

Estudio comparativo de medios líquidos y sólidos en el diagnóstico de micobacterias. Comparación del medio 7H9 de Middlebrook y del sistema M-GIT con los medios de cultivos clásicos en condiciones de terreno

Gilli, María Inés*; Sequeira, María Delfina**; López, María de Lourdes **;
Latini, Omar Angel **

*Laboratorio Central de la provincia de Santa Fe dependiente de la Dirección de Bioquímica y Farmacia -Ministerio de Salud y M.A. Blas Parera 8260. C.P.: 3000-Santa Fe, Argentina. T.E.: 0342-4892895. FAX: 0342-4891178. e-mail: labcen@arcrde.edu.ar

**Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni". A.N.L.I.S. "Carlos G. Malbrán". Blas Parera 8260. C.P.: 3000-Santa Fe, Argentina. T.E.: 0342-4892830. FAX: 0342-489-6850/6851/2525. e-mail: postmaster@epconi.gov.ar

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni"-Blas Parera 8260. C.P.: 3000-Santa Fe, Argentina. Bqca. Sequeira, María Delfina; Talchahuano 6536. C.P.: 3000-Santa Fe. T.E.: 0342-4605900. FAX: 0342-489-6850/6851/2525. e-mail: postmaster@epconi.gov.ar

RESUMEN: La baciloscopia es la técnica de elección en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Los cultivos clásicos solucionan la mayoría de los problemas restantes. Pero los pacientes inmunocomprometidos necesitan mayor precocidad y sensibilidad en sus cultivos.

Se evaluó en condiciones de terreno la utilización del sistema Mycobacteria Growth Indicator Tube (M-GIT) y el medio 7H9 de Middlebrook.

En 215 muestras se compararon los cultivos en M-GIT con los de medios clásicos. Se observó: mayor sensibilidad ($p = 0,346$), menor tiempo de detección ($p < 0,0001$) y mayor costo.

En otras 364 muestras se compararon los cultivos en medio 7H9 con los de medios clásicos. Se observó: mayor sensibilidad ($p = 0,55$), menor tiempo de detección ($p = 0,1474$) y mayor carga de trabajo.

Conclusión: Para el uso racional de recursos, conviene agregar al cultivo convencional un tubo M-GIT en pacientes inmunocomprometidos por su rapidez y un tubo de 7H9 en cultivos de muestras extrapulmonares por su sensibilidad.

SUMMARY: COMPARATIVE STUDY OF LIQUID AND SOLID MEDIUM IN MYCOBACTERIUM DIAGNOSIS. Comparative evaluation of the 7H9 of Middlebrook medium and M-GIT system with classic culture medium in field conditions. Gilli, María Inés*; Sequeira, María Delfina**; López, María de Lourdes**; Latini, Omar Angel **. The recommended procedure for the diagnosis of tuberculosis is the smear microscopy. Most of the other cases are resolved by the conventional culture methods. However in immunocompromised patients, early and more sensitive diagnosis is essential.

The advantages and disadvantages of the Mycobacterium Growth Indicator Tube (M-GIT) system and the 7H9 Middlebrook medium were evaluated in field conditions.

A total of 215 specimens were processed in parallel and seeded in the M-GIT system and conventional media. We observed that M-GIT increases the recovery rate ($p = 0,346$), decreases the detection time ($p < 0,0001$) and increases the costs.

A total of 364 specimens were processed in parallel and seeded in 7H9 Middlebrook medium and conventional media. We observed that 7H9 increases the recovery rate ($p = 0,55$), decreases the detection time ($p = 0,1474$) and increases the laboratory work load.

Conclusion: In order to rational use of resources we suggest employing M-GIT system which yields results in short time in immunocompromised patients and 7H9 medium which has a good sensitivity in extrapulmonary specimens.

