

III CONGRESO DE TECNOLOGÍA DE LA SALUD

COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL CULTIVO UTILIZANDO DOS MÉTODOS DE DECONTAMINACIÓN DE ESPUTO BAAR, EN EL LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA DE TUBERCULOSIS, IPK

Grechen García León, Misleidis Sardiña Aragón*, María Rosarys Martínez Romero*, Lilian Mederos Cuervo*, Raúl Díaz*.*

*Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias. Centro Colaborador OPS/OMS. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK). La Habana, Cuba.
grechengl@ipk.sld.cu

RESUMEN

En los últimos años se han desarrollado numerosos métodos de descontaminación y homogenización del esputo para el aislamiento de micobacterias. El objetivo del estudio fue comparar los resultados del cultivo utilizando dos métodos de descontaminación de muestras pulmonares. Se procesaron 2584 muestras de esputo, se utilizaron dos métodos de descontaminación: el método de precipitación lenta (MPL) de Valdivia y el de Petroff. Por el método de precipitación lenta se procesaron 1339 (51.81%), de ellas 89 (6.6%) resultaron positivas. Por el método de Petroff se procesaron 1245 (41.18 %), donde 46 (3.7%) resultaron positivas. El porcentaje de contaminación en ambos métodos fue menor del 3% establecido por las normas internacionales, siendo más bajo con el método de precipitación lenta, que resultó más eficaz en cuanto a productividad del cultivo.

Palabras claves: descontaminación, homogenización, esputo, micobacterias, contaminación.

ABSTRACT

In recent years there have been numerous methods of decontamination and homogenization of sputum for isolation of mycobacteria. The objective was to compare a simpler pretreatment method, less expensive and minus risk to the handler but with equal or greater productivity and low pollution index Petroff method that usually employed. Were processed 2584 samples using two decontamination methods: slow precipitation method of Valdivia and Petroff Method. Of 2584 sputum samples, 1339 were processed by slow precipitation method of Valdivia, of this 89 (6.6%) were positive. With the Petroff method were processed 1245(41.18%), by this method 46 (3.7%) were positive. The percentage of contamination in both methods was less than 3 %, according to the international standards being lower in the slow precipitation method of Valdivia and more effective in terms of culture productivity.

Key Words: mycobacteria, sputum, decontamination, contaminated, homogenization.

INTRODUCCION

En las últimas décadas, ha tenido lugar en el mundo la emergencia o reemergencia de eventos epidemiológicos, entre ellos el incremento de la tuberculosis (TB), que ha vuelto a surgir como problema sanitario de primera magnitud, tanto en los países en vías de desarrollo, como en los desarrollados. La tuberculosis (TB) es una enfermedad de importancia mundial. Se estima que un tercio de la población del planeta se encuentra infectado por *Mycobacterium tuberculosis* y que cada año se registran nueve millones de casos nuevos.¹

Mycobacterium tuberculosis es responsable de infecciones con una elevada morbi- mortalidad. A pesar de los avances en las ciencias médicas, TB continúa siendo un problema de salud a escala mundial. El diagnóstico de esta infección de forma rápida y efectiva es fundamental para proveer una adecuada terapia antimicrobiana e implementar un control efectivo de la enfermedad, prevenir la diseminación en la comunidad y realizar intervenciones de salud.^{2,3}

El cultivo representa un paso decisivo para el diagnóstico, tratamiento y control de la TB, es el método más sensible y específico para detectar *Mycobacterium tuberculosis*. Para el diagnóstico del género *Mycobacterium* se han desarrollado numerosos métodos de decontaminación y homogenización del esputo para lograr el mejor aislamiento de micobacterias como son; el método de Petroff, método lento de agitación y precipitación y otros, en virtud de encontrar mejores resultados de positividad al examen de cultivo que debido a su mayor sensibilidad, permite incrementar la localización de casos cuando el examen directo es negativo, siendo este la prueba de oro para el diagnóstico definitivo.⁴⁻⁶

En 1976 se desarrolló por Valdivia y colaboradores un método lento de agitación y precipitación que presenta las siguientes características: no se utiliza centrifugación, obvia el paso de neutralización. En los laboratorios base de nuestra red de servicios, los métodos más utilizados son el método de Petroff, Petroff Modificado, método de Precipitación, y otros recomendados en la literatura, estos métodos tienen reconocidas ventajas en los laboratorios de Micobacteriología.⁴⁻⁶

Nuestro trabajo tiene como objetivo utilizar el método de precipitación y agitación lento descrito por Valdivia JA, método simple, menos costoso, y de bajo riesgo para el manipulador, y que posea igual productividad, así como bajo índice de contaminación que el método de Petroff usualmente empleado, para en el caso que tengamos problemas técnicos en el laboratorio nos podamos auxiliar confiadamente en otro método diagnóstico con similares resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 2584 muestras pulmonares; 1339 por el MPL, y 1245 por el método de Petroff, todas fueron recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de Tuberculosis y micobacterias del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK), en el período de julio 2010 a junio del 2012.

