

APLICACIÓN Y USO

Medio utilizado para aislamiento y cultivo de microorganismos del género *Mycobacterium*, de acuerdo al protocolo establecido por el Instituto Nacional de Salud.

FÓRMULA TÍPICA X LITRO (COMPONENTES)

Solución de Sales***	500 ml
Homogenizado de huevo	1000 ml
Verde de malaquita al 2%	20 ml

***Fosfato monopotásico anhidro
Citrato de magnesio
Glutamato de sodio
Glicerol

pH final 6.4 +/- 0.2

MATERIALES ADICIONALES NO SUMINISTRADOS

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

METODOLOGÍA

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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.

MDM científica, ha estandarizado en su planta de producción de medios de cultivo, el medio de cultivo genérico para micobacterias de OGAWA KUDOH (OK), el cual es el medio recomendado y utilizado por las autoridades sanitarias en el país, como el Instituto Nacional de Salud y el Ministerio de Salud.

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 prototróficas 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 las placas 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:

- Debe ser almacenado en posición horizontal para evitar la condensación excesiva (recordar que dicha condensación no debe ser eliminada, ver criterios de desempeño y limitaciones del método en este inserto).
- 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

Espudo, 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.

Técnica de Siembra

- ✓ El medio de cultivo preparado debe retirarse de su empaque plástico, y debe ser atemperado unos 30 minutos a temperatura ambiente antes de su uso, nunca flamearlo. Antes de usarlo, siempre debe ser marcado o identificado apropiadamente en su parte posterior, con los detalles de la muestra de manera que no tape la parte del fondo del medio de cultivo para visualizar si se presenta contaminación.
- ✓ Procesar en cámara de bioseguridad.
- ✓ Impregne con una capa delgada y homogénea la totalidad del algodón de un escobillón estéril e introducirlo en un tubo que contenga 3 ml de NaOH al 4%, reposar 2 min.
- ✓ Sin escurrir el escobillón, sembrar con movimientos de rotación y presión, utilizando las partes laterales del escobillón.
- ✓ Incubar en posición horizontal con un mínimo de inclinación, con la tapa sin ajustar, hasta por doce semanas, de acuerdo a protocolos establecidos.
- ✓ Leer la primera semana observando presencia o no de contaminación. Asegurar bien las tapas.
- ✓ Examine el medio de cultivo después de la incubación para observar evidencia de crecimiento y realice las técnicas apropiadas de identificación, de acuerdo a los protocolos establecidos.
- ✓ En caso de presentar crecimiento, realizar coloración con ZN para verificar pureza del cultivo.

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



RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD

Cepa utilizada / Hallazgos	Control de esterilidad del Medio
* <i>Mycobacterium triviale</i> / crecimiento	Cumple
* <i>Mycobacterium tuberculosis</i> / crecimiento	Cumple

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.

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.
2. Kudoh S, Kudoh T. A Simple technique for culturing tubercle bacilli. Bull WHO 1974; 51:71-82.
3. Orozco LC. El cultivo de esputo para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Biomédica 1985;5:24.
4. Orozco LC. Una modificación al método de Kudoh para el cultivo de *M. tuberculosis*. Biomédica 1985; 5:86-89