últimos 100 años, la única prueba rápida para el diagnóstico de tuberculosis ha sido el examen microscópico, cuya sensibilidad es aceptable cuanto la muestra analizada contiene más de 100.000 bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR)/mL, aunque la sensibilidad del método mejora ostensiblemente cuando se trata la muestra y se utiliza el microscopio de fluorescencia, pudiendo entonces ser positiva la muestra con menos de

10.000 BAAR/mL. El aislamiento de *M. tuberculosis* en cultivo sigue siendo la clave del diagnóstico definitivo de tuberculosis, pero adolece de limitaciones, la más importante de las cuales es su lentitud que, aunque se ha visto parcialmente resuelta con la incorporación de nuevos métodos de cultivo, sobre todo radiométricos (BACTEC-460), aún siguen siendo necesarias de dos a tres semanas para conseguir el crecimiento e identificación de *M. tuberculosis* con la aplicación adicional de sondas de DNA (AccuProbe® test)^{2,3}.

Son numerosas las publicaciones orientadas a optimizar los procedimientos de diagnóstico, entre las que están la ampliación de ácidos nucleicos, hibridación con sondas para la identificación de micobacterias, detección de adenosina-desaminasa y otros^{4,5,6,7}. La mayoría de dichos procedimientos están fuera del alcance económico de nuestro país.

El método con concentración con cloro está dentro de los métodos recomendados por la American Thoracic Society pero que no fueron validados hasta la fecha⁸. Es así que el objetivo de este estudio fue la evaluación de la técnica de concentración con cloro como método alternativo para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar.

El campo de acción del presente estudio abarca a la población en general con sospecha de tuberculosis pulmonar, cuyas muestra fueron cultivadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras. Se analizaron 108 muestras de esputos de pacientes adultos internos y externos del Hospital del Tórax de la ciudad de La Paz. El tamaño de muestra fue por conveniencia ya que se procesaron todas las muestras destinadas a cultivo y no se calculo tamaño muestral.

Obtención de la información. Las fuentes de información utilizadas fueron primarias ya que se generaron en el transcurso del trabajo. Se diseñó una planilla de recolección de datos donde se registraron los resultados del procesamiento de las muestras. Se realizó una comparación de “doble ciego” en el procesamiento de las muestras para evitar sesgos de interpretación.

Las muestras siguieron el siguiente proceso:

- Se tomaron 1,5 a 2 ml para la descontaminación de la muestra, neutralización según la técnica de Petrof modificada y el cultivo en Lowenstein-Jensen.
- Se dejó una cantidad de muestra similar o mayor a la utilizada para poder realizar las tinciones directas y de concentración.
- La neutralización, siembra, incubación, revisión de los cultivos e informe se realizaron según normas del Ministerio de Salud.

- Se recogieron las muestras que fueron sembradas las cuales fueron identificadas con los datos del paciente en la pared externa del envase para realizar su adecuado seguimiento y posterior comparación a los 60 días.
- Las muestras fueron transportadas en receptáculos de cierre hermético, protegidas de la luz y el calor excesivo, tomando las precauciones para que las muestras no se derramen.
- Para evitar el derrame las muestras, éstas fueron selladas con tela adhesiva y mantenidas en posición vertical.
- A los 60 días se recabaron los informes de los cultivos, con cuyos resultados se elaboraron tablas de 2x2 para la validación de las técnicas.
- A las muestras sembradas, paralelamente se les realizó las tinciones de Ziehl Neelsen por las técnicas recomendadas y por concentración según la técnica a ensayar.
- Utilizando el cultivo en Lowenstein Jensen como prueba estándar de comparación, se evaluó el método calculando los parámetros de: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, razón de verosimilitud positiva, razón de verosimilitud negativa e índice de Younden, para de esta manera determinar la eficacia del método.

Procesamiento y análisis. Para el cálculo de los parámetros de eficacia, se utilizó el cultivo en Lowenstein Jensen como “patrón de oro”.

