

- 258.
36. Moon P, Kim H. Thymic stromal lymphopoietin is expressed and produced by caspase-1/NF- $\kappa$ B pathway in mast cells. *Cytokine*. 2011;54(3):239-243.
  37. Sheikh Bahaie N, Rao S, Massoud A, Sriramarao P. GM-CSF differentially regulates eosinophil and neutrophil adhesive interactions with vascular endothelium in vivo. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2010;9(4):207-217.
  38. Reber L, Da Silva C, Frossard N. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases. *Eur J Pharmacol*. 2006;533(1-3):327-340.
  39. Scuri M, Samsell L, Piedimonte G. The role of neurotrophins in inflammation and allergy. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2010;9(3):173-180.
  40. Murray L, Chen Q, Kramer M, Argentieri R, Peng X, Gulati M, et al. TGF-beta driven lung fibrosis is macrophage dependent and blocked by Serum amyloid P. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011;43(1):154-162.
  41. Detoraki A, Granata F, Staibano S, Rossi F, Marone G, Genovese A. Angiogenesis and lymphangiogenesis in bronchial asthma. *Allergy*. 2010;65(8):946-958.
  42. Karagiannis E, Popel A. A systematic methodology for proteome-wide identification of peptides inhibiting the proliferation and migration of endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(37):13775-13780.
  43. McFadden C, Morgan R, Rahangdale S, Green D, Yamasaki H, Center D, et al. Preferential migration of T regulatory cells induced by IL-16. *J Immunol*. 2007;179(10):6439-6445.
  44. Hanania N, Alpan O, Hamilos D, Condemi J, Reyes-Rivera I, Zhu J, et al. Omalizumab in severe allergic asthma inadequately controlled with standard therapy: A randomized trial. *Ann Intern Med*. 2011;154(9):573-582.
  45. Aubier M. Severe asthma: New therapeutic targets. *Bull Acad Natl Med*. 2010;194(6):1009-1019.
  46. Smith D, Minthorn E, Beerah M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mepolizumab, an anti-interleukin-5 monoclonal antibody. *Clin Pharmacokinet*. 2011;50(4):215-227.
  47. Flood-Page P, Swenson C, Faiferman I, Matthews J, Williams M, Brannick L, et al. A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(11):1062-1071.
  48. Borish L, Nelson H, Lanz M, Claussen L, Whitmore J, Agosti J, et al. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160(6):1816-1823.
  49. Hansbro P, Kaiko G, Foster P. Cytokine/anti-cytokine therapy - novel treatments for asthma? *Br J Pharmacol*. 2011;163(1):81-95.

---

## TRABAJOS ORIGINALES

Gac Méd Caracas 2011;119(4):297-309

# La biopsia pleural en pacientes con derrame pleural como elemento de diagnóstico de tuberculosis: estudio correlativo con cultivo de tejido y líquido pleural

Drs. Liliana Elizabeth Suárez Blandenier\*, Claudia Antonieta Blandenier de Suárez\*\*, Ana Rabucha\*, Lic. Ayarit Villaroel Peniza\*\*

e-mail: lilianablan@gamil.com

\* Hospital General del Este "Dr. Domingo Luciani", Caracas.

\*\*Instituto Anatomopatológico, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

## INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los centros hospitalarios de nuestro país, tanto públicos como privados, a pesar de los grandes avances en patología molecular como la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR), PNA-FISH” y otras técnicas inmunohistoquímicas, el diagnóstico de tuberculosis tisular se hace por medio del aspecto histológico observado en biopsias y muestras de punción aspiración con aguja fina (PAAF) con la coloración de rutina de Hematoxilina-eosina y se confirma con los medios de cultivo y/o otras técnicas moleculares mencionadas. Algunos médicos venezolanos especializados en patología pulmonar consideran la biopsia pleural como “el más sensible procedimiento diagnóstico” (1).

Siendo este método de diagnóstico hasta cierto punto, el “*gold standard*”, se han evaluado todos los factores que en un momento dado pueden, influir en el diagnóstico histológico positivo o la sensibilidad de la biopsia pleural, tal como lo son las técnicas modificadas de Abram y Cope para la toma de las muestras, la experiencia del operador de la biopsia pleural, el número y el tamaño de los fragmentos de tejido pleural tomados, la fijación de los mismos, los procedimientos del procesamiento y de coloración de las secciones histológicas, la experiencia tanto de los histotecnólogos y técnicos de laboratorio como de los observadores y diagnosticadores de los exámenes practicados (cultivos, secciones histológicas, etc.) (2).

Son aún vigentes los antiguos procedimientos de técnica histológica como la tinción de Paul Ehrlich (Ziehl-Neelsen) (Z-N) para identificar bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR) en todas sus modalidades. Es un método de coloración tradicional, con una especificidad alta y una sensibilidad baja. Igualmente en algunos centros se aplica la técnica de Auramina o Auramina-rodamina para identificar con fluorescencia las BAAR. Más raramente, el método de Gomori-Grocott con la plata metenamina ha sido aplicado con estos fines (3,4).

Aunque estas coloraciones son sencillas en su composición química y procedimientos, raros son los laboratorios de patología general en nuestro país que practican la coloración de Paul Ehrlich de rutina y aún menos las de fluorocromos, debido a varios factores que las hacen impracticables: la falta de dotación y la difícil adquisición de sustancias colorantes específicas y el alto costo de las mismas en la actualidad, la inadecuada capacitación de algunos técnicos histólogos en la práctica de coloraciones especiales y del personal

de laboratorio para la observación de las láminas por microscopia de fluorescencia y sobre todo, la tendencia a considerar su práctica como inútil, porque casi siempre su resultado es negativo, cuando el número de micobacterias es insuficiente.

No sucede lo mismo con esta misma tinción para la microscopia directa en las muestras de esputo. El método es sencillo, económico y altamente específico, pero con una sensibilidad baja (50 %), cuando se compara con los resultados de los cultivos para micobacterias, ya que en las muestras paucibacilares, el diagnóstico es difícil cuando las cantidades de bacilos es menor de  $10^4$  bacilos/mL. El método de concentración con hipoclorito de sodio aumenta la sensibilidad de la detección del bacilo en porcentajes que varían entre 7% y 25,3%, siendo estadísticamente significativo en 15/19 estudios (5).

Esta sensibilidad está aún más disminuida en los casos de biopsias incluidas en parafina especialmente en las biopsias extrapulmonares pleurales y pericárdicas. Según Dorronsoro, la sensibilidad y especificidad de los distintos métodos de detección es variable y depende mucho de la experiencia e idiosincrasia de cada laboratorio en particular y de cómo los adapte a su rutina de trabajo (6).

En general, el examen microscópico directo de las muestras clínicas, mediante tinciones específicas, es la técnica menos sensible pero la más rápida. Los cultivos son más sensibles pero más lentos, mientras que las técnicas moleculares basadas en amplificaciones genómicas tienen una sensibilidad menor que los cultivos, pero son más rápidas.

Otros métodos para la identificación del bacilo de Koch en los tejidos son los moleculares como la PCR, la inmunohistoquímica, mediante anticuerpos policlonales anti-*Mycobacterium (bovis duvalli, paratuberculosis, etc.)* Calmette-Guerin (pAbBCG) (7,8).