Introducción

El examen bacteriológico es el método diagnóstico de certeza en casos de tuberculosis (1); la baciloscopia es la técnica de elección ya que, además de ser sencilla, rápida y económica, permite el diagnóstico de formas pulmonares con alto número de bacilos, generalmente cavitadas, con alto riesgo de muerte (50% en dos años si no son tratados) (2) o de secuelas respiratorias severas, si son tra-

tados tardíamente y que constituyen las fuentes de nuevas infecciones en la comunidad. En las condiciones epidemiológicas actuales de nuestro país permite el diagnóstico de las dos terceras partes de los casos notificados con esta localización (3).

Por su límite de sensibilidad (5.000 BAAR por ml de muestra) no permite el diagnóstico de casos pulmonares con lesiones infiltrativas, cerradas que progresan por contiguidad, extrapulmonares y casos graves causados por diseminación: meningi-

tis, miliar, etc.(4).

Cuando se emplea el cultivo como método diagnóstico en forma sistemática a sintomáticos respiratorios sospechosos con baciloscopia negativa éste agrega alrededor de un 30% a la confirmación bacteriológica (5). La mayoría de los enfermos pulmonares confirmados sólo por cultivo presentan lesiones incipientes, en general de evolución lenta, hecho que permite esperar los 30 á 60 días promedio que demanda la técnica para demostrar los bacilos, sin aumentar los riesgos para el paciente.

Sin embargo en casos de enfermedad diseminada o en pacientes inmunocomprometidos que pueden enfermar y evolucionar rápidamente hacia la diseminación, la precocidad del resultado es necesaria tanto para el diagnóstico como para la tipificación o determinación del patrón de sensibilidad bacteriana (6-10), que permite instaurar el tratamiento más adecuado y evitar infecciones intranosocomiales.

Los métodos de cultivo en medios líquidos y con lectura automatizada, difundidos ampliamente en países desarrollados, disminuyen en general el tiempo promedio de detección de desarrollo a la mitad y son más sensibles (11-15).

Uno de ellos, el sistema radiométrico BACTEC 460, ha dado muy buenos resultados tanto en el incremento de la sensibilidad como en la disminución del tiempo de detección de desarrollo de las micobacterias; sin embargo tiene algunas desventajas tales como el costo del equipo, de los medios de cultivo que emplea, la discontinuidad en la provisión de los mismos, mayor riesgo biológico (agujas de inoculación que aumentan el riesgo de formación de aerosoles y pinchaduras y la acumulación de material radioactivo), mayor contaminación y mayor carga de trabajo. Otros métodos no radioactivos como el BACTEC 9050, el BACTALERT y el MB BACTALERT, de más reciente aparición, evitan el riesgo de trabajar con radioactividad pero presentan las otras desventajas del antiguo 460 (16).

El sistema BBL M-GIT (Mycobacterium Growth Indicator Tube) es un medio líquido para desarrollo de micobacterias, de detección rápida de crecimiento bacteriano por medio de un reactivo que flourece cuando decae la tensión de oxígeno en el frasco que lo contiene. Las ventajas respecto a los mencionados anteriormente son:

— no necesita equipamiento especial,

— se puede realizar en laboratorios de mediana complejidad, lo que favorecería el aumento de cobertura en este tipo de técnicas,

— no utiliza agujas,

— no utiliza material radioactivo.

Todos los métodos nombrados anteriormente utilizan el medio líquido de Middlebrook, con distintos sistemas indicadores. La utilización de este medio líquido sin indicadores podría aumentar la sensibilidad respecto a los medios sólidos e incluso podría permitir tener resultados más precozmente y a más bajo costo que los anteriores.

Propósito

El Laboratorio del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "E. Coni" (INER) y el Laboratorio Central de la Provincia de Santa Fe decidieron realizar un estudio tendiente a evaluar en condiciones de terreno las ventajas y desventajas de la utilización del sistema BBL M-GIT y del medio de cultivo líquido 7H9 de Middlebrook (7H9) sin lectura automatizada, respecto del método clásico utilizando medios sólidos de Lowenstein-Jensen (L-J) y Stonebrink (S).