Debemos aclarar que para este estudio fueron excluidas del estudio las muestras no útiles para el cultivo y las muestras extrapulmonares.

Las muestras se procesaron por ambos métodos

Cuadro # 1. Descripciones de ambos métodos

Método Petroff	Método lento de precipitación y agitación
2ml de esputo + 2ml de NaOH al 4 %	2ml de esputos + 2ml de $\text{PO Na} \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ al 23%.
Adicionar gotas de rojo fenol 0.04 % y homogenizar	Se añaden 2 gotas de BaSO_4 al 5 %
Adicionar gotas de H_2SO_4 al 15% hasta cambio de color (amarillo) y homogenizar.	Se agita cada muestra, a mano varios segundos hasta homogenizar, si alguna muestra no se homogeniza, se vuelve a agitar
Dejar en reposo de 30 – 45 min. y agitar ocasionalmente	Se colocan los tubos en la incubadora de 18 - 24 horas.
Adicionar gota a gota de NaOH hasta cambio de color (rosado)	Se aspira directamente el sedimento con pipeta estéril
Centrifugar 15 min a 3500 rpm	Se Inoculan 0.2ml en el medio UIT modificado.
Decantar el sobrenadante y inocular 0.2 ml en tubo con medio UIT e incubar a 37 C	Se realiza la lectura una vez por semana durante 8 semanas
Realizar la lectura una vez por semana durante 8 semanas	

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 1227 muestras cultivadas por el método Petroff, 876 (71.4%) fueron negativas, 12 (1%) muestras con baciloscopia positiva se confirmó por el cultivo y 287 (23.4%) resultaron contaminados.

Por el método de precipitación lenta fueron cultivadas 1304 muestras, donde 1108 (84.9%) fueron negativas, se confirmó por el cultivo las 16 (1.2%) muestras con baciloscopia positiva y resultaron contaminadas 86 (6.6%).

Los cultivos fueron clasificados según la categoría en:

- | | |
|--|----------------|
| a) Baciloscopia (+)/ Cultivo (+) | BK (+)/CU (+) |
| b) Baciloscopia (-)/ Cultivo (-) | BK (-)/CU (-) |
| c) Baciloscopia(-)/ Cultivo (+) | BK(-)/CU(+) |
| d) Baciloscopia (+)/ Cultivo (-) | BK (+)/CU (-) |
| e) Baciloscopia(+)/ Cultivo Contaminado | BK(+)/CU Cont |
| f) Baciloscopia (-)/ Cultivo Contaminado | BK (-)/CU Cont |

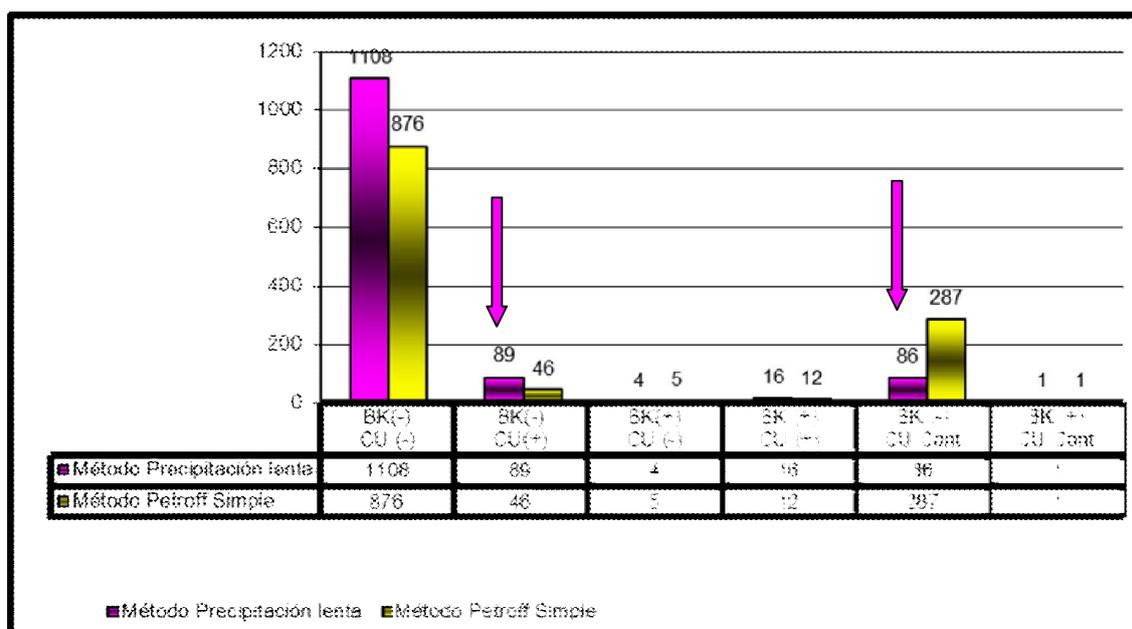
Tabla I. Distribución de las muestras por categoría y método de decontaminación utilizado.