El objetivo de este trabajo es, demostrar la sensibilidad de la biopsia para el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar pleural y comprobar si la aplicación de los procedimientos y métodos especiales utilizados en este estudio, fueron adecuados, no solo por los resultados obtenidos, sino por la comparación con otras investigaciones parecidas a la nuestra. Igualmente comparar el aspecto histopatológico de la tuberculosis con los resultados positivos de los cultivos de tejido y líquido pleural realizados en todos los casos.

Son también objeto de este trabajo, el análisis del

número de fragmentos de pleura tomados en cada biopsia, la determinación del “número óptimo de especímenes” examinados para emitir un diagnóstico certero; el tipo de secciones histológicas practicadas, sus niveles, extensión de la superficie de examen histológico y las coloraciones para evidenciar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR), incluyendo las variaciones de la sensibilidad y especificidad cuando se introducen modificaciones en sus procedimientos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio realizado es de tipo prospectivo, longitudinal y descriptivo.

Se estudiaron 61 biopsias pleurales cerradas, practicadas con aguja de Abram en 59 pacientes mayores de 18 años ( $X: 38 \pm 20,36$ ) de ambos géneros (M/F: 33/26), con derrame pleural unilateral o bilateral sin diagnóstico etiológico. A dos pacientes se les practicó doble procedimiento. Todos los pacientes estaban hospitalizados en el Hospital General del Este “Domingo Luciani” en el servicio de medicina y a todos se les aplicó el juicio clínico de indicación de biopsia pleural, determinado por especialistas del servicio de medicina interna y neumonólogos del hospital.

Los procedimientos para la toma de las biopsias y del líquido pleural fueron realizados en un solo tiempo y/o procedimiento, por un experto especialista en neumonología. La biopsia pleural se tomó con la aguja de Abram entre las dos costillas a nivel del borde superior de las mismas, en el 7mo espacio intercostal con línea axilar posterior, radialmente en sentido horario, alrededor del sitio de la punción. No hubo complicaciones durante ni después del procedimiento de la toma de las biopsias pleurales.

### 1-Aspecto ético

Cada paciente firmó el documento de consentimiento informado antes de practicarle la biopsia pleural. Se obtuvo la autorización de los comités de bioética donde se realizó la investigación según la Ley vigente del Consejo Nacional de bioética (2010).

Se aplicaron los mismos **criterios de inclusión o de selección** determinados en una publicación nuestra anterior (9).

### 2-Criterios de exclusión

Se excluyeron los casos que no tenían cultivo de tejido y/o de líquido pleural por diversas razones y circunstanciales o aquellos en los cuales el material

de la biopsia pleural fue inadecuado. Se consideró como biopsia inadecuada aquella que no contenía tejido pleural o que presentaba signos de artificios tales como trituración, machacamiento, aplastamiento, etc.

### 3-Diagnóstico final o definitivo

Se emitió el diagnóstico final o definitivo, con los resultados de las biopsias positivas para el diagnóstico de tuberculosis tisular, o con los de cultivos positivos de líquido y/o de tejido pleural o de ambos. Se tomó en cuenta toda información adicional disponible en cualquier paciente a quien se le había practicado otros exámenes que comprobaron etiología tuberculosa. Ej. biopsias pericárdicas, pulmonares o ganglionares. Los resultados obtenidos tanto en las biopsias como en los cultivos, se correlacionaron con los datos clínicos de los pacientes, ya que el diagnóstico definitivo de tuberculosis extrapulmonar pleural o pericárdico, es muy complejo.

La presencia de BAAR en los tejidos no se consideró como prerrequisito para el diagnóstico definitivo.

### 4-Clasificación de los resultados histopatológicos

Los resultados histopatológicos de las biopsias fueron clasificados en dos categorías:

1. Biopsias con diagnóstico de tuberculosis tisular
2. Biopsias sin lesiones propias de tuberculosis tisular. Estas últimas comprendieron: biopsias inadecuadas para hacer un diagnóstico preciso, lesiones tumorales metastásicas y biopsias con lesiones inflamatorias inespecíficas.

### 5-Procedimientos para el estudio anatómopatológico de las biopsias pleurales.

Las biopsias fueron procesadas y estudiadas en la Sección de Patología Cardiovascular del Instituto Anatómopatológico Dr. “José Antonio O’Daly” (IAP) de la Universidad Central de Venezuela. Las muestras biológicas o fragmentos de pleura obtenidos en cada biopsia ( $n=61$ ), fueron inmediatamente fijadas en solución de formalina al 10 %. Posteriormente, el material fue incluido en parafina previa deshidrataciones en alcoholes crecientes y aclaramiento, después de su descripción macroscópica (forma, tamaño, color y consistencia) y fotografía. El número de fragmentos así como sus mediciones (ancho y largo en cm) obtenido en cada caso, fueron consignados. Dada la pequeñez de las muestras, no se consideró necesario el peso total de las mismas. Todas las muestras de las biopsias fueron incluidas colocando su superficie mayor para el corte. El material biológico fue incluido en su totalidad. Las

secciones de 2 a 4 micras de grosor fueron realizadas en un microtomo American Optical de rotación con hojilla descartable holder Shandon. Se realizaron cortes seriados en dos (n=51 casos); uno (n=7 casos) y tres niveles (n=3 casos). Cada nivel en una sola lámina tenía entre 2 y 31 secciones histológicas teñidas con Hematoxilina-eosina, con un promedio de 8,5 secciones examinadas en total y otra lámina teñida con Z-N con el mismo número de secciones histológicas. Los cortes histológicos teñidos con Z-N fueron examinados con lente de inmersión dos veces. La última revisión se hizo solo en los casos que resultaron positivos con la coloración de rutina.

Los casos que resultaron positivos para tuberculosis fueron seleccionados para hacer la coloración de Auramina-rodamina. Fueron examinados con microscopio de fluorescencia en la Sección de Patología Cardiovascular.

#### **Coloraciones especiales para diagnóstico histopatológico (microscopia de luz) de tuberculosis tisular**

Principio de la coloración: los colorantes primarios como el carbol-fucsina (Z-N o Kinyoun) y la auramina O (fluorocromos) se unen a los ácidos grasos de la pared microbiana para dar una coloración estable que no desaparece con los ácidos ni con alcoholes. Uno de los inconvenientes es que no se identifican específicamente los diferentes tipos de micobacterias: *M. tuberculosis* y no tuberculosas.

#### **Coloración de Paul Ehrlich (Ziehl-Neelsen) (para bacilos ácido-alcohol resistentes identificados en tejidos). Por microondas (Modificación: IAP-CENRAP, MSDS-UCV). 2004 (10).**

Para realizar esta coloración se utilizaron las siguientes soluciones:

- A. Solución de carbol-fucsina, colorante de bacilos tuberculosos (fucsina básica como colorante de bacilos (New fucsina CC4220), agua destilada, cristales de fenol fundidos como mordiente, alcohol al 100 %)
- B. Solución decolorante: alcohol-ácido al 0,1 % (ácido sulfúrico al 5 %, alcohol al 70 %).
- C. Solución de coloración de fondo histológico (Solución de trabajo) (azul de metileno, CI5205) y agua destilada.

