

Diagnóstico de *Mycobacterium leprae* con Ziehl Neelsen en frotis de piel

Diagnosis of *Mycobacterium leprae* with Ziehl Neelsen in skin smears

Roberto Ventura-Flores^{1,2,a}

¹ Servicio de Microbiología, Hospital Regional Lambayeque. Chiclayo, Perú.

² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque, Perú.

^a Maestro en microbiología clínica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1086-2291>

An Fac med. 2024;85(3). / DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i3.28072>.

Correspondencia:

Roberto Ventura Flores
venturaf@unprg.edu.pe

Recibido: 14 de mayo 2024

Aprobado: 24 de julio 2024

Publicación en línea: 31 de agosto 2024

Conflictos de interés: El autor declara no tener conflictos de interés

Fuente de financiamiento: Autofinanciado

Citar como: Ventura-Flores R. Diagnóstico de *Mycobacterium leprae* con Ziehl Neelsen en frotis de piel. An Fac med. 2024; 85(3). DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v85i3.28072>.

Sr. Editor,

La lepra es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium leprae* o bacilo de Hansen que afecta a piel, nervios periféricos y mucosa del tracto respiratorio superior^(1,2). La enfermedad continúa siendo endémica en diferentes países del mundo, así en el 2022 ocurrieron 174 087 nuevos casos. El 92% de casos en América Latina fueron en Brasil, mientras que en Perú hubieron 27 casos, 25 de ellos multibacilares⁽³⁾.

Las regiones peruanas con notificación de lepra son Loreto, Ucayali, San Martín, Amazonas, Huánuco, Madre de Dios, Jaén en Cajamarca, y la selva alta de Ayacucho⁽⁴⁾. Lo que sugiere la necesidad del diagnóstico de laboratorio, como la tinción Ziehl Neelsen que ayuda a clasificar los tipos clínicos de lepra con carga bacilar alta y baja, además, de permitir evaluar la respuesta al tratamiento en los establecimientos de salud⁽⁵⁾.

El objetivo de esta comunicación es analizar la utilidad de la coloración como técnica probada en la evaluación de la lepra; así como, sugerir algunos criterios técnicos para su rendimiento óptimo.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el diagnóstico de lepra se basa en la presencia de al menos uno de los tres signos cardinales: pérdida definitiva de sensibilidad en un parche o mancha pálida (hipopigmentada) o rojiza de la piel; engrosamiento del nervio periférico con pérdida de sensibilidad; y presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes en un frotis de piel de hendidura⁽⁶⁾. Este último se basa en hacer un raspado intradérmico, luego de una incisión con bisturí de 2 mm de profundidad por 10 mm de longitud habitualmente en seis sitios: lóbulos de orejas, codos y rodillas o mediante biopsia de piel⁽⁷⁾.

La determinación serológica de anticuerpos antiglicolípido fenólico 1 (PGL-1) tiene utilidad en pacientes con enfermedad multibacilar; pero bajo rendimiento en casos paucibacilares (PB), al igual que los ensayos de Elisa y flujo lateral que muestran baja precisión diagnóstica. También han sido desarrolladas técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que es altamente específica y sensible, pero carecen de estandarización, sumado al alto costo y la infraestructura necesaria que impiden su uso rutinario^(6,8) en la atención primaria.

Considerando que *M. leprae* es un patógeno no cultivable en condiciones *in vitro*⁽⁹⁾ y siendo la enfermedad de notificación obligatoria, su detección microbiológica con la tinción de Ziehl-Nielsen es una alternativa para visualizar el bacilo. Sus ventajas consisten en ser un proceso simple, económico y eficiente para detectar casos infecciosos, con una especificidad del 100%^(5, 8 10). Además, ayuda en la clasificación de lepra en dos grupos: paucibacilares (PB) y multibacilares (MB). Con esta información se determina la combinación de medicamentos y duración de la terapia, así como la utilidad para el control y evolución del tratamiento⁽⁷⁾.

Sin embargo, las principales desventajas en frotis de piel son su baja sensibilidad (50%), que en casos de lepra PB implica que es difícil usarlo como herramienta diagnóstica al existir una carga bacilar pequeña⁽⁸⁾. Otra desventaja es la necesidad de personal con experiencia para realizar la obtención de muestra y lectura correspondiente a fin de evitar reportes falsos positivos y negativos.

