

## Evaluación de la microscopía de fluorescencia LED para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar en Cuba

### Evaluation of LED Fluorescence Microscopy for The Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in Cuba

María Rosarys Martínez Romero<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5947-732X>

Nancy Pedrera Pozo<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2314-2912>

Grechen García León<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9593-6711>

Misleidis Sardiñas Aragón<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9798-5031>

Lilian María Mederos Cuervo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7431-2216>

Raúl Díaz Rodríguez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9107-124X>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de Tuberculosis, Lepra y Micobacterias. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Unidad de Higiene y Epidemiología de San Cristóbal. Artemisa, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [rosarys@ipk.sld.cu](mailto:rosarys@ipk.sld.cu)

## RESUMEN

**Introducción:** La microscopía de fluorescencia, utilizando diodos emisores de luz (MF LED), se recomienda por la Organización Mundial de la Salud para el diagnóstico de la tuberculosis desde 2011.

**Objetivo:** Evaluar el rendimiento de la MF LED para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar en el Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis, Lepra y Micobacterias (LNR-TBLM) de Cuba.

**Métodos:** Se realizó la evaluación de la MF LED en esputos de pacientes con sospecha de tuberculosis en el LNRI – TBLM en el período de febrero a julio de 2018. Por la baja prevalencia de la tuberculosis en Cuba se siguió la metodología utilizada por Minion y otros.

**Resultados:** Por la MF LED se identificaron 28/208 (13,5 %) bacilos en frotis de pacientes con sospecha de tuberculosis, 10 más que por la coloración de Zielh Neelsen (18/208). Cinco de los casos positivos por la microscopia fluorescente fueron personas viviendo con VIH/sida y se identificó mayor número de frotis paucibacilares (seis) cuatro de PVVS. La sensibilidad (81,82 %) y el índice de Youden (0,81) fueron superiores a lo obtenido por la coloración de Zielh Neelsen (54,55 y 0,55 %, respectivamente). El área bajo la curva calculada fue mayor para MF LED (0,8966).

**Conclusiones:** Este estudio confirma la mayor sensibilidad de la MF LED. Su introducción en el algoritmo diagnóstico de la tuberculosis permitirá incrementar la detección de casos de tuberculosis pulmonar baciloscopia positiva. Su implementación en laboratorios seleccionados de la red permitirá avanzar hacia la eliminación de la enfermedad en el marco de la Estrategia Mundial de la Eliminación de la tuberculosis para 2035.

**Palabras clave:** microscopía de fluorescencia LED; tuberculosis; baciloscopia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Light-emitting diode fluorescence microscopy (LED FM) has been recommended by the World Health Organization to diagnose tuberculosis since 2011.

**Objective:** To evaluate the performance of LED FM for the diagnosis of pulmonary tuberculosis at the National Reference Laboratory for Tuberculosis, Leprosy, and Mycobacteria (NRL-TBLM) in Cuba.

**Methods:** LED FM evaluation was conducted on sputum samples from patients with suspected tuberculosis at the NRL-TBLM from February to July 2018. Due to the low prevalence of tuberculosis in Cuba, it was followed the methodology used by Minion and others.

**Results:** LED FM identified 28/208 (13.5%) bacilli in smears from patients with suspected tuberculosis, 10 more than Zielh Neelsen staining (18/208). Five of the positive cases identified by fluorescent microscopy were people living with HIV/AIDS, and a higher number of paucibacillary smears (six) were identified, four of which were from people living with HIV/AIDS. Sensitivity (81.82%) and Youden index (0.81) were higher than those obtained by Zielh Neelsen staining (54.55% and 0.55%, respectively). The calculated area under the curve was higher for LED FM (0.8966).

**Conclusions:** This study confirms that LED FM has higher sensitivity. Its inclusion in the tuberculosis diagnostic algorithm will increase the detection of cases of smear-positive pulmonary tuberculosis. Its implementation in selected laboratories within the network will contribute to progress towards the elimination of the disease within the framework of the Global Tuberculosis Elimination Strategy by 2035.