La coloración con la solución de carbol-fucsina se hizo en un horno microonda L-G, de 80 W, en

un primer tiempo, 10 minutos y segundo tiempo, 7 minutos. En la solución decolorante, se reemplazó el ácido hidrociorhídrico por el ácido sulfúrico al 5 %. Para el control de la coloración, se utilizaron bloques de tejidos con lesiones tuberculosas comprobadas. La lámina control conteniendo el tejido con bacilos-ácido-alcohol resistentes (de cualquier órgano o tejido), fue teñida al mismo tiempo que el tejido a diagnosticar. Los cortes histológicos se examinaron con el objetivo de inmersión de 100X.

Resultados: los bacilos se colorean de rojo fucsia y el tejido de fondo de color azul o verde de acuerdo a la coloración de fondo empleada como contraste. En nuestro trabajo, el fondo es azul. Figura 1a.

#### **Método de la fluorescencia para microorganismos ácido-alcohol resistentes según. Truant, 1962 (11).**

Esta coloración se realizó con las siguientes soluciones:

Solución de Hematoxilina férrica de Weigert; A y B. (Hematoxilina, alcohol de 95%, cloruro férrico acuoso al 29%, agua destilada y ácido clorhídrico concentrado).

Solución de Auramina-rodamina (Auramina 4,5 g, Rodamina 2,25 g, glicerina, U. S. P. 225 mL, cristales de fenol fundidos, 36 mL, agua destilada 150 mL)

Solución alcohol-ácido 1 % (alcohol de 70 %, ácido clorhídrico concentrado).

Montaje con Permout o Histoclard.

Resultados: los bacilos de Koch se observan con microscopio para fluorescencia de color amarillo-rojizo. Los artefactos retienen el color amarillo. El fondo es de color azul oscuro. Figura 1b.

#### **6-Procedimientos para el cultivo del líquido y tejido pleural (material biopsico)**

Se tomó una muestra de tejido (n=1) y en forma empírica se tomaron unos 8 a 10 mL aproximadamente, de líquido pleural para realizar el cultivo para BK de los 59 pacientes. Los cultivos se realizaron en el laboratorio de Bacteriología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" y en el Laboratorio Clínico de Referencia "Dr. Pablo Ordaz". Las muestras de tejido y del líquido pleural fueron sembradas en el medio de Löwestein e incubadas por 8 semanas.

**7-Estudio estadístico:** Se calculó la media aritmética y sensibilidad del número de fragmentos obtenidos en cada biopsia y se aplicó el Chi cuadrado para comparar los resultados con los de otros autores con la finalidad de establecer el número óptimo de

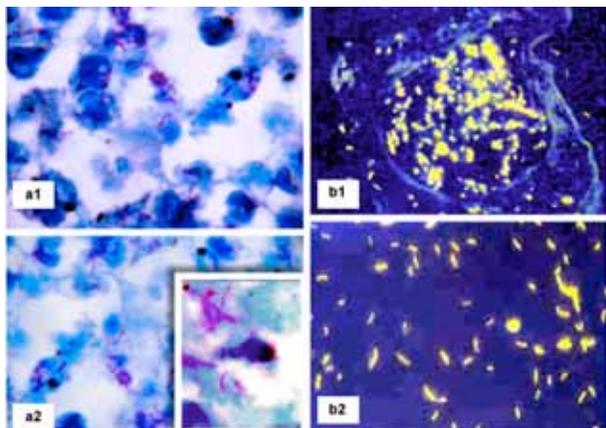


Figura 1. a1 y a2 .Microfotografías de secciones histológicas con bacilos ácido-alcohol resistentes (Control positivo) Coloración de Z-N. 250X; 400X. En el recuadro se observan los paquetes de bacilos teñidos de fucsia.1000X. Fotografías b1 y b2, Micrografías de secciones histológicas con bacilos teñidos con auramina-rodamina. (fluocromos). (Control positivo).  
Sección de Patología Cardiovascular. Cortesía. Lic, Régulo Suárez y Lic Ayarit Villaroel.

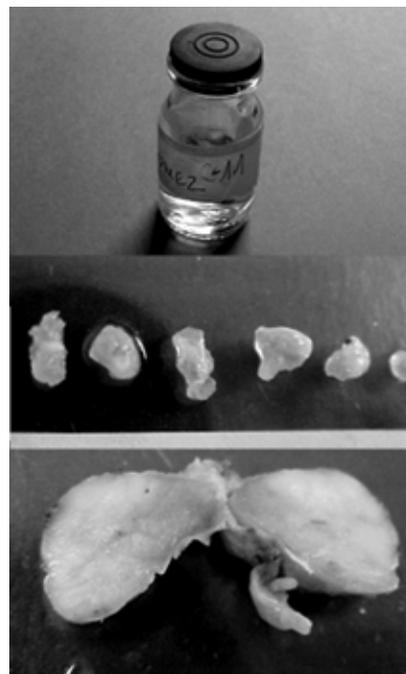


Figura 2. Aspectos macroscópicos de muestras biológicas de pleura de dos casos de biopsia..  
Sección de Patología Cardiovascular. IAP.

fragmentos para el estudio de este tipo de biopsia.

## RESULTADOS

### 1.- Estudio anatomopatológico: biopsias pleurales

De las 61 biopsias pleurales realizadas, se excluyeron siete casos (n=7) de acuerdo a los criterios de exclusión. Las 54 biopsias se practicaron en 52 pacientes (X 40,0 años de edad. (M/F: 31/21). A dos pacientes se les practicó doble procedimiento.

#### Descripción macroscópica

El material de las 54 biopsias, fue recibido, fijado en solución de formalina al 10 % en cantidad variable. Los extremos del número de fragmentos por caso fueron de 1 a 7. Un solo caso contó con 11 fragmentos, la mayoría de ellos (n=7) eran minúsculos, menores de 1 mm. La media de todos los fragmentos fue de  $3,4 \pm 2$ . Todos los fragmentos eran de forma y superficie irregular, de color blanquecino, algunos con áreas de hemorragia. La mayoría de las muestras midieron entre 0,1 y 1,6 cm en ancho y largo. La consistencia varió entre blanda y firme. Los fragmentos fueron incluidos por su mayor dimensión de superficie. Figura 2.

### Descripción microscópica. (Microscopio de luz)

Fueron examinados al microscopio de luz, 54 biopsias La superficie de corte examinada en total con H-E fue de aproximadamente  $51 \text{mm}^2$

La distribución de las biopsias según los diagnósticos histopatológicos realizados en un primer paso con la coloración de rutina de Hematoxilina-eosina (H&E) fue el siguiente:

- Biopsias con diagnóstico de tuberculosis tisular pleural.
- Biopsias sin lesiones propias de tuberculosis tisular.