Se entiende por sensibilidad de la prueba, a la proporción de muestras positivas (cultivo para TBC positivo) correctamente identificadas por la prueba empleada):

$$S = (\text{Positivos Verdaderos} / \text{Positivos Verdaderos} + \text{Falsos Negativos}) \times 100$$

La especificidad es la proporción de muestras negativas (cultivo negativo) correctamente identificados por la prueba empleada:

$$E = (\text{Negativos Verdaderos} / \text{Negativos Verdaderos} + \text{Falsos positivos}) \times 100$$

El valor predictivo positivo es la probabilidad de tener tuberculosis pulmonar (cultivo positivo) que tiene el paciente, cuando el resultado de la prueba ha sido positivo:

$$VPP = (\text{Verdaderos Positivos} / \text{Verdaderos Positivos} + \text{Falsos Positivos}) \times 100$$

El valor predictivo negativo es la probabilidad que tiene el paciente de no tener tuberculosis pulmonar

que detecta la prueba cuando el resultado de la prueba es negativo:

$$VPN = (\text{Verdaderos Negativos} + \text{Verdaderos Negativos} / \text{Falsos Negativos}) \times 100$$

La razón de verosimilitud mide cuánto más probable es un resultado concreto (positivo o negativo) según la presencia o ausencia de enfermedad. No está influenciada por la prevalencia de la enfermedad como en el caso de los valores predictivos (se modifican con la prevalencia), por tanto es la medida de exactitud que se prefiere para comparar dos métodos diagnósticos diferentes.

Razón verosimilitud para una prueba positiva = Sensibilidad / 1 - Especificidad

Cuanto más elevada es la razón de verosimilitud positiva, mejor es la prueba.

La razón verosimilitud para una prueba negativa es:

$$\text{Razón de verosimilitud negativa} = 1 - \text{Sensibilidad} / \text{especificidad}$$

Cuanto menor sea la razón de verosimilitud para un resultado negativo, mejor es la prueba.

Se analizaron los datos cuantitativos de los valores diagnósticos a través de tablas 2 x 2, se introdujeron los datos en el programa estadístico EPIDAT 3.0 y se realizó el análisis de la distribución de frecuencias y de las tasas para la evaluación de la validez de las pruebas.

Procedimiento del método de concentración con hipoclorito de sodio.

- Se añadió en el frasco de la muestra la misma cantidad de hipoclorito de sodio al 5%.
- Se agitó por rotación hasta que se homogenice por completo la muestra, en los casos necesarios se añadió una cantidad adicional de hipoclorito de sodio hasta que la muestra estuvo completamente homogenizada.
- Se transfirió a un tubo de centrífuga cónico aproximadamente 3ml de muestra y se añadió 9 ml de agua destilada libre de impurezas.
- Se centrifugó a 2 000 a 3 000 RPM durante 15 minutos.
- Se decantó el sobrenadante como si se tratase de un sedimento urinario.
- Con ayuda de un asa, se realizó el extendido en un área de un centímetro cuadrado.
- Se dejó secar en la estufa a 37°C.
- Se fijó y coloreó. La muestra con hipoclorito debió procesarse rápidamente en un periodo que no sobrepasó los 30 minutos, de lo

contrario podría haber ocurrido la desintegración de los bacilos.

Estudio estadístico. El análisis estadístico se realizó con el Programa EPIDAT 3.1 para el cálculo de la validez de las pruebas diagnósticas a partir de una tabla de 2x2. El nivel de confianza fue de 95%.

RESULTADOS

Parámetros de estudio. De las 108 muestras procesadas, 48 cultivos resultaron positivos y 60 fueron negativos.