**Keywords:** LED fluorescence microscopy; tuberculosis; bacilloscopy.

Recibido: 05/12/2022

Aceptado: 06/10/2023

## Introducción

Hasta la pandemia del coronavirus (COVID-19), la tuberculosis (TB) era la principal causa de muerte de un solo agente infeccioso, y se situaba por encima del VIH/sida. Cerca de la cuarta parte de la población mundial está infectada por este agente patógeno.<sup>(1)</sup>

La principal limitación de los programas de control de la TB es la dificultad para realizar el diagnóstico temprano de la enfermedad. La baciloscopia (BK) se utiliza como método inicial en la mayoría de los países en vías de desarrollo para el diagnóstico de la TB, por su simplicidad, rapidez de procesamiento y bajo costo. Sin embargo, su sensibilidad es menor que la del cultivo bacteriológico lo que limita la utilidad de esta técnica, sobre todo, en muestras de esputo con escasos bacilos.<sup>(2)</sup>

El diagnóstico definitivo de la TB es por cultivo; aunque es la prueba de oro, demora entre 30 a 60 días. Por lo que se han desarrollado y evaluado nuevas metodologías para superar las limitaciones de estos métodos diagnósticos.<sup>(3)</sup>

La microscopía de fluorescencia utilizando diodos emisores de luz (MF LED (*Light-Emitting Diode*), por sus siglas en inglés) se desarrolló principalmente para brindar a los países con recursos limitados acceso a los beneficios de microscopía de fluorescencia.<sup>(4,5)</sup>

Esta técnica ha sido evaluada en múltiples estudios a nivel mundial y el buen desempeño de esta tecnología llevó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a recomendar su uso como una alternativa para la microscopía convencional con la coloración de Zielh Neelsen (ZN) en laboratorios de alto y bajo volumen de procesamiento de muestras y que esta debe sustituirse de manera escalonada.<sup>(5,6)</sup>

En Cuba el Programa Nacional de Control y Eliminación de la TB (PNCET), en conjunto con el Ministerio de Salud Pública, cuenta con Plan Estratégico Nacional basado en la Iniciativa Mundial de Fin de la TB donde se establecen objetivos, metas, estrategias y prioridades para alcanzar este hito. Uno de los objetivos es la implementación de técnicas que mejoren la sensibilidad y la rapidez de la detección de casos de TB.<sup>(7)</sup>

El diagnóstico convencional de la TB en Cuba realiza con la BK de ZN y el cultivo bacteriológico. Desde el año 2014 se dispone del diagnóstico rápido de la TB por GeneXpert en el Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis, Lepra y Micobacterias (LNRI – TBLM) del Instituto Pedro Kourí (IPK). Sin embargo, esta prueba solo está indicada en grupos vulnerables en la mayoría de los países de la región, incluyendo nuestro país. De los casos notificados (290 000) en Las Américas en 2019, solo el 25 % tuvo acceso al diagnóstico molecular (Xpert MTB RIF)<sup>(8)</sup> y en Cuba de los 580 notificados en el mismo año, solo el 22 %.<sup>(9)</sup> En este sentido se hace necesario incorporar otras técnicas, recomendadas por la OMS, para mejorar la detección de casos, como la MF LED.

Esta técnica se introduce por primera vez en Cuba en 2018 y se realiza un estudio previo de validación de esta metodología, en el mismo año, por Martínez y otros en el LNRI-TBLM del Instituto Pedro Kourí (IPK). En esta investigación se confirma la mayor sensibilidad de la MF LED, al identificar un mayor número de láminas positivas con escasos BAAR que la técnica de ZN.<sup>(2)</sup> En este sentido se decide realizar esta investigación en el mismo laboratorio con el objetivo de evaluar el rendimiento de la MF LED en muestras de esputo para el diagnóstico de la TB pulmonar, en condiciones programáticas de rutina, y conocer la factibilidad de su implementación futura en algunos laboratorios de la red seleccionados del país.

## Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo de corte transversal. El universo estuvo constituido por todas las muestras de esputo de pacientes con síntomas respiratorios por más de 21 días y con sospecha de TB pulmonar (n = 549), que se recibieron en el LNRI-TBLM del IPK, La Habana, Cuba, en el período comprendido de febrero a julio del 2018.

Se incluyeron en la investigación todos los esputos mucosos o mucopurulentos con un volumen de 2-5 ml, que estuvieron adecuadamente identificados y a las que se les realizó el cultivo bacteriológico. Se excluyeron los esputos derramados. La

muestra final a estudiar quedó conformada por 208 muestras. Por ser Cuba un país de baja incidencia de TB se siguió la metodología seguida por Minion y otros.<sup>(10)</sup>

A todas las muestras de esputo se les realizó cultivo y frotis para la tinción con ZN y auramina O (fluorescente) según las normas internacionales.<sup>(11)</sup> Los frotis coloreados se observaron bajo microscopio AxioStar plus y PrimoStar plus, respectivamente (ambos de Carl Zeiss, Alemania). Para la lectura de las láminas teñidas con el reactivo fluorescente se colocó en el microscopio un adaptador ParaLens (QBC Diagnostics, EE. UU.)

Se siguieron los procedimientos normados de operación del LNRI-TBLM y PNCET para el procesamiento de las muestras de esputo, el cultivo bacteriológico, la lectura y la identificación en especies.<sup>(12)</sup>

Para evaluar el rendimiento de la MF LED en relación a la coloración de ZN se guardaron los frotis en una caja para láminas en un lugar fresco y al abrigo de la luz y se esperó el resultado del cultivo bacteriológico. Se realizó la comparación de los resultados.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa EpiDAT, versión 3.1, en función de calcular los indicadores de desempeño de la MF LED y la coloración de ZN (la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo, el valor predictivo negativo, el índice de validez y el índice de Youden), para este análisis se excluyeron los cultivos contaminados. Se utilizó el cultivo bacteriológico como prueba de referencia.

Se realizó el análisis de las curvas de *Receiver Operating Characteristic* (ROC, por sus siglas en inglés), donde se calculó el área bajo la curva (ABC) de la MF LED y la coloración de ZN, utilizando el mismo programa estadístico y se compararon los resultados obtenidos. También se estimó el nivel de concordancia entre las dos técnicas de microscopias por medio del cálculo del índice de kappa (IK), según lo recomendado por Landis y Koch.<sup>(13)</sup>

## Aspectos éticos

Por el tipo de estudio que se realizó no se requirió de consentimiento informado de los pacientes involucrados en esta investigación. El trabajo se llevó a cabo en cabinas de bioseguridad clase II, según las normas y procedimientos del laboratorio para el trabajo con micobacterias. Los nombres de los pacientes involucrados se mantuvieron de manera confidencial. No hubo conflicto de intereses entre los autores. Este estudio se evaluó y aprobó por la Comisión Científica Especializada de Microbiología y el Comité de Ética de Investigación-IPK (Código de aprobación: CEI-IPK 42-18) (Código de aprobación: CEI-IPK 02-22).

## Resultados

En la tabla 1 se muestran los resultados de la comparación de las dos técnicas de microscopía utilizadas en este estudio. Por la MF LED se identificaron 28 (13,5%) frotis positivos, diez más que los identificados por la coloración de ZN (18 para un 8,6 %), además se pudo identificar con la técnica fluorescente un mayor número de frotis paucibacilares (diez), seis más, comparado con los detectados por la microscopía convencional de ZN (cuatro).