#### a. Biopsias con diagnóstico de tuberculosis tisular pleural.

El aspecto microscópico en las 21 biopsias, no varió mucho de un caso a otro. En el Cuadro 1 están consignados los elementos histopatológicos más importantes. En general, las secciones histológicas teñidas con Hematoxilina-eosina, mostraron, una pérdida de la estructura normal de la pleura con un notable engrosamiento del tejido pleural debido a fibrosis en cantidades y extensión variable y a

Cuadro 1

Biopsias pleurales con diagnóstico de TBC n=21  
Características histológicas

	n	%
1. Infiltrado inflamatorio		
Linfocitos	21	100,0
Monocitos	21	100,0
Polimorfonucleares	2	100,0
Histiocitos	21	100,0
2. Granulomas	21	100,0
2 <sup>a</sup> . Con células gigantes	13	62,0
Con necrosis	7/13	54,0
Sin necrosis	6/13	46,0
2 <sup>b</sup> . Sin células gigantes	8	
Histiocitos sin necrosis	7	33,0
Histiocitos y necrosis	1	5,0
3. Fibrosis	19	90,0
4. Material fibrinoide	5	24,0

Fuente: Sección de Patología Cardiovascular. IAP-UCV.

una severa o mediana reacción celular inflamatoria formada por células linfo-mononucleares y escasos polimorfonucleares, fibroblastos con agrupaciones de histiocitos con o sin células gigantes de tipo Langhans o de cuerpo extraño acompañados de necrosis (granulomas necrotizante de células epitelioides). En algunos casos, las áreas de necrosis estaban bordeadas de fibroblastos dispuestos en empalizadas. En 7 casos, la necrosis no fue evidente (granulomas celulares epitelioides). Igualmente, en algunas biopsias se evidenció además de la lesión granulomatosa: tejido mesotelial, folículos linfoides, neovascularización, hemorragia focal, fragmentos de músculo estriado en ocasiones con tejido adiposo, y material fibrinoide superficial. Figura 3 a, b, c y d.

**b. Biopsias sin lesiones sugestivas de tuberculosis. (n=33)**

Este grupo comprendió: una biopsia que resultó ser de naturaleza tumoral, con lesiones sugestivas de carcinoma metastásico (biopsia 11), y dos biopsias inadecuadas en las cuales se observó fibrosis pleural, sin infiltrado inflamatorio. Los 30 casos restantes fueron diagnosticados como pleuritis inespecífica.

**Pleuritis crónica inespecífica sin o con reagudización. (n=30)**

La mayoría de secciones histológicas teñidas con Hematoxilina-eosina, mostraron engrosamiento

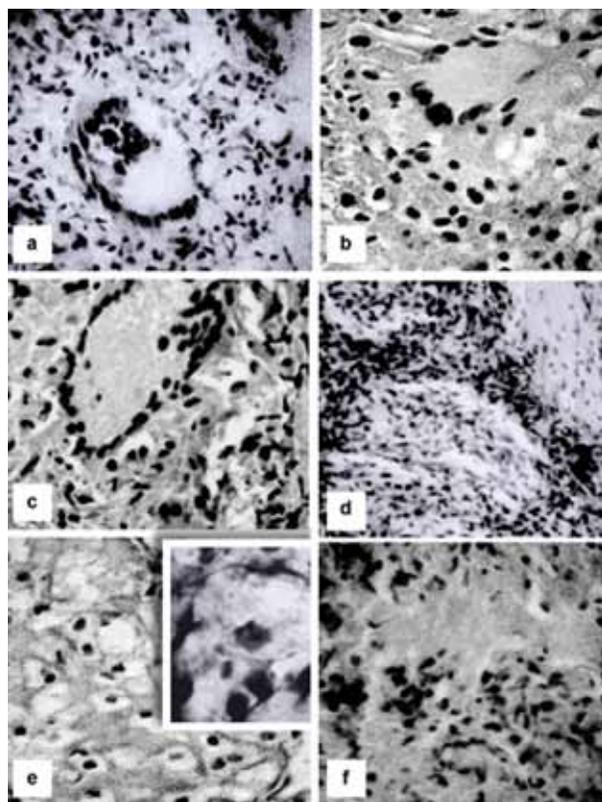


Figura 3. Microfotografías de biopsias pleurales con lesiones cónsonas con tuberculosis .a, b y c: Lesiones granulomatosas con células gigantes de tipo Langhans. d: Histiocitos con tendencia a formar folículos linfoides. e. Grupos de histiocitos grandes y claros. Aspecto a mayor aumento en el recuadro. f: Foco de necrosis. Sección de Patología Cardiovascular. IAP.

pleural por fibrosis, infiltrado inflamatorio linfo-mononuclear de leve a severo, fibroblastos, escasos neovasos y grupos de células mesoteliales normales o reactivas. En algunas biopsias se comprobó focos de hemorragia, edema focal y material fibrinoide superficial. En dos pacientes (n° 15 y 19) y (n° 46 y 61), se les realizó dos biopsias pleurales, las cuales resultaron con el mismo diagnóstico. Figura 4.

**Coloraciones especiales.** La coloración de Ziehl-Neelsen para bacilos ácido-alcohol resistentes en tejidos y la de Auramina-rodamina fueron negativas en todas las biopsias estudiadas.

**2. -Cultivo del líquido y tejido pleural.**

No se consignaron los resultados de los cultivos

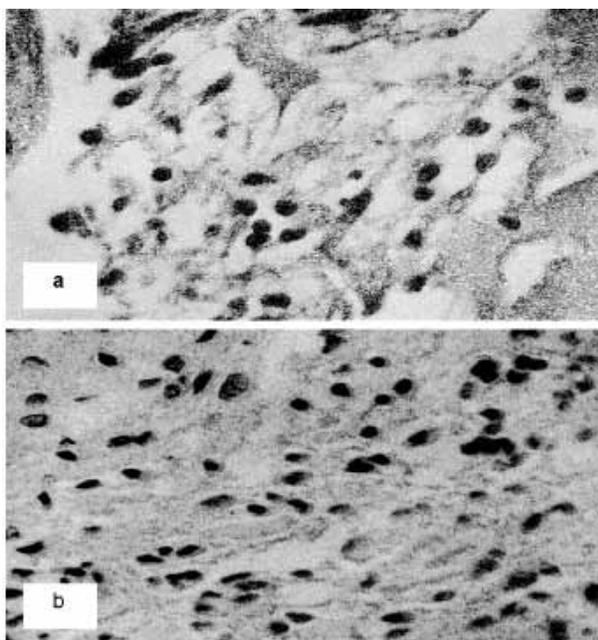


Figura 4. a y b Aspectos histopatológicos de dos casos de pleuritis crónica inespecífica.  
Sección de Patología Cardiovascular. IAP.

de los siete casos excluidos del grupo de biopsias estudiadas. Los resultados de los cultivos del líquido y tejido pleural de cada paciente (n=52) y su distribución según el grupo de biopsias (n=54) están expuestos en el Cuadro 2. Transcurrido el tiempo de cultivo 50 días después de la siembra, de no haber presencia de colonias se concluyó como un resultado negativo. El cultivo de tejido y del líquido pleural resultó positivo para el *M tuberculosis* en 11 casos (21,0 %). La distribución de los cultivos de tejido y líquidos positivos según los resultados de la histopatología se explican a continuación. En cinco pacientes con biopsia positiva para tuberculosis, el líquido y el cultivo de tejido resultaron positivos para BK (24,0 %). En tres casos, el cultivo de tejido positivo confirmó el diagnóstico de la biopsias y en uno, el líquido pleural fue positivo. En un paciente, la biopsia y ambos cultivos, resultaron positivos para BK.

En los 30 casos con biopsias negativas para el diagnóstico de tuberculosis, solo resultaron positivos 4 cultivos (13,3 %); dos de tejido y dos de líquido pleural.

Cuadro 2

Distribución de los casos con cultivos positivos en 54 biopsias pleurales

Cultivos positivos	Biopsias (p) Positivas n=21		Biopsias (p) Negativas n=33		Todos n=54	
	n	%	n	%	n	%
Tejido pleural	4	19,0	2	6,0	6	11,0
Líquido pleural	3	14,0	2	6,0	5	9,0
Todos	7	33,0	4	12,0	11	20,0

Fuente: Sección de Patología Cardiovascular. IAP-UCV.