Análisis de los resultados. Cuando se compararon los resultados de las técnicas de: baciloscopía por concentración con cloro al 5.1%, baciloscopía por concentración con NaOH al 3.5 y 2% (técnica de Petroff) y baciloscopía directa sin concentración (baciloscopía actualmente recomendada por el Ministerio de Salud), se pudo observar que la técnica de concentración con cloro refirió una excelente sensibilidad y valor predictivo negativo (99.9 % respectivamente) en comparación con las otras técnicas. La baciloscopía por concentración con NaOH utilizada previo al cultivo, igualmente tuvo una muy buena sensibilidad y valor predictivo negativo (89.58 y 92.31% respectivamente) siendo mayor su especificidad (99.9%) con relación a la técnica de concentración con cloro (86.67%); esta variación en la especificidad se debió a que los pacientes detectados como positivos por la técnica con cloro cuyos cultivos resultaron negativos eran pacientes tratados que estaban eliminando bacilos no viables, es decir bacilos muertos. En cuanto a la baciloscopía directa sin concentración que es la que actualmente se utiliza en nuestro medio, demostró una sensibilidad y valor predictivo, muy por debajo de las otras técnicas con una sensibilidad y valor predictivo negativo de solo 47.92% y 70.61% respectivamente aunque su especificidad en relación al cultivo resultó de 99.9% lo cual no es ninguna garantía de efectividad en este tipo de análisis.

La razón de verosimilitud positiva fueron mayores en los métodos concentración con NaOH y baciloscopía directa sin concentración con 895 y 479.20 respectivamente y una razón relativamente baja de 7.50 con la técnica de concentración con hipoclorito de sodio debido a la presencia de falsos positivos. El índice de Younden que toma como criterios importantes sólo la sensibilidad y la especificidad dieron valores elevados de 0.87 y 0.89 (cuanto más próximo es a 1 el método es mejor) para los métodos de concentración con cloro y NaOH respectivamente, siendo muy bajo (0.48) para la baciloscopía sin concentración (Cuadro 1 y Figura 1).

Cuadro 1. Tasas de la evaluación de las técnicas de diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Hospital “Tórax”.

Tasas	Baciloscopías por concentración con cloro a 5.1%	Baciloscopías por concentración con NaOH a 3.5% y 2%	Baciloscopia directa sin concentración (método de la partícula útil)
Sensibilidad (Sen)	99.9	89.58	47.92
Especificidad (Esp)	86.67	99.90	99.9
Valor predictivo positivo (VPP)	85.68	99.86	99.74
Valor predictivo negativo (VPN)	99.91	92.31	70.61
Razón de verosimilitud positiva (RVP)	7.50	895.80	479.20
Razón de verosimilitud negativa (RVN)	0.00	0.10	0.52
Índice de Younden (IY)	0.87	0.89	48