**Tabla 1** - Comparación de los resultados de la microscopia de fluorescencia y la microscopia con la coloración de Zielh Neelsen

Microscopía	Frotis negativos	Frotis positivos					Total frotis
		Pauci bacilares	+	+	+++	Total positivos	
Microscopia con coloración de Zielh Neelsen	190 (91,4 %)	4	3	2	9	18 (8,6 %)	208
Microscopía de fluorescencia	180 (86,5 %)	10	4	2	12	28 (13,5 %)	208

Fuente: Elaboración propia.

Por la MF LED se informaron diez casos con frotis negativos a bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) menos, que los identificados por la por la BK convencional (coloración de ZN), de los cuales, cinco pertenecieron a personas viviendo con VIH/sida (PVVS). Dentro de los casos positivos, en la categoría de paucibacilares, de los diez frotis detectados con BAAR por la coloración fluorescente, seis (cuatro pertenecientes a PVVS) no se identificaron por la coloración de ZN.

La concordancia estimada entre los dos tipos de microscopia utilizada en el estudio (calculando el IK) fue de 0,7570. Basado en la clasificación de Landis y Koch, que considera seis categorías: muy buena, buena, moderada, aceptable, baja y sin acuerdo, esta se consideró buena porque estuvo entre los valores de 0,61-0,80.

La proporción de verdaderos positivos a bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) por MF LED y coloración de ZN fue de 13,043 % y 8,696 %, respectivamente, pero al comparar estas proporciones no existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,2065$ ) entre la proporción de láminas positivas observadas con la MF LED y las observadas con la coloración de ZN.

En la tabla 2 se muestran los resultados de indicadores de desempeño de las dos técnicas de microscopia. La sensibilidad de la MF LED fue 81,82 %, superior a la

calculada para la coloración de ZN (54,55 %). Los valores de los parámetros de la especificidad, el valor predictivo positivo, el valor predictivo negativo y el índice de validez de la MF LED y la microscopia con la coloración de ZN tuvieron valores similares. Sin embargo, al calcular el índice de Youden para la MF LED el valor obtenido fue cercano a uno (0,81), por encima del obtenido con la coloración de ZN (0,55).

**Tabla 2** - Comparación de los Indicadores de desempeño de la microscopia de fluorescencia LED y la microscopia con la coloración de Zielh Neelsen

Indicadores de desempeño	Microscopía de fluorescencia LED	Microscopía con coloración de Zielh Neelsen
Sensibilidad	81,82 %	54,55 %
Especificidad	99,43 %	100,00 %
Valor predictivo positivo	96,43 %	100,00 %
Valor predictivo negativo	96,65 %	92,06 %
Índice de validez	96,62 %	92,75 %
Índice Youden	0,81	0,55

*Fuente:* Elaboración propia.

Al analizar la curva de ROC, el ABC calculado para ambas técnicas de microscopia estuvo entre 0,5 y 1. El valor de ABC fue de 0,8966, con un intervalo de confianza (IC) de 0,8250-0,9681 para la MF LED, mayor que el ABC calculado para la coloración de ZN, que fue de 0,7903 (IC: 0,7020-0,8786). Pero esta diferencia no resultó estadísticamente significativa (valor de  $p = 0,0669$ ).

## Discusión

La MF LED es una de las técnicas de BK evaluada y recomendada por la OMS desde el 2011 para el diagnóstico de la TB. Puede detectar aproximadamente un 5-10 % más de frotis positivos para BAAR, comparado con la coloración de ZN. También el mayor contraste de la fluorescencia de los bacilos permite detectar los mismos con un aumento mucho menor (200X o 400x) y en menos tiempo.<sup>(14,15)</sup>

Estudios de evaluación reportan que la MF LED, utilizando el adaptador ParaLens QBC, es potencialmente más sensible y menos laboriosa que la coloración de ZN. La ventaja de utilizar el ParaLens QBC radica en que se evitaría la compra de un segundo microscopio, ya que el adaptador convierte el microscopio de luz brillante en uno de fluorescencia LED, lo que disminuye los costos.<sup>(16)</sup>