Objetivo general

Evaluar y comparar con el método clásico de cultivo en medios sólidos, la sensibilidad, tiempo de desarrollo, costo y aplicabilidad de los medios de cultivo líquidos M-GIT y 7H9 de Middlebrook sin indicadores.

Objetivos específicos

- Comparar la sensibilidad de M-GIT y 7H9 en muestras de diagnóstico y de control de tratamiento con baciloscopia negativa o positiva, con respecto a los medios sólidos.

- Determinar el rendimiento según el tipo de muestra de ambos medios líquidos.

- Determinar el porcentaje de contaminación.

- Determinar la velocidad de detección de cultivos positivos.

- Observar las probables ventajas e inconvenientes de su aplicación en condiciones de rutina diaria.

- Evaluar la relación costo-beneficio en cada uno de los dos medios con respecto al cultivo clásico.

Materiales y Métodos

Se procesaron muestras clínicas de origen pulmonar y extrapulmonar de pacientes con necesidad de diagnóstico rápido. Las características de los pacientes seleccionados fueron: enfermos con cepas multirresistentes en tratamiento, contactos de enfermos con cepas multirresistentes, pacientes HIV positivos, pacientes con otras inmunodepresiones, sospechas de tuberculosis extrapulmonar.

Los medios de cultivo utilizados fueron:

— **Sólidos:** Lowenstein-Jensen y Stonebrink, preparados en el Laboratorio del INER, cuya sensibilidad es periódicamente controlada en el Laboratorio de Micobacterias del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI).

— **M-GIT:** se utilizó siempre con el agregado de OADC y PANTA, según indicaciones del laboratorio productor.

— **7H9:** preparado en el Laboratorio del INER, con polvo deshidratado Difco Laboratories, con el agregado de Tween 80 y OADC Difco. Se utilizó Tween en lugar de glicerina para favorecer el desarrollo de posibles cepas de *M. bovis*.

Los materiales de punción (L.C.R., pleural, ascítico, médula ósea, etc.) se sembraron sin decontaminación previa; en caso de que la muestra tuviera volumen mayor a 2 ml se la concentró por centrifugación. Los materiales de biopsia fueron triturados en mortero en forma estéril y sembrados directamente.

Los esputos, lavados gástricos y abscesos, naturalmente contaminados, fueron decontaminados por la técnica de Petroff con hidróxido de sodio al 4%; no se empleó N-acetil-cisteína como recomienda el sistema M-GIT debido a la falta en plaza.

Una serie de 215 muestras fue sembrada en: 1 tubo de M-GIT, 1 tubo de L.J. y 1 de S. Otra serie de 364 muestras fue sembrada en: 1 tubo con 2 ml de medio 7H9, 1 tubo de L.J. y 1 S. En todos los tubos se sembró 0,2 ml de material a analizar.

El algoritmo establecido para el seguimiento del desarrollo en los cultivos fue el siguiente:

— **Medios sólidos:** lecturas a los 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 y 60 días de incubación o con seguimiento diario desde el día en que el medio líquido

del mismo material hubiera sido positivo. En caso de observarse desarrollo se confirmó por una coloración de Ziehl Neelsen y pruebas de identificación de las colonias.

— **M-GIT:** se observó la fluorescencia de los tubos diariamente a partir del quinto día de incubación con una lámpara pequeña de UV (las lecturas fluorescentes entre 2 y 5 días fueron inconstantes); a los tubos fluorescentes se los centrifugó y tomando del fondo con pipeta estéril se realizó siembra directa en medio de L. J. y coloración de Ziehl-Neelsen; si ésta última era positiva los tubos se descartaban, si en cambio era negativa, se seguían incubando. A los 30 y 60 días, presentaran o no fluorescencia se procedió a hacer un repique en medio sólido y una coloración de Ziehl-Neelsen; si en la coloración se observaban bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) y otras bacterias, se decontaminaba otra alícuota de la muestra y sembraba nuevamente en medio sólido. Después de los 60 días de incubación se descartaron los tubos.