### 3.-Diagnósticos de tuberculosis pleural finales o definitivos

De los 52 pacientes, resultaron con biopsia positiva para tuberculosis, 21 de ellos (promedio de edad:  $32,6 \pm 15,83$ ) lo que representa el 40,3 % de los casos y el 39,0 % (sensibilidad) de todas las biopsias estudiadas (n=54). En cinco casos de ellos, el diagnóstico fue confirmado con los cultivos tanto de tejido como de líquido pleural. Todos estos pacientes presentaron derrame pleural unilateral y de tipo exudativo con predominio linfocítico (92,0=%)

En el grupo de los 30 pacientes (promedio de edad:  $43,81 \pm 22,54$ ) con diagnóstico de pleuritis inespecífica, (58,0 %) se diagnosticó tuberculosis en 4 pacientes quienes tuvieron dos cultivos de tejido positivos y otros dos, con cultivo de líquido pleural positivo. Además, un caso de este grupo (biopsia n° 47), presentó la particularidad de resultar ser de etiología tuberculosa, cuando en una exploración más extensa, se le estudió: tejido pulmonar, pleura, ganglio linfático mediastinal y pericardio. Los diagnósticos fueron: en pulmón: "Enfermedad de la pequeña vía aérea con peribronquiolitis linfoplasmocitaria. Antracosis, fibrosis leve a moderada. Enfisema centrolobulillar. Signos leves de hipertensión pulmonar. En pleura parietal: pleuritis crónica reagudizada. En ganglio linfático: adenitis crónica granulomatosa con necrosis caseosa sugestiva de tuberculosis y pericarditis crónica granulomatosa con necrosis caseosa y colicuativa, sugestivos de tuberculosis". De tal manera, que este paciente presentaba tuberculosis pericárdica y linfática mediastinal sin extensión aparente en la biopsia de pleura. Finalmente con este caso, 5 pacientes con biopsias inespecíficas resultaron con tuberculosis.

El diagnóstico final de los 52 pacientes fue de 26 casos diagnosticados como tuberculosis pleural (50 %).

**4. Análisis estadístico**

La distribución del número de fragmentos o especímenes obtenidos en cada biopsia (n=54) según los resultados histopatológicos (positivos y negativos para tuberculosis) así como la sensibilidad de las biopsias está consignada en el Cuadro 3. Haremos la observación, que en una de las biopsias, no se anotó el número de fragmentos tomados, por lo cual, este se incluyó en el grupo de 3 fragmentos por biopsia, ya que este fue el promedio estimado de fragmentos por biopsia.

Se realizó una regresión entre el nº de fragmentos por caso y la sensibilidad (% de biopsias positivas) obteniéndose una ecuación de la recta:  $Y_p = 0,4 - 0,03x$ , de tal manera que en el promedio la sensibilidad disminuye 0,03 %, al aumentar el número de fragmentos o especímenes tomados por biopsia. El correspondiente coeficiente de correlación fue de -0,36. Los coeficientes de regresión y el de correlación no alcanzaron significancia estadística.

Según los criterios de Kirsch y col, la sensibilidad de la biopsia percutánea para el diagnóstico de tuberculosis pleural es alta cuando se obtienen más de seis fragmentos, razón por la cual se hicieron los mismos cálculos estadísticos con los datos de este autor (12). La ecuación de la recta fue:  $Y_p = 0,2 + 0,1x$ , de tal manera que en el promedio la sensibilidad aumenta 0,1 %, al aumentar el número de fragmentos tomados

en cada biopsia, El correspondiente coeficiente de correlación fue de 0,84. Ambos coeficientes resultaron estadísticamente significativos ( $P < 0,01$ ), y se comparó también la sensibilidad (% de biopsias positivas). La de Kirsch fue  $26/30 = 0,87$  y la nuestra de:  $21/54 = 0,39$  resultando la diferencia entre ambos estadísticamente significativa. Además se calcularon la media de fragmentos por paciente y su desviación estándar, tanto del total como la de los pacientes con biopsia (+) o (-) y se compararon con las mismas medias calculadas con los datos de Kirsch (12) Cuadro 4.

En otra investigación más reciente sobre biopsias pleurales en casos de derrames exudativos (n=59 biopsias) los cuales resultaron principalmente tumorales, los autores consideraron que tres especímenes obtenidos en cada toma de biopsia, fueron suficientes en el 72 % (13). También se comparó la sensibilidad para el diagnóstico del derrame pleural de origen neoplásico, de acuerdo con el número de fragmentos. En 25 biopsias con hasta 3 fragmentos, se diagnosticaron 4 pacientes (16 %) y en 40 biopsias en las cuales se tomaron de 4 a 6 fragmentos se diagnosticaron 13 pacientes (32,5 %). El  $\chi^2$  no resultó estadísticamente significativo, por lo cual concluyeron que no encontraron una mejoría en el diagnóstico cuando aumentaba el número de especímenes por biopsia de 3 a 6.

Por otra parte, considerando que en nuestro estudio, el promedio de especímenes por biopsia tomados fue de aproximadamente de 3, comparamos nuestros resultados con los de Chakrabarti y no se demostraron diferencias estadísticamente significativas. Realizamos con nuestros datos la misma

Cuadro 3  
Distribución del número de fragmentos por biopsias según la histopatología

Nº de fragmentos	Nº de biopsias	Biopsias positivas	Biopsias negativas	Sensibilidad (%)
1	8	1	7	0,125
2	14	10	4	0,714
3	10	3	7	0,3
4	11	4	7	0,363
5	3	0	3	0,0
6	2	1	1	0,5
7	5	2	3	0,4
11	1	0	1	0,0
Todos	54	21	33	0,39

Fuente: Dr. Avilán y Sección de Patología cardiovascular. IAP-UCV.

Cuadro 4

Cuadro comparativo de las medias de fragmentos por caso entre los datos de Kirsch<sup>12</sup> y los del trabajo

Medias	Datos de Kirsch	Datos nuestros	P
Todos	6,8±1,6	3,4±2	< 0,001
Con biopsia (+)	7,1±1,53,1±1,7	< 0,001	
Con biopsia (-)	4,8±1	3,5±2,2	0,20

Fuente: Dr. Avilán y Sección de Patología Cardiovascular. IAP-UCV.

comparación que este autor realizó con los suyos, es decir, la sensibilidad (% de biopsias positivas) en los mismos dos grupos: con  $\leq 3$  fragmentos y con  $\geq 4$  fragmentos. El  $\chi^2$  no demostró diferencias estadísticamente significativas ( $P=0,15$ ) (13).

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se comprobó una sensibilidad de las biopsias positivas de 0,39 (21/54), para el diagnóstico de tuberculosis pleural (TP), la cual resultó ser muy baja cuando se comparó con la de Kirsch y col. (12) (26/30=0,87), resultando una diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,001$ ).

De los 52 pacientes con biopsias pleurales, 26 casos fueron diagnosticados definitivamente como tuberculosis pleural (50,0 %). En 21 casos el diagnóstico fue histopatológico, en cuatro pacientes, los cultivos de tejido y líquido pleurales fueron positivos. En un paciente, el diagnóstico de tuberculosis se hizo con una biopsia pericárdica y ganglionar. Consideramos estos resultados como bajos.

