

APLICACIÓN Y USO

Medio utilizado para el cultivo y aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* y otras especies de Micobacterias.

COMPONENTES (FÓRMULA TÍPICA X LITRO)

Solución de Sales***	600 ml
Homogenizado de huevo	1000 ml
Verde de malaquita al 2%	20 ml

***Fosfato monopotásico anhidro
Sulfato de Magnesio
Citrato de magnesio
L-Asparagina
Glicerol

pH final 6.8 +/- 0.2

CONTENIDO DEL ESTUCHE

Kit x unidad, por 10 unidades, por 20 unidades de medio de cultivo en tubo de 16 x 130 mm, con 6 ml de medio, listos para usar.

MATERIALES ADICIONALES NO SUMINISTRADOS

Asa, mechero, Incubadora, hisopos estériles desechables, Solución estéril de Hidróxido de Na (NaOH) al 4%.



METODOLOGÍA

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los nutrientes de este medio basal, más los aportados por el agregado de la mezcla de huevos, constituyen un rico soporte para el crecimiento de una gran variedad de micobacterias. El verde de malaquita inhibe a gran parte de la flora acompañante. Con el agregado de glicerina se estimula el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*, aunque gran parte de *M. bovis* es inhibido. Agregando un 5% de NaCl, se pueden seleccionar micobacterias tolerantes a la sal, como es el caso de *M. smegmatis*.

La tuberculosis constituye un grave problema de salud pública en el mundo, por lo que requiere de un aporte muy importante en el diagnóstico oportuno y preciso por parte del laboratorio clínico. Por ello debe contar con un medio de diagnóstico

aceptado internacionalmente y especialmente de un medio de cultivo de alta calidad, que no esté sometido a las variaciones de preparación en los laboratorios si no que sea suministrado por una entidad que certifique la calidad microbiológica de cada uno de los medios utilizados en la siembra de las muestras e identificación del bacilo de la tuberculosis.

Las micobacterias son microorganismos estrictamente aerobios, que cubren sus requerimientos de energía por la oxidación completa de glucosa o glicerol a CO₂ y H₂O. Son prototroficas a todos los aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas del complejo B. Se adaptan fácilmente a soluciones con sales simples con ión amonio como fuente de nitrógeno y glucosa como fuente de carbono. La mayoría de los casos de tuberculosis son causados por *Mycobacterium tuberculosis* aunque otras especies de micobacterias pueden también causar patología en el hombre y se deben incluir para el diagnóstico diferencial. La utilización del cultivo como método diagnóstico permite la identificación posterior de la micobacteria causal.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO Y LIMITACIONES DEL MÉTODO

- ✓ Medio preparado: verde claro, blando, opaco.
- ✓ Puede contener manchas de huevo que no afectan el desempeño. También pueden observarse pequeñas burbujas las cuales no afectan el desempeño del agar siempre y cuando no estén sobre el bisel donde se realiza la siembra.
- ✓ Puede presentar condensación la cual no debe ser eliminada ya que contiene componentes para el crecimiento de las micobacterias.
- ✓ Examine la fecha de vencimiento y signos de deterioro de los tubos antes de su uso.
- ✓ Observe cualquier evidencia de contaminación, mal llenado, cambios de color y signos de deshidratación y pérdida de volumen.
- ✓ Después de abierto el Rack, debe usarse durante la semana siguiente para evitar posible contaminación.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Atemperar el producto antes de su uso.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los medios de cultivo preparados marca MDM científica deben ser almacenados con las siguientes pautas:

- No exponer a la luz directa (artificial o natural), principalmente los medios de cultivo cromogénicos. En caso que se suministren en caja de cartón, mantenerlos almacenados al interior de esta.
- Una vez recibido el producto, almacenar entre 4°C y 12°C hasta su fecha de vencimiento.
- No almacenar cerca del congelador en caso de existir este compartimiento en la nevera de almacenamiento, y

así evitar cristalización del medio de cultivo (agar congelado).

TIPO DE MUESTRA

Esputo, hisopados, contenido gástrico, orina, biopsia de intestino, Líquidos tomados por punción pleural, Líquidos estériles (cefalorraquídeo, médula ósea, pericárdico, sinovial, articular).

PROCEDIMIENTO

INDICACIONES DE CULTIVO

- Paciente sintomático respiratorio en el cual las tres muestras de esputo son baciloscopia negativa. Hacer el cultivo con la tercera muestra.
- Toda muestra procedente de paciente VIH positivo.
- Tuberculosis extrapulmonar
- Tuberculosis infantil.
- Paciente sintomático respiratorio contacto de un paciente con cepa multirresistente.

Siembra

Se recomienda decontaminar previamente la muestra según procedimientos en su laboratorio para luego inocular la superficie del agar.

Incubación

A 35-37°C. Realizar lectura para ver si hubo crecimiento a los 7 días de incubación. Luego, observar cada semana, hasta un total de 8 semanas.

Resultados

Observar características morfológicas y presencia o ausencia de pigmento en las colonias.

Nota: siempre considerar los protocolos de su laboratorio.

CÁLCULO DE RESULTADO ANALÍTICOS RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD

RESULTADO		VALORES DE REFERENCIA		
Dilución	Media obtenida	Media establecida	Desviación estándar	Recuento mínimo permitido
10 ⁻⁵	116.5	123.2	26.7	96.4
10 ^{-5 1/2}	58.9	57.4	12.4	45.0
Observaciones: "La sensibilidad para captar unidades formadoras de colonia está dentro de los límites establecidos por el laboratorio de Micobacterias. INS". 18 Noviembre/2015				
Control Negativo				
S. aureus ATCC 25923		Inhibición		

Los medios de cultivo MDM Científica son probados en su pH final recomendado por tipo de agar. Cada lote se almacena en

cuarentena hasta que una muestra de cada uno es incubada por 3 días y al hacer lectura el resultado, debe ser negativo para todo tipo de microorganismos, asegurando en casi la totalidad de los lotes su esterilidad.

Se realizan pruebas de "Desempeño de crecimiento, productividad y Selectividad", con cepas ATCC, de acuerdo a las recomendaciones de la CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) para cada tipo de medio, asegurando de esta manera la calidad nutritiva y estabilidad de todos los lotes producidos.

INTERVALOS DE REFERENCIA: No Aplica

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- ✓ La inoculación de un medio de cultivo con bacterias, deliberadamente o accidentalmente, lleva al crecimiento rápido de estos en el medio, y altas concentraciones de cualquier microorganismo son potencialmente peligrosos, y deben ser descartados de manera segura y por métodos aprobados, como la inactivación con amonio cuaternario, descartando luego los agares en sus cajas contenedoras en doble bolsa roja para luego descartarlo como material de riesgo biológico; o por autoclavado, sin remover previamente el agar.
- ✓ Todos los medios de cultivo deben ser manipulados por personal calificado y que hayan sido entrenados en procedimientos y técnicas microbiológicas.

TECNOLOGÍA O EQUIPO UTILIZADO: No Aplica

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bacteriología del Mycobacterium tuberculosis y de Micobacterias no tuberculosas. Manual de procedimientos. Instituto Nacional de Salud Bogotá D.C, Mayo del 2001.