Por otro lado, los microscopios LED tienen beneficios operativos relacionados con su uso en los laboratorios, pues podría mejorar significativamente el flujo de trabajo y maximizar la utilización del espacio, además de los beneficios observados en los climas tropicales relacionados con a la ausencia de climatización en espacios cerrados.<sup>(10)</sup>

En este estudio se incrementó la tasa de detección de BAAR utilizando la MF LED. Similar hallazgo lo publicaron Goel y otros en un estudio conducido en la India. Estos hallazgos confirman que la MF LED puede utilizarse para aumentar la sensibilidad y tasa de detección de casos de TB. Sin embargo, es importante tener en cuenta la capacitación del personal, así como la infraestructura del laboratorio.<sup>(15)</sup>

Otro hallazgo importante fue la detección de más frotis con escasos BAAR (paucibacilares) con la MF LED, en comparación con la coloración de ZN. Estos resultados son similares a lo que reportan otros autores, quienes concluyen que la microscopía fluorescente es más efectiva para la detección de BAAR en muestras paucibacilares y positivas a una 1+, que la coloración de ZN.<sup>(15,17,18,19)</sup>

El ácido micólico presente en la pared de las micobacterias tiene la capacidad de absorber mejor la auramina (colorante utilizado en MF LED) que el carbol fuschina (utilizado en la coloración de ZN); lo cual facilita la coloración de un mayor número

de bacilos y facilita su rápida identificación en la lámina; estos atributos influyen en que la MF LED sea más sensible que la BK convencional.<sup>(15,17,18,19)</sup>

La sensibilidad de la MF LED que se obtuvo en este estudio (81,82 %) fue superior a la obtenida por Gelalcha y otros en un estudio conducido en un hospital de Etiopía (77,8 %) en 2015.<sup>(20)</sup> Esta diferencia pudo estar dada en que Etiopía es un país de alta carga de TB y TB/VIH y la BK en este grupo poblacional suele ser negativa sobre todo en estadios avanzados de la enfermedad. También pudo haber influido el número de muestras en estudiadas (362 esputos), la metodología utilizada, diferencias en el procedimiento o tipo de adaptador utilizado.<sup>(21)</sup>

Varias investigaciones muestran que la MF LED tiene un 10 % más de sensibilidad comparado con la coloración de ZN.<sup>(22,23)</sup> Sin embargo, Chang y otros en un meta análisis realizado en 2014 informaron una sensibilidad agrupada del 66,9 % para MF LED. Los autores mostraron que la sensibilidad para esta herramienta varía de 40 a 83 %, mientras que la especificidad tuvo valores entre 82 y 100 %, lo que muestra un alto nivel de heterogeneidad entre los estudios analizados.<sup>(24)</sup>

En este estudio, el ABC calculado fue mayor para MF LED (con valores cercanos a 1), comparada con la coloración de ZN; lo que significa que existe un 89 % de probabilidad de que el diagnóstico realizado a un enfermo de TB sea el más correcto que el de una persona sana escogida al azar, lo que sugiere que esta técnica tiene mayor capacidad discriminativa para la detección de BAAR que la coloración de ZN convencional.<sup>(25)</sup> En la bibliografía consultada no se encontraron estudios similares donde se analice la curva de ROC.

Este estudio confirma que la MF LED es una herramienta más sensible para la identificación de BAAR en comparación con la coloración de ZN. La introducción de esta tecnología en el algoritmo diagnóstico de la TB permitirá incrementar la detección de casos de TB pulmonar BK (+). Su implementación de forma gradual en laboratorios seleccionados de la red, permitirá avanzar hacia la eliminación de la enfermedad, en el marco de la Estrategia Mundial de la Eliminación de la TB para 2035.

