

## MODIFICACION A LA TECNICA DE ZIEHL-NEELSEN EN LAS BACILOSCOPIAS DE LOS ENFERMOS DE LEPROA TRATADOS CON SULFONAS

DR. FELIX F. WILKINSON

*Centro de Leprología (Prof. Dr. G. Basombrio)  
Facultad de Ciencias Médicas, Buenos Aires*

Freire y Ramos, de Minas Gerais (1), demuestran la acción reductora del metanalsulfoxilato de sodio y las sulfonas sobre la fucsina con la que forman una leucofucsina inestable pues puede readquirir su color con la temperatura o con el agua oxigenada. La coloración de Ziehl-Neelsen en los enfermos tratados con las sulfonas o con la rongalita ocultaría la realidad de la presencia de los germenos ya que la formación de la leucofucsina impediría ponerlos de manifiesto.

Hemos repetido las experiencias "in vitro" llegando a las mismas conclusiones. Basados en estos trabajos y con el fin de encontrar la forma de demostrar, de una manera práctica estos hechos, realizamos la experiencia que sigue.

### TECNICA

Tomamos extendidos de escarificaciones practicadas en la piel de 100 casos de enfermos de lepra, casi todos con forma lepromatosa, que han hecho distintos tratamientos:

Promanida solamente .....	63 casos
Diasona solamente .....	13 casos
Sulphetrone solamente .....	2 casos
Diversas sulfonas en forma alternada y también rongalita	10 casos
Chaulmoogra .....	4 casos
Sin tratamiento .....	8 casos

Los "frottis" son hechos de la misma escarificación y se pueden tomar en distintos portaobjetos o bien utilizar uno solamente, que es lo más práctico, colocando un extendido en cada extremo, numerándolos el de la izquierda con el No. 1, y el de la derecha con el No. 2.

En el "frottis" No. 1, previamente fijado al calor, se le coloca agua oxigenada a 12 volúmenes hasta cubrirlo totalmente, se deja actuar 5 minutos. Este paso se hace con el fin de restituir el oxígeno sustraído por la acción reductora de las sulfonas y de la rongalita. Sobre el "frottis" No. 2, también fijado al calor, no se hace actuar el agua oxigenada sirviendo de testigo. Se lava abundantemente con agua teniendo la precaución de que

no quede agua oxigenada, pues ésta sobre el Ziehl entorpece la coloración.

Luego se procede a colorear siguiendo la técnica de Ziehl-Neelsen clásica, suprimiendo solamente el calentamiento y en su reemplazo se hace actuar la fucsina 5 minutos. La coloración de contraste con el azul de metileno no es bien tomada por el extendido No. 1 donde actúa el agua oxigenada, lo cual no es inconveniente para controlar los frottis.

Una vez coloreados con ésta técnica se los examina con el objetivo de inmersión, contando los campos de cada extendido en número de 50. Se anotan en forma de quebrado, colocando como numerador el número de campos positivos y como denominador el número de campos contados. Ejemplo: frottis No. 1 (oxigenado) 40/50, frottis No. 2 (sin oxigenar) 3/50.

#### RESULTADOS

En los 12 pacientes sin tratamiento, o con tratamiento de chaulmoogra, la cantidad de bacilos encontrados en los frottis No. 1 (oxigenado) y No. 2 (no oxigenado) son prácticamente iguales. Esta circunstancia no se produjo en los preparados obtenidos de pacientes tratados con sulfonas, hecho que sirve para corroborar lo sostenido por Freire y Ramos.

Además no hemos tomado en cuenta los casos con resultado negativo en ambos frottis y que son también 12 casos. Sobre los 76 casos restantes hemos encontrado lo siguiente:

(a) Con mayor número de bacilos en el frottis oxigenado, 52 casos, que representa el 68,4 por ciento.

(b) Con mayor número de bacilos para el frottis no oxigenado, 11 casos, que representa el 14,5 por ciento.

(c) Con resultados iguales en los frottis No. 1 y No. 2, 13 casos, que representa el 17,1 por ciento.

Consideramos también en (a) y (b) a los casos en que pese a encontrar iguales cantidades de campos con bacilos se ven mayor cantidad de bacilos por campo para uno de los frottis.

De los casos en que hay mayor número de bacilos para el frottis oxigenado se encuentran germenés en 7 casos (13,5%) en el extendido oxigenado y no se los encuentra en el otro. Esto es realmente de suma importancia pues coloreando solamente con el Ziehl-Neelsen (sin oxígeno) tendríamos una baciloscopia negativa, cuando en realidad no es tal usando el agua oxigenada previa.

