

COMUNICACIONES BREVES

UNA MODIFICACION AL METODO DE KUDOH PARA EL CULTIVO DE *M. TUBERCULOSIS*

LUIS CARLOS OROZCO VARGAS,* CLARA INES LEON FRANCO,* ESNEDA GIRALDO DE BLANCO,*
OTILIA QUINTERO DE RAMOS,* ANA ISABEL ULLOA DE MORENO.*

La adición al esputo de una cantidad igual de fosfato trisódico al 4.3% ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 10 g. en 100 ml. de agua destilada) durante 24 horas previa a la siembra por el método del escobillón de Kudoh en medio modificado de Ogawa, disminuye notoriamente la contaminación de los cultivos, sin alterar la vitalidad del *M. tuberculosis* y facilita la homogenización del escobillón.

INTRODUCCION

En un artículo anterior (1) mostramos que la técnica del escobillón empleada por Kudoh en el medio modificado de Ogawa, daba resultados similares a la técnica de Petroff en medio de Lowenstein-Jensen, para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar.

Durante la aplicación del método en trabajo de rutina se observó cierta dificultad en la impregnación del esputo en el escobillón cuando aquel era muy fresco, y aunque la contaminación había sido aceptable, era deseable disminuirla.

Al realizar una revisión bibliográfica sobre posibles sustancias que tuvieran tanto capacidad homogenizante y decontaminante encontramos que el fosfato trisódico FTS ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) cumplía dicho requisito (2). Además, habíamos confirmado que el FTS no alteraba la vitalidad del *Mycobacterium tuberculosis*. El presente trabajo presenta los hallazgos de tres protocolos de investigación sobre procesamiento del esputo por el método de Ogawa-Kudoh previa exposición al FTS.

MATERIALES Y METODOS (ver esquema)

Primer experimento

72 esputos fueron procesados en la siguiente forma:

- a) Baciloscopia
- b) A cada esputo se le adicionó FTS 4.3% ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 10 g. en 100 ml. de H_2O) en cantidad igual a la del esputo, la mezcla se dejó durante dos horas a temperatura ambiente con agitación ocasional.
- c) Impregnación de la mezcla esputo-FTS en el escobillón y siembra por la técnica de Kudoh descrita anteriormente(1).

Segundo experimento

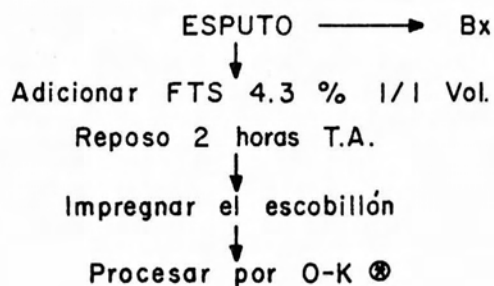
130 esputos procesados después de permanecer cerca de 15 horas a temperatura ambiente para permitir la multiplicación de la flora contaminante:

- a) Baciloscopia
- b) Impregnación del esputo en el escobillón y técnica de Kudoh.

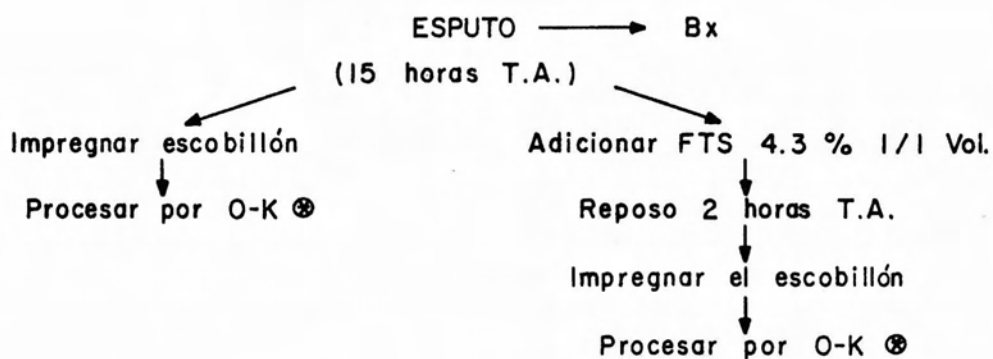
*Grupo de Micobacterias, Instituto Nacional de Salud.

ESQUEMA

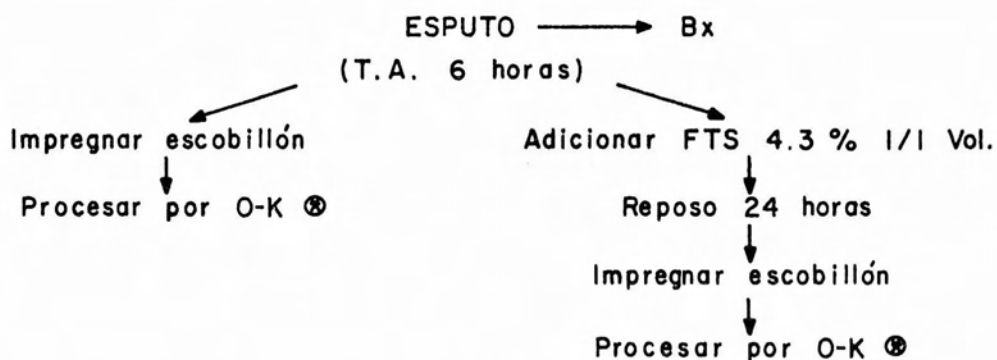
Primer Experimento



Segundo Experimento



Tercer Experimento



⊗ O-K Una vez impregnado el escobillón se introduce durante 1 a 2 minutos en soda al 4% y se siembra por rotación y presión en medio de OGAWA modificado por KUDOH.