La principal limitación del estudio constituye que en este período no se pudo evaluar el rendimiento de esta herramienta en personas viviendo con VIH por el pequeño número de casos incluidos en la investigación.

## Referencias bibliográficas

1. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports>
2. Martínez-Romero MR, Pedrera-Pozo N, García-León GC, Sardiñas-Aragón M, Mederos-Cuervo LM, Díaz-Rodríguez R. Validación de la microscopía de fluorescencia LED para el diagnóstico de tuberculosis en Cuba. Rev. CENIC Cienc. Biol. 2021;52(3):259-66. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2221-24502021000300259&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24502021000300259&lng=es)
3. Vallego VP, Rodríguez JC, Searle MA, Farga CV. Ensayo Xpert/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. Rev Chil Enferm Respir 2015;31(2):127-31. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482015000200010>
4. Imaz M, Allassia S, Aranibar M, Gunia A, Poggi S, Togneri A. Performance of LED fluorescence microscopy for the detection of acid-fast bacilli from respiratory samples in peripheral laboratories in Argentina. Biomedica 2017;37(2):164-74. DOI: <https://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v37i2.3276>
5. Goel S, Pandey R, Kumar M, Kankaria A, Khaneja, R. Impact of introducing light-emitting diode fluorescence microscopy services for diagnosis of pulmonary tuberculosis under Revised National Tuberculosis Control Program India. Lung India 2018;35:307-11. DOI: [https://doi.org/10.4103%2Flungindia.lungindia\\_475\\_17](https://doi.org/10.4103%2Flungindia.lungindia_475_17)
6. World Health Organization. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis. Policy statement 2011. Geneva, Switzerland.

- WHO/HTM/TB/2011.8. Disponible en:  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/44602>
7. Díaz-Rodríguez R, Lemus-Molina D, Martínez-Romero MR. La tuberculosis en Cuba en tiempos de COVID-19: ¿retroceso en su plan de eliminación? Rev Cubana Med Trop. 2020;72(3):e585. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602020000300014&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602020000300014&lng=es)
8. Tuberculosis en las Américas. Informe regional 2020. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2021. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. DOI:  
<https://doi.org/10.37774/9789275324479>
9. OMS. Perfil de tuberculosis: Cuba, 2020. Disponible en:  
[https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb\\_profiles/?\\_inputs\\_&entity\\_type=%22country%22&lan=%22ES%22&iso2=%22CU%22](https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&entity_type=%22country%22&lan=%22ES%22&iso2=%22CU%22)
10. Minion J, Pai M, Ramsay A, Menzies D, Greenaway C. Comparison of LED and conventional fluorescence microscopy for detection of acid-fast bacilli in a low-incidence setting. PLoS ONE. 2011;6(7). Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21811622>
11. ORAS – CONHU. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte 1: Manual de actualización de la baciloscopia, Lima, Perú. 2018. Disponible en:  
<https://www.paho.org/es/documentos/manual-para-diagnostico-bacteriologico-tuberculosis-parte-1-manual-actualizacion>
12. Ministerio de Salud Pública. Resolución Ministerial 277/2014. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de normas y procedimientos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas. 2015. Disponible en:  
[https://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/programa\\_2015.pdf](https://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/tuberculosis/programa_2015.pdf)
13. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 1977;33(1):159-74.
14. Marzouk M, Ferjani A, Dhaou M, Ali MH, Hannachi N, Boukadida J. Comparison of LED and conventional fluorescence microscopy for detection of acid-fast bacilli

in an area with high tuberculosis incidence. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76(3):306-8. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.03.023>

15. Goel S, Pandey R, Kumar M, Kankaria A, Khaneja, R. Impact of introducing light-emitting diode fluorescence microscopy services for diagnosis of pulmonary tuberculosis under Revised National Tuberculosis Control Program India. *Lung India.* 2018;35:307-11. [https://doi.org/10.4103%2Flungindia.lungindia\\_475\\_17](https://doi.org/10.4103%2Flungindia.lungindia_475_17)