Los resultados han sido analizados con respecto al grado de diferencias entre los dos extendidos, en base a la siguiente graduación:

(a) Con diferencia neta, mayor de 10 campos, es decir: al comparar los dos extendidos se encuentra en uno de ellos de 11 o mas campos de exceso con respecto al otro.

(b) Con pequeña diferencia, menor de 10 campos, vale decir que al comparar los dos extendidos en uno de ellos hay mas bacilos desde 1 a 10 campos mas que en otro.

(c) Con resultados iguales.

Entre todos los casos tratados con sulfonas, con o sin rongalita, incluyendo los 12 casos en los cuales ambos extendidos fueron negativos, los resultados fueron los siguientes:

Con diferencia neta para el frottis No. 1 .....	27 casos
Con diferencia pequeña para el frottis No. 1 .....	20 casos
Con resultados iguales (12 completamente negativos) ....	32 casos
Con diferencia neta para el frottis No. 2 .....	3 casos
Con diferencia pequeña para el frottis No. 2 .....	6 casos

Como la gran mayoría de los casos fueron tratados con promanida, una comparación de los grados de tratamiento realizado no es de utilidad. Un análisis detallado de los resultados con respecto a la cantidad de las drogas que los pacientes han recibido, no revela importancia; por tanto esos datos no han sido incluidos en esta comunicación.

En 5 casos (3 tratados con promanida y 2 con diasona) en los que había igual número de campos con bacilos, en los extendidos tratados con agua oxigenada se encontraba mayor número de bacilos. La situación inversa se encontró en 2 casos (ambos del grupo promanida).

En 7 casos (todos del grupo promanida) en los que había una diferencia, pequeña o grande, a favor del agua oxigenada, los extendidos no tratados no presentaban bacilos.

#### CONCLUSIONES

(a) El uso del agua oxigenada previa permite encontrar mayor cantidad de bacilos en un 68,4 por ciento.

(b) De éstos casos en un 13,5 por ciento se encuentran bacilos solamente con la técnica del agua oxigenada.

(c) La cantidad de sulfonas usada no modifica mayormente los resultados.

De todo ello resulta aconsejable, dado lo simple de su técnica, el procedimiento del agua oxigenada como norma para el estudio baciloscópico en los enfermos tratados con sulfonas y con rongalita, particularmente en los que con la técnica de Ziehl-Neelsen se muestran negativos.

Sería ideal para este tipo de investigación en que la tinción del *Mycobacterium leprae* se ve alterada o puede desvirtuar la realidad de la baciloscopía, encontrar un colorante que tenga suficiente poder oxidante como para evitar la formación de compuestos incoloros, tal como sucede con la fucsina; quizá el permanganato de potasio con un mordiente adecuado fuera el de elección.

## BIBLIOGRAFIA

- FREIRE, S. A. and RAMOS, J. C. P. Produção de leucofucsina no *M. leprae* tratado com bogalita. *Brasil-Med.* **62** (1948) 281-283; *reprinted in* *Arq. mineiros Leprol.* **8** (1948) 291-295.

632

## ABSTRACT

Because it has been reported that treatment of patients with sulfones or rongalite (methanol sulfoxylate of sodium) tends by reduction to affect the staining of bacilli by the Ziehl-Neelsen method, the author has experimented to determine if that condition can be overcome. Smears from 100 patients, mostly lepromatous, who had been treated with one or another of these drugs or with a combination of them, together with a number who had been treated with chaulmoogra or who had had no treatment, were made in duplicate from the same incisions. One of each pair of smears was treated with hydrogen peroxide before staining, while the other received only the usual treatment. Fifty fields were examined and the number of them with bacilli was noted.

In the material from the 12 patients treated with chaulmoogra or without treatment, the numbers of positive fields were practically equal in the two smears, and this group serves as a control for the sulfone-treated one. Another 12 patients were found negative in both smears. Of the remaining 76 cases, more fields were positive in the oxygen-treated smears than in the others in 52 instances (68.4%), no difference was found in 13 instances (17.1%), and the untreated smears had the more positive fields in 11 cases (14.5%). (In arriving at these figures the numbers of bacilli per field were taken into account when the numbers of positive fields were equal.) In 7 of the cases bacilli were found only in the smears that had been treated with oxygen.

Analysis of the results by grading the differences between the two smears gives emphasis to the effects of the oxygen treatment. There was no correlation between the findings and the quantities of the sulfone drugs that the patients had received.

It is concluded that the simple procedure used is desirable for the bacteriological examination of patients treated with these drugs, particularly when they are found negative by the ordinary technique.