— **7H9:** todos los tubos fueron centrifugados a los 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 y 60 días de incubación y alícuotas de sedimento tomado en forma estéril se sembraron en medio sólido y se realizó una coloración de Ziehl-Neelsen. Todos los repiques en medio sólido fueron incubados al menos durante 60 días a 37° C.

Las muestras procesadas clasificadas según sean de diagnóstico o control de tratamiento y distribuidas por tipo de cultivo en medio líquido se muestran en Tabla 1.

Criterio de positividad en M-GIT:

Se consideraron positivos los cultivos en M-GIT que presentaron fluorescencia y grupos de bacilos en el sedimento teñido con Ziehl-Neelsen y en los que hubo desarrollo en los repiques en medios sólidos.

Criterio de contaminación en M-GIT:

Se consideraron contaminados cuando se observaba fluorescencia pero no agrupamientos de bacilos en la coloración del sedimento ni desarrollo de micobacterias en los repiques en medios sólidos.

Criterio de positividad en 7H9:

Se consideraron positivos los cultivos en este medio cuando se observaron colonias de

micobacterias en el sedimento teñido con Ziehl-Neelsen y en los que hubo desarrollo en los repiques en medios sólidos.

Análisis de los datos

Para facilitar el posterior análisis de los datos, se presentan los resultados en tablas clasificando las muestras procesadas según sean :

- De diagnóstico o control de tratamiento
- Pulmonares o extrapulmonares
- Baciloscopia positiva o negativa

También se expresan resultados en términos de **Positividad (P)** y **Sensibilidad Relativa (S. R)**, términos que se definen como:

Positividad total (P.T.): número total de muestras positivas detectadas por ambos métodos comparados sobre el total de muestras procesadas. Expresado en forma porcentual.

Positividad por medios sólidos (P. M.S.): número de muestras positivas detectadas por medios sólidos sobre el total de muestras procesadas. Expresado en forma porcentual.

Positividad por M-GIT (P. M-GIT): número de muestras positivas detectadas por el método de MGIT sobre el total de muestras procesadas. Expresado en forma porcentual.

Positividad por 7H9 (P. 7H9) : número de muestras positivas detectadas por este método, sobre el total de muestras procesadas. Expresado en forma porcentual.

Sensibilidad relativa de medios sólidos (S.R.M.S.): número de muestras positivas en medios sólidos sobre el total de positivos detectados por ambos métodos. Expresado en forma porcentual.

Sensibilidad relativa del M-GIT (S.R. M-GIT): número de muestras positivas en MGIT sobre el total de positivos detectados por ambos métodos. Expresado en forma porcentual.

Sensibilidad relativa del 7H9 (S.R. 7H9): número de muestras positivas en medio 7H9 sobre el total de positivos detectados por ambos métodos.

Tests estadísticos utilizados

Para comparar la sensibilidad se utilizaron el Coeficiente de Correlación Kappa (K) y la prueba

de Mac Nemar para muestras apareadas. Para el cálculo de las diferencias de los tiempos de detección de desarrollo, se utilizó el Test no Paramétrico de Wilcoxon para muestras apareadas.

Resultados

1-M-GIT

1.1-Positividad y sensibilidad relativa

Los resultados de los cultivos de 215 muestras distribuidos según método se observan en la tabla 2.

— Del total de muestras positivas (39), se aislaron e identificaron 35 cepas de *M. tuberculosis* y 4 de *Complejo Mycobacterium avium* (M.A.C.). De las 4 M.A.C., dos desarrollaron en ambos medios de cultivo, una sólo en L.J. y una sólo en MGIT. No se aisló *M. bovis* de ninguna muestra.

— Se consideraron positivos en medios sólidos y negativos en M-GIT dos muestras que no presentaron fluorescencia ni dieron BAAR positivo a los 30 y 60 días de cultivo en este último, pero cuyos repiques fueron positivos en L.J. a los 60 días.

-Hubo una muestra que se contaminó en ambos medios, pero la presencia de bacilos agrupados en el M-GIT permitió hacer el diagnóstico, por lo cual se la consideró positiva en M-GIT.