16. Kuhn W, Armstrong D, Atteberry S, Dewbrey E, Smith D, Hooper N. Usefulness of the Paralens™ fluorescent microscope adaptor for the identification of mycobacteria in both field and laboratory settings. *Open Microbiol J.* 2010;4:30-3. DOI: <https://doi.org/10.2174%2F1874285801004010030>

17. Chaidir L, Parwati I, Annisa J, Muhsinin S, Meilana I, Alisjahbana B, *et al.* Implementation of LED fluorescence microscopy for diagnosis of pulmonary and HIV-associated tuberculosis in a hospital setting in Indonesia. *PLoS One.* 2013;8(4):e61727. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061727>

18. Xia H, Song YY, Zhao B, Kam K-M, O'Brien RJ, Zhang Z, *et al.* Multicentre evaluation of Ziehl-Neelsen and lightemitting diode fluorescence microscopy in China. *Int J Tuber Lung Dis.* 2013;17:107-12. DOI: <https://dx.doi.org/10.5588/ijtld.12.0184>

19. Reza LW, Satyanarayna S, Enarson DA, Kumar AMV, Sagili K, Kumar S, *et al.* LED-Fluorescence microscopy for diagnosis of pulmonary tuberculosis under programmatic conditions in India. *PLoS ONE.* 2013;8:e75566. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075566>

20. Gelalcha AG, Kebede A, Hassen Mamo H. Light-emitting diode fluorescent microscopy and Xpert MTB/RIF® assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis among patients attending Ambo hospital, west central Ethiopia. *BMC Infect Dis.* 2017;17:613. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2701-5>

21. Ngabonziza SCJ, Ssengooba W, Mutua F, Torrea G, Dushime A, Gasana M, *et al.* Diagnostic performance of smear microscopy and incremental yield of Xpert in detection of pulmonary tuberculosis in Rwanda. *BMC Infect Dis.* 2016;16(1):660. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-2009-x>

22. Steingart KR, Henry M, Ng V, Hopewell PC, Ramsay A, Cunningham J, *et al.* Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(9):570-81. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(06\)70578-3](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(06)70578-3)
23. Shenai S, Minion J, Vadwai V, Tipnis T, Shetty S, Salvi A, *et al.* Evaluation of light emitting diode-based fluorescence microscopy for the detection of mycobacteria in a tuberculosis-endemic region. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2011;15(4):483-8. DOI: <https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0229>
24. Chang WE, Page AL, Bonnet M. Light-emitting diode fluorescence microscopy for tuberculosis diagnosis: a meta-analysis. *Eur Respir J.* 2016;47(3):929-37. DOI: <https://doi.org/10.1183/13993003.00978-2015>
25. Cerda J, Cifuentes L. Uso de curvas ROC en investigación clínica. *Rev Chil Infect.* 2012;29(2):138-41. DOI: <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182012000200003>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

*Conceptualización:* María Rosarys Martínez Romero, Nancy Pedrera Pozo.

*Curación de datos:* María Rosarys Martínez Romero, Nancy Pedrera Pozo.

*Análisis formal:* María Rosarys Martínez Romero, Nancy Pedrera Pozo.

*Metodología:* María Rosarys Martínez Romero, Nancy Pedrera Pozo, Grechen Caridad García León, Misleidis Sardiñas Aragón, Lilian María Mederos Cuervo.

*Redacción – borrador original:* María Rosarys Martínez Romero, Nancy Pedrera Pozo, Grechen Caridad García León, Misleidis Sardiñas Aragón, Lilian María Mederos Cuervo, Raúl Díaz Rodríguez.

*Redacción revisión – edición:* María Rosarys Martínez Romero, Nancy Pedrera Pozo, Grechen Caridad García León, Misleidis Sardiñas Aragón, Lilian María Mederos Cuervo, Raúl Díaz Rodríguez.