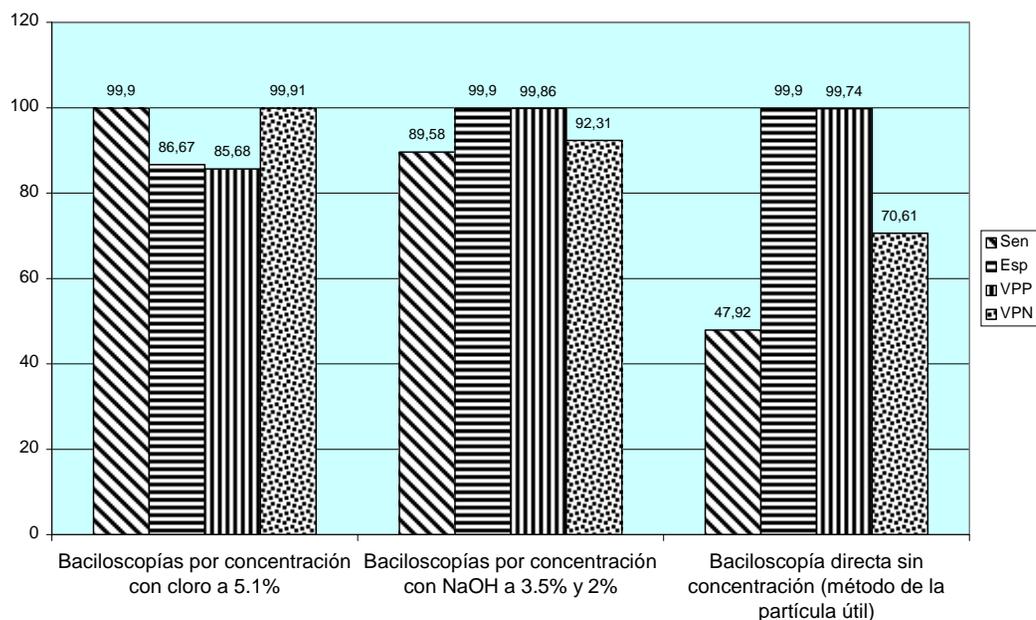


Figura 1. Tasas de eficacia de los métodos de diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Hosp. “Tórax”.

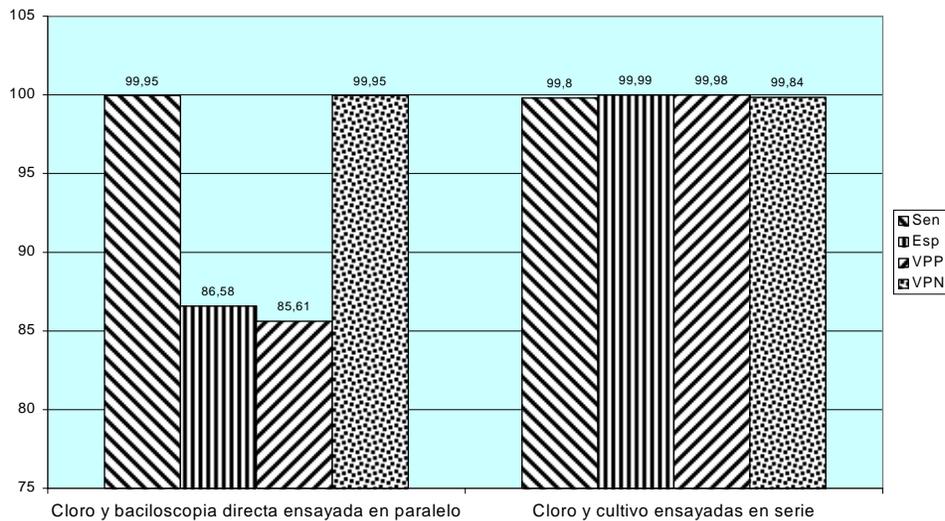
Al realizar las pruebas en serie y en paralelo para las pruebas diagnósticas, se lograron los siguientes resultados:

Las **pruebas en paralelo** (baciloscopia directa y por concentración con hipoclorito de sodio al mismo tiempo) tuvieron una sensibilidad y especificidad de 99.95% y 86.58% respectivamente, siendo su razón de verosimilitud positiva y negativa de 7.45 y 0.00 respectivamente. El índice de Younden que considera sólo sensibilidad y especificidad, para estas pruebas dio un valor elevado 0.87.

Las **pruebas en serie** (baciloscopia por concentración con hipoclorito de sodio y cultivo) tuvieron una sensibilidad y especificidad de 99.80% y 99.99% respectivamente, siendo su razón de verosimilitud positiva y negativa de 7486.88 y 0.00 respectivamente. En este caso el índice de Younden dio su máximo valor máximo que es 1(Cuadro 2 y Figura 2).

Cuadro 2. Prueba en paralelo y en serie para los métodos de concentración con hipoclorito de sodio, baciloscopia directa sin concentración y cultivo. Hospital "Tórax".