Los resultados de los cultivos de muestras para diagnóstico o control de tratamiento se muestran en la tabla 3, según los medios utilizados.

Los resultados de los cultivos de muestras pulmonares y extrapulmonares distribuidos según medio de cultivo se muestran en la tabla 4.

Los resultados de los cultivos de muestras bacilosópicamente positivas y negativas distribuidos según medio de cultivo se muestran en la tabla 5.

1.2-Contaminación

Contaminación en medios líquidos M-GIT: 16,3% (35/215)

Contaminación en medios sólidos: 2,8% (7/215)

1.3-Tiempo de detección del desarrollo

Los rangos y medianas de los tiempos de desarrollo en los medios de cultivo sólidos y en M-GIT y sus diferencias significativas según los distintos tipos de muestras se pueden observar en la tabla 6.

1.4-Observaciones de ventajas y desventajas del método MGIT

a- Aunque en las muestras con bajo número de bacilos viables, los tiempos de desarrollo en ambos métodos no difirieron en más de 5 (cinco) días, pero los repiques de medios líquidos realizados en medios sólidos por su masividad permitieron realizar pruebas de tipificación más rápidamente.

b- Las micobacterias pueden desarrollar igualmente en medios contaminados y pueden ser recuperadas en medios sólidos previa decontaminación.

c- La observación bajo luz UV de los cultivos es una operación rápida y fácil comparando las lecturas con un patrón.

d- La inoculación en medios líquidos de materiales clínicos sean o no homogeneizados, enturbia el medio, razón por la cual la opacidad no puede tomarse como indicador de desarrollo.

e- La contaminación es mayor en los medios líquidos, principalmente con hongos.

f- El alto número de medios fluorescentes no positivos incrementa el trabajo de hacer extendidos y repiques.

g- Además de los 2 casos ya citados en los que no se observó fluorescencia ni BAAR en los extendidos, pero hubo desarrollo en los repiques, 3 de los 36 positivos en MGIT, presentaron fluorescencia tardía, después de que los bacilos fueron detectados en las coloraciones del sedimento, al hacer sistemáticamente extendidos y resiembra en medios sólidos a los 30 y 60 días de incubación.

h- Los bacilos viables se asociaron con observación microscópica de bacilos agrupados en el sedimento del medio líquido; la observación de bacilos aislados correspondió a muestras bacilosópicamente positivas con bacilos no viables. Esto tiene mucha importancia en caso de cultivos de muestras de control de tratamiento con baciloscofia positiva y sobre todo en casos en que aparece fluorescencia por contaminación.

i-El medio M-GIT posee glicerina que podría inhibir el desarrollo del *M. bovis*, cuyo aislamiento en nuestra zona agrícola-ganadera es frecuente (2-3 % de los diagnósticos).

j- Según las indicaciones del producto, no se pueden procesar por este método sangre ni orina.

1.5-Costos

El tubo de M-GIT cuesta aproximadamente 12-14 veces más que el tubo de medio sólido de L.J. o el de S preparados en el laboratorio.

Aún cuando un tubo de L.J. o de S sean reemplazados por 1 (un) tubo de MGIT, para el aislamiento y posterior identificación de las micobacterias siempre se necesitarán medios sólidos, lo que incrementa el costo del mismo.

2-Middlebrook 7H9

2.1-Positividad y Sensibilidad Relativa

Los Resultados de los cultivos de 364 muestras distribuidos según método, se muestran en la Tabla 7.

-Dos de las 26 muestras positivas por ambos métodos, fueron negativas en el extendido de los sedimentos del cultivo de 7H9 pero los repiques de los 60 días del medio líquido al sólido fueron positivos.

-De las 33 muestras positivas, se identificaron 28 cepas de *M. tuberculosis*, 1 MAC, 2 *M. bovis* y 2 *M. fortuitum*. Una de las muestras con *M. bovis* y una de la muestras con *M. fortuitum* desarrollaron sólo en medio 7H9.

En la tabla 8 se observan los resultados clasificados según muestras de diagnóstico o control de tratamiento.