Del grupo de las biopsias que resultaron positivas para la tuberculosis pleural, en cinco casos (24,0 %), el diagnóstico fue corroborado con el cultivo de tejido y líquido pleural positivos para *M tuberculosis*, ya que las coloraciones especiales para BAAR fueron negativas en todos los casos. Los resultados de Valdés y col. fueron mucho más altos que los nuestros con una sensibilidad de observaciones de granulomas en tejido pleural del 79,8 % vs. 39,0 % y una tinción de Z-N positiva en el 25,8 % vs. 0. Según estos investigadores, su sensibilidad es del 80 % o del 86 % en combinación con cultivos de tejido positivo. Nuestros resultados fueron mucho

más bajos. (21/54=39,0 % y 4/21=19,0 %) (14).

Nuestros resultados son parecidos, aunque menores que los de Khan y col., quienes en 63 pacientes mayores de 18 años con derrame pleural, encontraron un 56,6 % de casos de tuberculosis en las biopsias pleurales. Es de hacer notar que ellos tomaron un mínimo de 4 fragmentos para el estudio histológico (15).

Referente al diagnóstico histopatológico de tuberculosis pleural, la presencia de granulomas con necrosis o sin necrosis fue la nota más característica de la lesión diagnosticada con coloración de rutina (H-E) en una primera instancia, teniendo en cuenta que el diagnóstico histopatológico puede dar falsos negativos, en algunos casos de inflamación crónica no granulomatosa de origen tuberculoso, especialmente en pacientes inmunosuprimidos. Está por demás recordar que las lesiones granulomatosas pueden aparecer en otras enfermedades como la sarcoidosis, artritis reumatoide e infecciones micóticas. Algunos patólogos hacen el diagnóstico "sugestivo de tuberculosis" cuando los granulomas están solo formados por células epitelioides o histiocitos sin necrosis ni células gigantes de Langhans. Consideran que la presencia de BAAR no es un prerrequisito para el diagnóstico de tuberculosis tisular (16).

El principio de las coloraciones de los BAAR, es el uso de los colorantes derivados de los fenilmetanos. Son de este grupo: la tironina, auramina (Difenil) rosanilinas, ácidos rosálicos, taleinas como la fucsina básica y la fucsina S o ácida. Aunque la ácido-alcohol resistencia es propia de las micobacterias, se ha descrito en algunos actinomicetos, endosporas bacterianas, huevos de tenia y diversos tipos de ácaros (10).

En general, el diagnóstico de micobacterias con estas coloraciones, permite observar la precisa localización de los bacilos en el contexto de los granulomas y conocer el estadio de la enfermedad de acuerdo a la extensión de los bacilos y la integridad de los granulomas. En algunas series estudiadas, la coloración de Z-N resultó positiva en el 22 % de los casos de biopsia pleural estudiados (17). Lamentablemente, no obtuvimos positividad en ningún caso como se dijo anteriormente. Este resultado nos enfrentó al problema no solo por la baja sensibilidad de las coloraciones para los BAAR, sino por la baja especificidad que pudiera existir en nuestros casos. El análisis de estos resultados se hizo en base a los conocimientos previos sobre la materia. En primer lugar, es conocido que el bacilo

tuberculoso se colorea mal en las muestras biológicas fijadas en solución de formalina o en el antiguo líquido de Kaiserling usado como conservador de piezas en los museos de anatomía patológica. La fijación puede destruir la nota característica de estos bacilos: la ácido-resistencia. De tal manera que creemos que la fijación de nuestro material pudo ser inadecuada. Algunos autores recomiendan los fijadores a base de ácido fénico el cual facilita la conservación de esta característica durante 136 días. (60 mL de alcohol a 80°, 15 g de ácido fénico, formol y ácido acético crist, 2 mL) (18). Desafortunadamente, no pudimos disponer de este fijador, sino de la formalina al 10 %. Aunque se introdujeron algunas modificaciones en la técnica y se utilizó el microondas como recomiendan algunos autores no obtuvimos resultados positivos. Es de hacer notar que todos los controles fueron positivos, descartándose de esta manera, una falla de cualquiera naturaleza tanto en las soluciones colorantes como en los procedimientos técnicos.

Por otra parte, la tinción de ZN no es positiva cuando la cantidad de bacilos en las secciones histológicas es menor de  $10^4$  por mL. Estudios realizados en varias muestras de pulmón, ganglios linfáticos, médula ósea, lesiones pleurales comparando la coloración convencional de ZN con métodos de inmunohistoquímica (pAbBCG) y PCR demostraron la negatividad de la coloración de ZN, como en nuestro trabajo (19).

Es opinión de algunos autores que realizaron trabajos sobre la especificidad del *M. tuberculosis*, que en “los últimos años (década del 90-200), el aumento en el número de infecciones debidas a micobacterias no pertenecientes al complejo *M. tuberculosis*, ha hecho que se planteen dudas sobre la auténtica especificidad de dichas tinciones para el diagnóstico de tuberculosis”. Después de varios estudios llegaron a la conclusión que la tinción ácido-alcohol resistente ha perdido especificidad para el diagnóstico de la tuberculosis, sobre todo en muestras extrapulmonares como las de nuestro estudio (20).

Por esta razón se considera la coloración de auramina O más sensible que la de Paul Ehrlich (Z-N). La técnica de PCR usando el elemento de inserción IS6110 es altamente sensible especialmente para el diagnóstico temprano de la tuberculosis. El cultivo en el medio de Lowenstein Jensen debe ser reevaluado como método de referencia para la confirmación de falsos positivos por PCR y auramina (21).

El *M. tuberculosis* es un bacilo de crecimiento lento por lo que difícilmente dará resultados en las

primeras semanas, durante las cuales puede producirse la contaminación con otras bacterias. Diferentes medios de cultivo se han usado para el aislamiento de las micobacterias. El más común, de Lowenstein Jensen, contiene huevo y altas concentraciones de verde-malaquita, para eliminar la contaminación con otras bacterias. El medio de Ogawa es otro cultivo comparable en su composición con el anterior. Existen otros medios basados en agar, como lo son el Middlebrook 7H10 y 7H11. El sistema BACTEC TB-460 fue el primer sistema semi-automatizado que apareció en el mercado de los medios para micobacterias, y aún se sigue utilizando. En la última década, nuevos medios de cultivos comerciales se han introducido, como: el Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT), Bract/Alert, ESP Mice, MB Redox y KRD “Niche B”, biphasic Septic- Check AFB y Mice-Acid, y BACTEC MGIT960 systems. Al igual que el BACTEC TB-460, estos nuevos sistemas se basan en medios líquidos. Estos últimos han demostrado ser más sensibles que los medios sólidos, para el aislamiento de la micobacteria de las muestras clínicas. Sin embargo, la desventaja de estos últimos, es su alto costo, lo que es desventaja para emitir el diagnóstico de tuberculosis, sobre todo en países de escasos recursos. Los medios de cultivo basados en “agar sangre” son una alternativa para el aislamiento de la micobacteria, ya que resultan ser tan eficientes y ampliamente recomendados como los medios de cultivo específicos tradicionales. Además, el *M. tuberculosis*, crece en estos medios en dos semanas y se ha evidenciado, que la cantidad de colonias aisladas de las muestras clínicas en ellos, es significativamente mayor que las aisladas en los medios sólidos que contienen huevo. La mayoría de los laboratorios de bacteriología de hospitales tanto privados como oficiales, están dotados de los medios de cultivo en “agar sangre”, los cuales pueden ser utilizados en un momento dado para el aislamiento de las micobacterias en caso de no disponer de los medios específicos de cultivo (22).