Tasas	Cloro y baciloscopia directa ensayada en paralelo (%)	Cloro y cultivo ensayadas en serie (%)
Sensibilidad (Sen)	99,95	99,8
Especificidad Esp)	86,58	99,99
Valor predictivo + (VPP)	85,61	99,98
Valor predictivo - (VPN)	99,95	99,84
Razón de verosimilitud + (RVP)	7,45	7486,88
Razón de verosimilitud - (RVP)	0	0
Índice de Youden	0,87	1

**Figura 2. Prueba en paralelo y en serie para los métodos de concentración con hipoclorito de sodio, baciloscopia directa sin concentración y cultivo. Hosp. "Tórax".**

DISCUSIÓN

El hecho de que el diagnóstico de la tuberculosis sea un proceso muchas veces inespecífico y cuyo diagnóstico diferencial deba plantearse con otros procesos diagnósticos y éste unido a que se recomienda el estudio de múltiples muestras para conseguir una mejor sensibilidad, determina que el laboratorio de microbiología disponga de técnicas económicas, rápidas y con altos niveles de sensibilidad y valores predictivos negativos es decir, que sea capaz de dar positivo en pacientes con la enfermedad y dar negativo en pacientes sin la enfermedad con una elevada confiabilidad.

En este estudio se compararon diferentes técnicas convencionales para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Los resultados obtenidos demuestran que la técnica de concentración con cloro es un método muy adecuado para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar ya que tiene una muy buena sensibilidad y valor predictivo negativo que nos indica que este método, con esa sensibilidad tiene la capacidad de dar positivo con un elevado porcentaje (el más alto de todos) en pacientes con la enfermedad y su valor predictivo negativo elevado (la más alta de todas las pruebas ensayadas) que le brinda al paciente una elevada probabilidad de no tener la infección cuando el resultado de la prueba es negativo. Este último aspecto es importante ya que evita que al paciente se

le realice cultivos o tratamientos innecesarios y por tanto disminuye significativamente el número de falsos negativos. Otros estudios, con métodos más sofisticados obtuvieron las siguientes sensibilidades y especificidades para diagnóstico de tuberculosis pulmonares y extrapulmonares: método LCx (90% y 99% respectivamente)⁹; método ADTDT (54% y 99%)¹⁰; AMPLICOR (59% y 99%)¹¹. Todos ellos con una elevada especificidad pero no tomaron en cuenta los valores predictivos positivos y negativos y otros como la razón de verosimilitud positiva y negativos que son parámetros muy importantes para validar un método. No encuentran en bibliografía antecedentes de evaluación del método de concentración con hipoclorito de sodio.

Otro indicador estadístico a favor de este método es la razón de verosimilitud negativa que es cero y por tanto garantiza que al realizar el método no existan resultados falsos negativos. El índice de Younden por otra parte, para este método es uno de los más altos, lo que nos indica que su sensibilidad y especificidad son muy buenos.

En nuestro estudio, para diagnosticar 48 casos, se procesaron 108 muestras, resultando positivas por el método de concentración con cloro 56 muestras de las que 8 resultaron falsos positivos por esta técnica y esto se explica por que estas 8 muestras correspondían a pacientes con tratamiento que estaban eliminando micobacterias no viables que naturalmente no desarrollaron en los cultivos.

La prueba de concentración con cloro ha demostrado una sensibilidad del 99.99%. Esta tasa nos indica que al utilizar la técnica en un conjunto de individuos que tienen micobacterias a nivel pulmonar se puede esperar detectar el 99.99 % de cada 100 de ellos, no quedando individuos sin ser detectados y, por lo tanto, tal vez sin la indicación de tratamiento que en el caso de la tuberculosis representa un elevado riesgo por la alta virulencia del microorganismo (dosis mínima infectante de menos de 10 BAAR).

La tasa de valor predictivo negativo de 99.9% obtenido por la técnica de concentración con cloro, indica que existe un 99.9 % de probabilidad de no tener la infección que detecta la técnica cuando el resultado de la misma es negativo, y esta aseveración se ve reforzada por el índice prácticamente de cero de la razón de verosimilitud negativa. Por tanto se puede afirmar con bastante confianza que se está frente a la ausencia de la enfermedad. Esto último es esencial para no descartar como negativas a las muestras de pacientes con la enfermedad.