En la tabla 9 se muestran los resultados según el sitio de la lesión y en la 10 distribuidos según resultado de la baciloscofia.

2.2-Contaminación

El 9,3 % de los cultivos en 7H9 se contaminaron. Esto no impidió la observación y recuperación de los bacilos, razón por la cual no se tuvieron en cuenta en las tablas correspondientes.

2.3-Tiempo de detección del desarrollo

Los rangos, las medianas y sus diferencias significativas de los tiempos de desarrollo se observan en la tabla 11.

2.4-Observaciones de ventajas y desventajas del medio 7H9

a- La inoculación en medios líquidos de materiales clínicos sean o no homogeneizados, enturbia el medio, razón por la cual la opacidad no puede tomarse como indicación de desarrollo.

b- La contaminación en los medios líquidos es mayor que en los sólidos, sobre todo con hongos, pero las micobacterias pueden desarrollar igualmente y luego los cultivos pueden ser decontaminados.

c- El trabajo se incrementa en forma considerable respecto a los otros medios por la necesidad de controlar el crecimiento a través de extendidos frecuentes.

d- Los bacilos viables se asociaron con observación microscópica de bacilos agrupados en el sedimento del medio líquido; la observación de bacilos aislados correspondió a muestras baciloscopícamente positivas con bacilos no viables. Esto tiene mucha importancia en caso de cultivos de muestras de control de tratamiento con baciloscopía positiva y sobre todo en casos en que aparece fluorescencia por contaminación.

e-Permite trabajar con cualquier tipo de material.

f-Permite el desarrollo de cualquier micobacteria, incluso *M. bovis*.

2.5-Costos

El costo del medio 7H9 se incrementa aproximadamente al doble respecto al método clásico con medios sólidos.

Discusión

A diferencia de otros estudios comparativos de utilización de medios líquidos de cultivo de micobacterias, este fue realizado en las condiciones habituales de trabajo para evaluar su aplicabilidad en laboratorios de mediana compleji-

dad. Para su evaluación se tomaron en cuenta los postulados de la Red Nacional de Laboratorio de Tuberculosis: brindar la mejor calidad diagnóstica con uso racional de recursos. De los 6.200 cultivos realizados en el laboratorio en el período de estudio, sólo 579 (9,4 %) necesitaron cultivos más rápidos o más sensibles, ya que provenían de pacientes inmunocomprometidos, con riesgo de multirresistencia o con posibles localizaciones extrapulmonares.

Por este motivo se adaptó la técnica original de M-GIT empleando el método de decontaminación de Petroff, que es el utilizado en la mayoría de los laboratorios del país y sembrando cantidades similares de muestras biológicas en los distintos medios de cultivo comparados.

A pesar de ello, los resultados obtenidos son muy similares a los descritos en estudios previos (11-15).

La sensibilidad del medio 7H9 sólo o con el indicador de crecimiento en el sistema M-GIT, mostró ser ligeramente más sensible que los medios sólidos (de 82% se incrementó a 92,3% con el M-GIT y a 97% con 7H9).

Sin llegar a presentar diferencias significativas ($p = 0,346$ en M-GIT; $p = 0,55$ en 7H9) en el total ni tampoco en ningún grupo particular, el mayor incremento de sensibilidad se observó en las muestras con escaso número de bacilos, es decir, baciloscopías negativas (M-GIT $p = 0,093$; 7H9: $p = 0,094$); este tipo de muestras proviene de pacientes en los cuales el resultado del cultivo conduce al diagnóstico, motivo por el cual este incremento de la sensibilidad puede mejorar la confirmación bacteriológica.

Cuando se agrega un tubo de M-GIT a los medios sólidos habituales se aumenta la positividad de los cultivos de 14,9% a 18,1 %; en caso de que se agregue un tubo de 7H9 la positividad aumenta de 7,4 % a 9,1 %. En promedio el agregado de medios líquidos incrementó el aislamiento por cultivo en un 24 %.