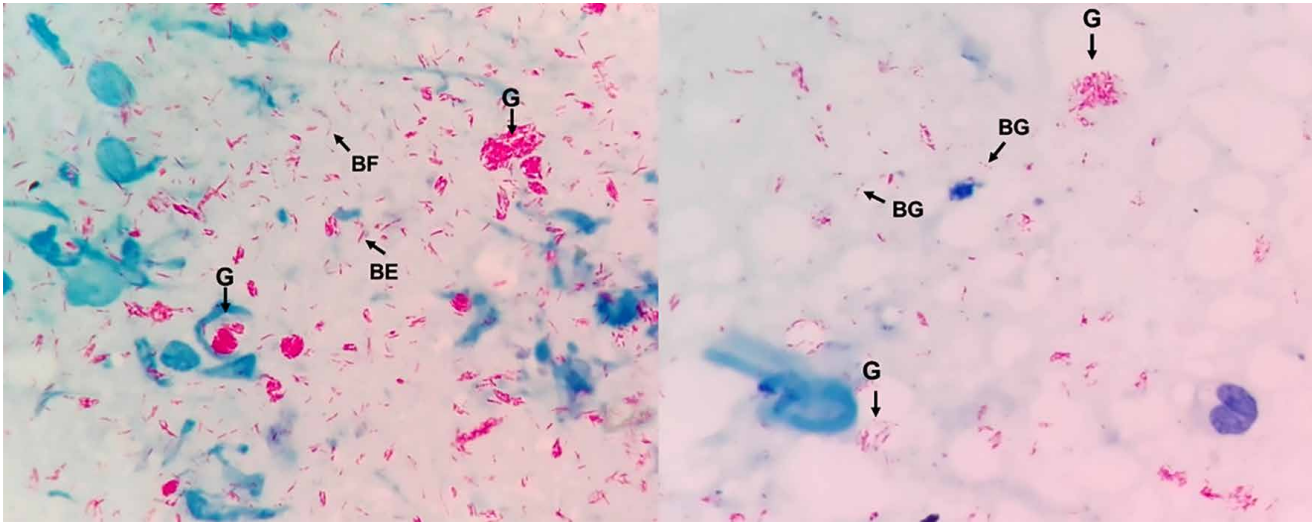


Figura 1. Tinción Ziehl Neelsen en frotis de lóbulo de oreja mostrando morfología de *M. leprae*. Izquierda: observación antes del tratamiento; globias (G) con bacilos íntegros, bacilos enteros (BE) y bacilos fragmentados (BF); aumento 100X. Derecha: observación post tratamiento de globias (G) con bacilos fraccionados y bacilos granulados (BG) o destruidos; aumento 100X.

Por otro lado, es posible optimizar el rendimiento de acuerdo a protocolos establecidos, y en base a la experiencia con dos pacientes con diagnóstico de lepra lepromatosa y sus respectivos controles durante el tratamiento. En base a lo descrito se sugiere cinco criterios para la tinción y lectura microscópica de la coloración (Figura 1):

1. En el eventual caso de emplear la tinción Ziehl Neelsen modificado se deberá exponer la fucsina fenicada sobre la muestra durante 30 minutos en ausencia de calor, y con ello evitar la inhalación de los vapores tóxicos del fenol por el operador.
2. Color fucsia de las bacterias a la tinción Ziehl Neelsen estándar y/o modificada
3. Observación de bacilos íntegros o sólidos, fragmentados granulados y globias
4. La presencia de globias (bacilos agrupados dentro del macrófago) es patognomónica de lepra lepromatosa.
5. En el informe de resultados considerar el índice bacteriológico y el índice morfológico. El primero cuantifica la carga bacilar entre 0 y 6+ según escala logarítmica de Ridley, mientras que el segundo

evalúa la muerte bacilar y consiste en reportar el porcentaje de bacilos sólidos o íntegros en relación al total de los 100 o 200 bacilos examinados.

En conclusión, el Ziehl Neelsen constituye una alternativa sencilla, rápida y de bajo costo para el diagnóstico microbiológico y control de tratamiento de lepra en los diferentes niveles de atención.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cáceres-Durán MA. Comportamiento epidemiológico de la lepra en varios países de América Latina, 2011-2020. *Rev Panam Salud Pública.* 2022;46:e14. DOI: <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.14>
2. Froes LAR, Sotto MN, Trindade MAB. Leprosy: clinical and immunopathological characteristics. *An Bras Dermatol.* 2022; 97(3): 338-47. DOI: 10.1016/j.abd.2021.08.006
3. World Health Organization. Global leprosy (Hansen disease) update, 2022: moving towards interruption of transmission. *Wkly Epidemiol Rec.* 2023; 98 (37): 409 - 430. DOI: <http://www.who.int/wer>
4. Burstein Z. Apreciaciones críticas a los programas de control y eliminación de la Lepra en el Perú y sus consecuencias para el Perú y América. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2014; 31(2): 336-42.
5. Mohan N, Sunil M, Akhil G, Priya SK, Vijayakumar V, Vineetha M, et al. Modified Ziehl-Neelsen staining for *Mycobacterium leprae*. *J Skin Sex Transm Dis.* 2023; 5:120-2. DOI: 10.25259/JSSTD_34_2022
6. World Health Organization. Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of leprosy. World Health Organization. Regional Office for South-East Asia; (2018). DOI: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274127>.
7. Perú, Ministerio de Salud [Internet]. Norma Técnica de Salud para la prevención, atención integral y control de la Lepra en el Perú. N.T.S N° 149 MINS/A/2019/DGIESP. Lima: MINS/A; 2019, 88 p [Fecha de acceso: 12 de mayo 2024]. Disponible en: <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/portaldpctb/recursos/20190404120429.PDF>
8. Chen KH, Lin CY, Su SB, Chen KT. Leprosy: A Review of Epidemiology, Clinical Diagnosis, and Management. *J Trop Med.* 2022; 2022:8652062. DOI: 10.1155/2022/8652062
9. Lenz SM, Ray NA, Lema T, Collins JH, Thapa R, Girma S, et al. Utility of a *Mycobacterium leprae* molecular viability assay for clinical leprosy: An analysis of cases from the Philippines, Ethiopia, and Nepal. *Front Trop Dis.* 2022; 3:967351. DOI: 10.3389/fitd.2022.967351
10. Marak LK, Roy S, Mondal T, Sarkar M, Ghosh T, Dey JB. Evaluation of Slit-Skin Smear Against Punch Biopsy in Diagnosing Leprosy: A Cross-sectional Study in a Tertiary Care Centre of West Bengal. *Avicenna J Clin Microbiol Infect.* 2021;8(3): 84-88. DOI: 10.34172/ajcmi.2021.15