En este sentido la técnica de concentración con cloro tiene las siguientes ventajas: 1) capacidad de concentrar 10,000 bacilos por ml de muestra en caso de una muestra positiva; 2) Este procedimiento

elimina todas las micobacterias; 3) Desintegra restos celulares y otros microorganismos acompañantes dejando sólo las micobacterias; 4) Puede concentrar toda la muestra en un sedimento pequeño; 5) Permite determinar un diagnóstico presuntivo de enfermedad infecciosa por micobacterias en forma rápida, económica y fácil; 6) Puede utilizarse para realizar el control de tratamiento de un paciente tuberculoso.

Tiene las siguientes desventajas: 1) Produce resultados falsos positivos en pacientes con tratamiento dando resultados de valores predictivos positivos y razón de verosimilitud positiva bajos; 2) No se puede realizar el método en laboratorios que no dispongan de centrifuga.

Si bien en la actualidad el uso de la técnica de la baciloscopía directa sin concentración en nuestro medio sigue siendo imprescindible para la evaluación de un esputo proveniente de un paciente con sospecha de tuberculosis, nuestra investigación ha demostrado tal como se puede apreciar en la Cuadro 1, que este método tiene baja sensibilidad y valor predictivo negativo que son imprescindibles en este tipo de estudio. Por otra parte se sabe que esta técnica tiene múltiples limitaciones: es una de las técnicas menos sensibles para detectar micobacterias. Utilizando éste método, se podrán ver aproximadamente 60 a 100 campos en un barrido (la norma indica que se debe observar más de 100 campos) sin embargo, si observamos 300 campos en 3 barridos y de ser necesario en caso de fuerte sospecha de tuberculosis hasta 600 campos en 6 barridos mejoraríamos el diagnóstico por esta técnica. Si consideramos que un frotis contiene aproximadamente 0.01 ml de muestra cuando se utiliza un asa de 3 mm de diámetro y que esta muestra se extiende en un área de 200 mm² (10 x 20 mm); si consideramos además que el área visible con el objetivo de inmersión es de 0,02 mm², se puede concluir que para observar todo el frotis se tienen que recorrer 10,000 campos microscópicos. Si sólo se examinan 100 campos, estaríamos observando solamente el 1% del frotis lo cual a todas luces tiene muy poca sensibilidad. En cambio, con la técnica de los 3 barridos, se está examinando entre el 3 y 6 % del frotis lo cual aumenta la probabilidad de hallar micobacterias en muestras con bajo contenido de bacilos. Para detectar tan sólo 1 bacilo en 100 campos en el frotis (suponiendo una distribución uniforme en la muestra), deberían estar presentes 100 bacilos y en 1 ml de la muestra 10,000 bacilos. En esta prueba el valor predictivo negativo es bajo pudiendo dar un 30% de falsos negativos; su razón de verosimilitud negativa elevada nos indica que produce muchos resultados falsos negativos.

Si bien el método de concentración con Na OH ha demostrado muy buena sensibilidad y tasas de valor

predictivo negativo buenas, debemos recordar que esta técnica se utiliza únicamente para la descontaminación y concentración de las muestras destinadas al cultivo ya que sus procedimientos implican el uso de material potencialmente peligroso. Con esta solución las micobacterias son muy viables, y los procedimientos deben realizarse bajo normas de estrictas de bioseguridad (requieren campana de flujo laminar) y ocupan gran espacio, personal especializado y equipos costosos. Los procedimientos también son laboriosos y morosos con más de 2 horas de procedimientos. Los resultados por esta técnica han demostrado que tiene una elevada especificidad (tal como lo demuestra el valor predictivo positivo y la razón de verosimilitud positiva) a costa de la sensibilidad y su razón de verosimilitud negativa relativamente elevada refleja que este método proporciona también resultados falsos negativos.