Sería adecuado, inclusive considerarlo como un prerrequisito, identificar la especie de micobacterias, mediante métodos bioquímicos y moleculares en todos los cultivos que se reporten positivos.

### **Coloración de Paul Ehrlich (Zielh-Neelsen)**

Haremos algunas consideraciones sobre este punto, haciendo hincapié en que en estos métodos, intervienen dos factores conjuntamente: las características morfológicas y fisiológicas de los bacilos y las de

los colorantes y mordientes. El agente causal de la tuberculosis fue descubierto en 1882 por Roberto Koch, es de aspecto bacilar recto y alargado, mide 0,4 x 3 micras, pertenece al orden *Actinomycetae*, a la familia *Mycobacteriaceae* y al género *Mycobacterium*. Para visualizarlo microscópicamente, este autor empleó el colorante azul de metileno alcalino seguido por la tinción de Bismarck (23).

El género *Mycobacterium* (M) incluye más de 100 especies que pueden clasificarse en seis grupos desde el punto de vista bacteriológico. El Complejo tuberculosis comprende las especies *M. tuberculosis*, *M. bovis* (incluida la cepa BCG) y *M. africanum*, productoras todas ellas de tuberculosis, siendo el primero el que se aísla con mayor frecuencia. El *M. tuberculosis* no se tiñe con facilidad, resiste a la decoloración por alcohol o ácido una vez teñido como se mencionó anteriormente. Esta característica está dada por la integridad de la pared celular lipídica hidrófoba que la hace más resistente que otras bacterias y se debe a su capacidad de formar complejos estables de micolato con las tinciones de cristal violeta, carbolfucsina, auramina y rodamina por lo que una vez teñidos resisten decoloración por etanol, ácido clorhídrico y otros ácidos.

Paul Ehrlich fue el autor de la primera tinción histológica que permitió diagnosticar el *M. tuberculosis* en la baciloscopia, (1882). Fundamentó su método en el carácter ácido-alcohol resistente a la decoloración. En un comienzo, utilizó ácido nítrico y tiñó con violeta de genciana o fucsina en presencia de anilina disuelta en agua. El nombre de Ziehl-Neelsen fue aplicado mucho tiempo después que Franz Ziehl, bacteriólogo propuso utilizar el ácido carbólico en lugar de la anilina, alternativa que ya había mencionado Ehrlich. Posteriormente, Kark Adolf Neelsen, patólogo alemán, sustituyó el colorante de violeta de genciana por fucsina y el ácido nítrico por ácido sulfúrico (también alternativas propuesta por Ehrlich). Fue Heinrich Albert Johne quien aplicó los nombres de Ziehl y de Neelsen a esta tinción sin referirse al autor original en uno de sus trabajos quedando ya establecido definitivamente (24,25).

Varias modificaciones de la coloración de ZN fueron probadas con la finalidad de aumentar la intensidad del color de los bacilos. Biot descubrió que la inmersión en formol después de la coloración de ZN, aumentaba la coloración de los bacilos. El Método de Gallego se basa en este principio aplicado a los tejidos incluidos en parafina fijados 24 horas antes en formol al 10 % y después de la

decoloración del Ziehl, virar en una solución de formol al 1 % (26). El uso de la glicerina tiene como fin, otorgar a las soluciones más concentración. Trabajos experimentales han demostrado que el fenol puede aplicarse simultáneamente con la fucsina para obtener una mejor coloración, puesto que disminuye la solubilidad de la fucsina en agua y la aumenta en los lípidos de los bacilos (27).

### **El número óptimo de especímenes para un diagnóstico histopatológico certero.**

Otro problema que nos planteamos, era la consideración de no haber tomado el número óptimo de fragmentos para el estudio histopatológico. Como se expuso en el análisis estadístico, la conclusión de Kirsch y col., era que el número óptimo para el diagnóstico de tuberculosis pleural es de 6 especímenes tomados en cada biopsia pleural (12). Cinco años antes que este autor, Walshe publicó un trabajo donde consideraba que los especímenes obtenidos por biopsia en las iniciales investigaciones, era insuficiente. Sugería que debían tomarse hasta 6 especímenes por biopsia para maximizar la obtención de tejido pleural (28).

Con el análisis de otros investigadores, pudimos afirmar que si bien a mayor número de especímenes por biopsia que se tomen, mayores probabilidades existen de encontrar el tipo de lesión a diagnosticar bien sea inflamatoria o tumoral, no necesariamente es cierto que el número de 6 fragmentos es el óptimo para maximizar el diagnóstico. El promedio de 3 o 4 fragmentos es suficiente para obtener un diagnóstico de tuberculosis o tumor maligno pleural. De tal manera que estábamos en los límites adecuados para emitir un diagnóstico certero. Algunos autores han tomado en cuenta el tamaño de la muestra biológica para el diagnóstico de tuberculosis (29). Nosotros tomamos en cuenta dos medidas en diámetros: largo y ancho (Superficie de mm<sup>2</sup>). Los fragmentos fueron incluidos por la medida mayor. El cálculo de la superficie examinada se hizo multiplicando el número de secciones histológicas por caso por la medida en mm del corte. Aparentemente no hubo mayor cantidad de casos positivos en los casos con más superficie examinados.

### **Conclusiones y recomendaciones**

Concluimos que el aspecto histopatológico sigue siendo el más importante hallazgo para el diagnóstico de tuberculosis pleural, ya que las coloraciones

para BAAR son poco sensibles y aparentemente han perdido hasta su especificidad. Los métodos de inmunohistoquímica y de biología molecular confirman con una mayor certeza el diagnóstico, sin embargo, no están al alcance de todos nuestros laboratorios de técnica histológica.

Recomendamos que fuera conveniente y prudente, reconsiderar la metodología empleada para la realización de las coloraciones específicas para BAAR y dentro de este contexto, se concluye que es importante, la experiencia de los histotécnicos y observadores.

Un renglón que casi nunca es tocado, es el estado de las sustancias utilizadas en los laboratorios de anatomía patológica. (Almacenamiento, diluciones, vencimiento, etc.).

Es de hacer notar que siendo el método de los fluorocromos el más sensible y rápido de observar, es poco utilizado en los laboratorios nuestros, especialmente en los privados. Requiere de un microscopio de fluorescencia que muchos no poseen. Por otra parte, es importante la capacitación del personal de laboratorio para el diagnóstico por este método.

La tuberculosis en Venezuela constituye un problema de salud pública aumentado por el número de casos en pacientes inmuno-suprimidos como es el caso de los infectados con VIH/SIDA. El diagnóstico de tuberculosis especialmente, la extrapulmonar pleural es mucho más difícil, ya que las técnicas convencionales no son lo suficientemente rápidas ni sensibles. Para lograr una mayor sensibilidad y especificidad, deben ser realizados estudios posteriores con el fin de optimizar los procedimientos, desde la fijación del material biológico, hasta la realización de coloraciones especiales.