- c) El esputo restante fue procesado en forma similar a lo descrito en el primer experimento.

Tercer experimento

241 esputos expuestos durante 6 horas a temperatura ambiente, fueron procesados en forma similar al segundo protocolo, pero la mezcla esputo-FTS 4.3% se dejó a temperatura ambiente durante 24 horas.

RESULTADOS (ver tabla No. 1)

El primer experimento muestra claramente como la mezcla de esputo FTS 4.3% durante dos horas disminuye la contaminación, si se compara esta con los porcentajes encontrados en el trabajo anterior (1) a saber: de porcentajes que oscilaron entre 4 y 9% a solo un 2.7%.

El segundo experimento, en el cual se permitió durante 15 horas la multiplicación de la flora contaminante a temperatura ambiente, muestra una disminución en la contaminación del 20%: de 15 cultivos contaminados por la técnica O-K, sólo se observaron 12 contaminados al adicionarles FTS 4.3% por dos horas.

El tercer experimento muestra un fenómeno similar al anterior, pero la disminución es del 28%.

TABLA 1
COMPARACION DEL METODO DE KUDOH
CON LA MODIFICACION DE LA ADICION
DE FTS 4.3 % POR 2 Y 24 HORAS

METODO	Nº ESPUTOS EXAMINADOS	CULTIVOS POSITIVOS		CULTIVOS CONTAMINADOS *	
		Nº	%	Nº	%
1er. EXPERIMENTO					
FTS - O-K	72	8	11.1	2	2.7
2º EXPERIMENTO					
O-K	130	19	14.6	15	11.5
FTS - OK	130	21	16.1	12	9.2
3er. EXPERIMENTO					
O-K	214	25	11.6	7	3.2
FTS - OK	214	26	12.1	5	2.3

* Parcial o totalmente

Con relación a la positividad del cultivo es muy similar en todos los tres experimentos y muestra un aumento entre 25 y 60% con relación a la baciloscopia (no se muestra en la tabla).

Durante el desarrollo de los tres experimentos se observó que las muestras con FTS se impregnaban más fácilmente en el escobillón.

DISCUSION

Aunque Kudoh (4) menciona al FTS como un posible preservativo para el esputo, en sus experimentos esta sustancia no fue utilizada como decontaminante ni homogenizante.

Songer (5), en una revisión sobre técnicas de decontaminación de muestras de medio ambiente menciona varios trabajos que utilizan el FTS, sólo o mezclado con cloruro de benzalconio como decontaminante. Sin embargo, ninguno de esos trabajos es comparable con nuestra experiencia, tanto por las concentraciones del FTS utilizadas, como por la técnica y medio de cultivo empleados.

Es esta la primera experiencia en que se mezcla la técnica de Kudoh (4) con una homogenización y decontaminación previa con FTS 4.3%. Es evidente que la exposición al FTS 4.3% disminuye significativamente la contaminación y que esta disminución está en relación directa con el tiempo de exposición: la disminución de la contaminación fue de 20% cuando la exposición fue sólo de dos horas, mientras que llegó casi al 30% cuando la exposición fue de 24 horas.

Los resultados del tercer experimento confirman parcialmente nuestro trabajo anterior (3), al mostrar que con una exposición del esputo durante 24 horas al FTS 4.3%, la positividad de los cultivos para *M. tuberculosis* es similar.

Este amplio margen de tiempo de exposición del esputo al FTS 4.3% es una ventaja para el trabajo de rutina del laboratorio, porque termina con la exigencia

sobre exactitud de tiempo que tienen la mayoría de los procedimientos de decontaminación (6).

En resumen, la adición de FTS 4.3% al esputo disminuye considerablemente la contaminación de los cultivos, sin alterar la viabilidad del *M. tuberculosis*; la homogeneización conseguida por dicho reactivo, facilita la impregnación del escobillón y como mostraremos en otro trabajo, permite la centrifugación del esputo para aumentar la positividad del cultivo.

SUMMARY

The addition of trisodium phosphate 4.3% ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 10 g. in 100 ml. of distilled water) in equal parts to sputum for 24 hours, before the inoculation by the swab technique of Kudoh in modified Ogawa, substantially diminishes the contamination rate without altering the viability of *M. tuberculosis*, and facilitates the impregnation of the sputum in the swab.

BIBLIOGRAFIA

1. Orozco, L.C., León, C.I., Blanco, E. de, Ramos, O. de, Moreno, A.I. de. El cultivo de esputo para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar. *Biomédica*. 1985, 5: 24.
2. Corper, H.J., Stoner, R.E. An improved procedure for the diagnostic culture of mammalian tubercle bacilli. *J. Lab. Clin. Med.* 1946, 31: 1364.
3. Esper, E., Orozco, L.C. Viabilidad del *M. tuberculosis* expuesto al fosfato trisódico en medio de Ogawa-Kudoh a temperatura ambiente. *Biomédica*. 1983, 3: 22.
4. Kudoh, S., Kudoh. A simple technique for culturing tubercle bacilli. *Bull. WHO*. 1974, 51: 71.
5. Songer, J.G. Methods for selective isolation of mycobacteria from environment. *Can. J. Microb.* 1981, 27: 1.
6. Krasnow, I., Wayne, L.G. Sputum digestion I. the mortality rate of tubercle bacilli in various digestion systems. *Am. J. Clin Pathol.* 1966, 36: 352.