Categoría	MPL		MP	
	No	%	No	%
BK (-) CU(-)	1108	84.9	876	71.4
BK (-) CU(+)	89	6.82	46	3.7
BK (+) CU(-)	4	0,30	5	0,4
BK (+) CU(+)	16	1.2	12	1
BK (-) CU contaminado	86	6.6	287	23.4
BK (+) CU contaminado	1	0,1	1	0.1
Total	1304	100	1227	100

Por el método de precipitación lenta de Valdivia JA se obtuvo una productividad del 6.82 % similar estadísticamente a la del 3.7% obtenida por el método del Petroff.

Se observa sin embargo mayor eficacia en el índice de contaminación ya que resultó el 23.4 % por el método Petroff y 6.6 % por el método de precipitación.

GRÁFICO #1. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DECONTAMINACIÓN SEGÚN CATEGORÍAS



Del total de muestras positivas que fueron 28, 16 fueron descontaminadas por el método de precipitación lenta del Valdivia y 12 utilizando el de Petroff.

Hernán C y cols. señala en su trabajo: ... “de acuerdo con las instalaciones y recursos de los laboratorios de las instituciones de salud de nuestro país, y con las experiencias de otros investigadores, y las nuestras, el método de Petroff modificado ofrece gran seguridad al operador, es de bajo costo y logra excelentes resultados en los aislamientos finales”..... No obstante el método de precipitación lenta del Valdivia ofrece un buen rendimiento en la recuperación micobacteriana.^{7,8}

Chatterjee y cols demostró en su estudio la eficacia de BLM (bilayered médium) sobre LJM (Lowestein Jensen medium) y KLM (Kirchner’s liquid medium) como la tasa de aislamiento y cultivo de *M. tuberculosis* fue claramente mejor en la BLM. Aunque la descontaminación con la ayuda de TSPB (tri-sodium phosphate and benzalkonium) resultó ser la mejor de todas los métodos de descontaminación utilizados con la mayor recuperación de las bacterias, los resultados reveló que NANC + NaOH puede ser considerada como una igualmente eficiente procedimiento de descontaminación.⁹

Por lo tanto, una adecuada y eficaz descontaminación es de suma importancia para obtener un exitoso resultado diagnóstico, el cual conlleva a mejorar la calidad de vida de los pacientes infectados, en nuestro caso muchos de ellos padeciendo por la infección TB/VIH/sida.

Podemos decir que nuestro estudio demostró que la confirmación del diagnóstico por cultivo en las muestras se comportó de forma similar utilizando ambos métodos de descontaminación, Y que los resultados obtenidos con el método de precipitación lenta avalan esta técnica para ser utilizada en los laboratorios de menos recursos de la red. Por lo tanto, un método de descontaminación adecuada y eficaz es de suma importancia en el ahorro de tiempo y la vida de los pacientes con tuberculosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis en Cuba, capítulo 1 y 8. La Habana, 2009. (2da edición).
2. Sorlozano A, Soria I, Roman J, Huertas P, Soto MJ, Piedrola G et al. Comparative Evaluation of Three Culture Methods for the Isolation of Mycobacteria from Clinical Samples. *J Microbiol Biotechnol* 2009; 19(10):1259–64.
3. Parrish N, Dionne K, Sweeney A, Hedgepeth, Carroll K. Differences in time to detection and recovery of Mycobacterium spp between the MGIT 960 and Bact/ ALERT MB Automated Culture Systems. *Diag Microbiology Infect Dis* 2009; 63: 342–5.
4. Valdivia JA, y cols. Memorias-I Congreso Microbiología y Parasitología, 1976.
5. Olivares E, Valdivia Alvares JA, Carreras RD; Garces J; FontME; *Rev Cub Med Trop* 35:159-163, mayo-agosto, 1983.
6. Petroff, S. A. Isolation of Tubercle Bacilli from Sputum. *Tubercle (London)* 1915; 21:38—42.

7. Brian, A. W., Baker, F. J. Mycobacteria Butterworths & Co. (Publishers), London, 1968.
8. Hernán Calderón N. Ma. Cecilia León Ch. Estudio comparativo de métodos de homogenización para investigar microorganismos ácido-alcohol-resistentes (BAAR). Rev. Cost. Cienc. Méd. Jun. 1982, 3(1)25—34).
9. Mitali Chatterjee, Susmita Bhattacharya, Kalpana Karak ,Y Sujata G. Dastidar ;Efectos de diferentes métodos de descontaminación para el éxito el cultivo de Mycobacterium tuberculosis ;Indian J Med Res 138, octubre de 2013, pp 541-548