Al analizar las pruebas combinadas en paralelo es decir baciloscopía por concentración y baciloscopía directa sin concentración se ha podido ver que se mantiene una sensibilidad elevada y se incrementa la especificidad, manteniéndose adecuados los valores razón de verosimilitud positiva y negativa.

Al analizar las pruebas múltiples en serie (método de concentración con hipoclorito de sodio y cultivo) se mejoró mucho todos parámetros, lamentablemente esta opción es poco práctica y sólo se debería aplicar a los pacientes que den baciloscopía positiva y que estén con tratamiento o que hayan concluido su tratamiento.

La técnica de concentración con hipoclorito de sodio es un método seguro, económico y rápido que aporta ventajas por sus altos valores de sensibilidad y valores predictivos negativos que permiten detectar el mayor número de casos. La especificidad así como la razón de verosimilitud positiva se vieron afectadas por un pequeño número de falsos positivos en pacientes con tratamiento que eliminaban BAAR muertos que no fueron detectados por los cultivos.

La razón de verosimilitud negativa y el índice de Younden son elevadas y garantizan un número bajo de falsos negativos y un número alto de detección de verdaderos positivos.

Tanto las pruebas en serie (baciloscopía por concentración y cultivo) y en paralelo (baciloscopía por concentración y baciloscopía directa, sin concentración), mejoran la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos al igual que los índices de verosimilitud positiva, negativa y el índice de Younden.

REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la Salud. El control de la tuberculosis en las Américas. Washington, DC: Programa de Publicaciones (DBI/E); 2008.
2. Cheng V, Yam I, Hung N, Woo S, Lau B, Tang, Yuen V, et.al. Clinical evaluation of the polymerase chain reaction for the rapid diagnosis of tuberculosis. *J Clin Pathol.* 2004; 57: 281-285.
3. Kaul, KL. Molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis*: impact on patient care. *Lin Chem.* 2001; 47: 1553-1558.
4. Bloom BR, Murray CJ. Community acquired pneumonia: diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148: (14) 18-526.
5. Morgan MA, Horstmeier CD, De Young DR, Roberts GD. Comparison of radiometric method (BACTEC) and conventional culture medium for recovery of mycobacteria from smear-negative specimens. *J Clin Microbiol.* 1983; (18): 384-388.
6. Stager CE, Libonati JP, Siddigi SH, Davis JR, Hooper NM, Baker JF et al. Role of solid media when tised in conjunction with the BACTEC system for mycobacterial isolation and identification. *J Clin Microbiol.* 1991; 29: 154-157.
7. Wison ML, Stone BL, Hildred MV, Reves RR. Comparison of recovery rates for mycobacteria from BACTEC 12B, Middlebrook 7H11-selective, 7H11 biplates and Lowenstein-Jensen slants in a Public Health Mycobacteriology Laboratory. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 2516-2518.
8. American Thoracic Society: Ad Hoc Committee of the Scientific Assembly on Microbiology, Tuberculosis, and Pulmonary Infections: Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. *Clin Infect Dis.* 1995; 21:9-27.
9. Tortoli E, Tronci M, Tosi CP. Multicenter evaluation of two commercial amplification kit (Amplicor, Roche and LCx, Abbott) for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary and extrapulmonary specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 33:173-179.
10. Piersimoni C, Callegaro A, Scarparo C. Comparative evaluation of the new Gen-Probe *Mycobacterium tuberculosis* amplified direct test and the semiautomated Abbott LCx *Mycobacterium tuberculosis* assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol.* 1998; 36:3601-3604.
11. Brown TJ, Power EG, French GL. Evaluation of three commercial detection systems for *Mycobacterium tuberculosis* where clinical diagnosis is difficult. *J Clin Pathol.* 1999; 52:193-197.