#### REFERENCIAS

1. Fuentes Z, Garrido L. Tuberculosis pleural: estudio epidemiológico, clínico y radiológico de 109 casos. *Bol SVM*. 2000;20(2):108-112
2. Kirsch CM, Kroe M, Jensen WA, Kagawa FT, Wehner JH, Campagna AC. A modified Abrams needle biopsy technique. *CHEST*. 1995;108:982-986.
3. Truant JP, Brett WA, Thomas WJ. Fluorescence microscopy of tubercle bacilli stained with auramine and rhodamine, Henry Ford Hospital Med Bull. 1962;10:287-296.
4. Medina-Pérez M, García Lozano A, García Iglesias MM. Los bacilos tuberculosos también se tiñen con la plata metenamina de Grocott en secciones tisulares. *Rev Esp Pathol*. 1999;32:107-109.
5. Cedeño R, Maneiro E, Orellana Y, Beitiza A, Guevara A. Detección de bacilos ácidos resistentes en muestras de esputo por el método de concentración con hipoclorito de sodio. *Rev Fac Farm*. 2004;46(2):8-11.
6. Dorronsoro I, Torroba L. Microbiología de la tuberculosis. *Anales Navarra*. 2007;30(Supl 7) Barrón H, Monteghirfo M, Rivera N: Diagnóstico molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en biopsias pleurales embebidas en parafina. *Ann Fac Med Univ Nac Mayor San Marcos* 2006;67:11-18
7. Salian NV, Rish J, Eisenach KD, Cave D, Bates J. Polymerase chain reaction to detect mycobacterium tuberculosis in histologic specimens, *Am J Respir Crit Med*. 1998;158:1150-1155.
8. Wiley BL, Mulhollan TJ, Beck B, Tyndall JA, Freeman RG. Polyclonal antibodies raised against *Bacillus Calmette-Guerin*, *Mycobacterium duvalli* and *Mycobacterium paratuberculosis* used to detect mycobacteria in tissue with the use of immunohistochemical techniques. *Am J Clin Pathol*. 1990;94:307-312.
9. Rodríguez BP, Rivera PZ, Suárez BL, Correa MF, Rabucha A, Suárez C, et al. Tuberculosis pleural: utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa. *Gac Méd Caracas*. 2010;118:231-242.
10. Coloración de Ziehl-Neelsen por microondas. Capítulo II Coloraciones para identificar microorganismos. En: Compendio de coloraciones histológicas. Eds. Dra. Claudia Blandenier de Suárez; Lic. Enrique Montenegro Yáñez. BOD universal. Caracas. 2004.p.249.
11. Truant JP. Truant's fluorescent method for acid Fast organisms. *Henry Ford Hospital Med. Bull*. 1962;10:287.
12. Kirsch C M, Kroc M, Azzi RI, Jensen W, Kagawa FT, Wehner JH. The optimal number of pleural biopsy specimens for a diagnosis of tuberculous pleurisy. *CHEST*. 1997;112:702-706.
13. Chakrabarti B, Ryland I, Sheard J, Warburton CJ, Earis JE. The role of Abrams percutaneous pleural biopsy in the investigation of exudative pleural effusions. *CHEST*. 2006;129:1549-1555.
14. Valdés L, Pose A, San José E, Martínez Vásquez JM. Tuberculous pleural effusions. *Eur J Intern Med*. 2003;14:77-88.
15. Khan I, Jadoon H, Zaman M, Ahmed A. Yield of Abram needle pleural biopsy in exudative pleural effusión. *J Ayub Med Coll Abbo*. 2000;21(1):116-118.

16. Mungall F, Cowen PN, Cooke NT, Roach TC, Cooke NJ. Multiple pleural biopsies with the Abrams needle. *Thorax*. 1980;35:600-602.
17. Pandit S, Datta CH, Bhuniya S, Datta SBS, Dey A, Bhanja P. Role of pleural biopsy in etiological diagnosis of pleural effusion. *Lung India*. 2010;27:202-204.
18. Alonso MJ, Corcubra M, Roldán A, Picazo A, Gómez F. Modificación de la técnica de Ziehl-Neelsen para la detección de microbacterias con la utilización de microondas. *Patología*. 1996;29:33-35.
19. Ulrichs T, Lefmann M, Reich M, Morawietz L, Roth A, Brinkmann V, et al. Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl-Neelsen-negative *Mycobacterium tuberculosis* organisms and their precise localization in human tissue. *J Pathol*. 2005;205(5):633-640.
20. Molleja A, Esteban J, Soriano F. ¿Está perdiendo especificidad la tinción ácido-alcohol resistente en el diagnóstico de la tuberculosis? *Infecc Microbiol Clin*. 1997;15(10):68-69.
21. Barron H, Monteghirfo M, Rivera N. Diagnóstico molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en biopsias pleurales embebidas en parafina. *An Fac Med Lima*. 2006;67(1):11-18.
22. De Waard J, Jaime Robledo. Conventional Diagnostic Methods. En: Palomino JC, Leão S, Ritacco V, editores. *Tuberculosis 2007*. Brazil; 2007.p.401-424.
23. Ledermann W. Franceses y alemanes tras la etiología de la tuberculosis. *Rev Chil Infect*. 1994;11:239-242.
24. Ledermann W. En los 500 años del descubrimiento: colonos y pinzones de la microbiología. *Rev Chil Infect Edición aniversario 2003*; 18-20
25. Lederman W. La tuberculosis antes del descubrimiento de Koch. *Rev Chil Infect* 1996; 13:239-241
26. Biot C. Nouvelle methode de coloration intensive des bacilles de Koch. *CIR. Assoc. Anatomistes. Congres de Lyon, 1901*. p 234-237.
27. Lartigue DJ, Fite GL. The chemistry of the acid-fast reaction. *J Histochem Cytochem*. 1962;10:611-618.
28. Walshe DP, Douglas IG, Kerr KM, Mckean ME, Godden DJ. An audit of the clinical investigation of pleural effusion. *Thorax*. 1992;47:734-737.
29. Navarro-Reynoso A, Hernández-Solís A, Pérez-Romo R, Cicero-Sabido. Costo-efectividad de los métodos de diagnóstico de la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*. 2006;19(3):3-7.

---

Gac Méd Caracas 2011;119(4):309-314

## Mortalidad neonatal: enfrentando el futuro

Drs. Pedro Faneite, Clara Rivera, Josmery Faneite, Rosanna Amato

Departamento de Obstetricia y Ginecología. Departamento Clínico Integral de la Costa, Universidad de Carabobo. Hospital "Dr. Adolfo Prince Lara", Puerto Cabello, Estado Carabobo, Venezuela

e-mail: faneitep@cantv.net

### RESUMEN

*El objetivo fue estudiar la mortalidad neonatal de los años 2005 a 2008, conocer su ocurrencia, determinar características maternas, condiciones obstétricas y factores relacionados.*

*Es un estudio observacional analítico de 164 neonatos. Para el lapso hubo 10 180 recién nacidos vivos en el*

*Departamento de Obstetricia y Ginecología. Departamento Clínico Integral de la Costa, Universidad de Carabobo. Hospital "Dr. Adolfo Prince Lara", Puerto Cabello, Estado Carabobo.*

*La mortalidad neonatal fue 16,11 por mil recién nacidos vivos o una muerte cada 62 nacidos vivos. Hubo predominio*