También, en coincidencia con los otros estudios, se observó que el tiempo de detección de los cultivos positivos en M-GIT era significativamente menor que en los medios sólidos con una diferencia de medianas total de 13,5 días ($p < 0,0001$). Sin embargo, en las muestras con bajo número de bacilos, baciloscopía negativa, las diferencias no son estadísticamente significativas (diferencia de

medianas=4,5 días , $p=0,1282$).

La mayor utilidad práctica que se apreció en la utilización del M-GIT fue la obtención de cultivos precoces de muestras con baciloscopías positivas, lo cual puede ser útil para la posterior realización de la identificación o prueba de sensibilidad a los quimioterápicos (diferencia de medianas=16 días, $p=0,0001$).

El proceso de lectura de los tubos de M-GIT es simple y rápido, pero se necesita un tiempo extra para la realización de extendido, coloración, lectura microscópica y resiembra cada vez que se observa fluorescencia o antes de descartar los tubos porque la ausencia de fluorescencia no siempre indica cultivo negativo. La presencia de opacidad en los tubos tampoco es índice de positividad y los extendidos de sedimento del cultivo en medio líquido deben observarse muy cuidadosamente, ya que bacilos aislados en cultivos de muestras baciloscópicamente positivas, no significan bacilos en fase de reproducción, y sólo cuando se hallaron en grupos dieron cultivos positivos en los repiques.

La utilización del medio 7H9, si bien disminuye los tiempos de detección de los cultivos positivos (diferencia de medianas=5días, $p=0,1474$), no llega a evidenciar diferencias significativas en ningún grupo.

Los cultivos en 7H9 a pesar de ser casi tan sensibles como M-GIT presentan la desventaja de la necesidad de su continua observación microscópica y resiembra con el correspondiente riesgo de contaminación y de pérdida de bacilos por extracción del material del tubo. Considerando que su mayor aplicación está en muestras baciloscopías negativas cuyo tiempo de desarrollo supera los 20 días, valor de la mediana , se propone realizar lecturas sólo a los 20, 40 y 60 días.

Las contaminaciones en los medios líquidos fueron más frecuentes que en los sólidos, pero no impidieron el desarrollo de las micobacterias.

Conclusiones

Habiendo gran diferencia en los costos de los medios, se podría proponer agregar a los medios de cultivos clásicos un tubo de MGIT en muestras de paciente inmunocomprometidos que necesitan rápidamente el resultado del cultivo, tengan o no

baciloscopías positivas.

Antes de descartar un tubo que no presente fluorescencia, debería realizarse un extendido del sedimento, coloración y repiques en medios sólidos.

En cuanto al medio 7H9 se sugiere incorporarlo en las muestras extrapulmonares generalmente baciloscópicamente negativas, para aumentar la sensibilidad de los cultivos en medios sólidos sin incrementar excesivamente los costos, realizando las lecturas a los 20, 40 y 60 días para evitar la sobrecarga de trabajo.

Agradecimientos

Agradecemos muy especialmente a la Dra. María Susana Imaz por su asesoramiento y amable colaboración en el análisis estadístico de los datos. Agradecemos también la colaboración de las bioquímicas Gabriela Kuszniery y Marcela López y del técnico Sergio Vidal.

Bibliografía

- 1- Kochi A., Foreword en: Rieder H., Chonde T., Myking H., Urbanczik R., Laszlo A., Kim S., Van Deun A., Trébuq A., 1998. "The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network". Editado por International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (Francia), 1.
- 2- Harries A., Maher D., Raviglione M., Chaulet P., Nunn P., Luelmo F., Van Praag E., 1997. "TB/VH Manual Clínico para América Latina". Editado por WHO/TB/96.20(s) (Italia), 18.
- 3- Fernández H., Latini O., 1996. Localización de casos y recursos de la red de laboratorios en el programa de control de la Tuberculosis. Revista Argentina del Tórax 57, 1/4: 33-41.
- 4- Farga Victorino, 1992. "Tuberculosis" Editorial Mediterraneo (Santiago de Chile), 103-116.
- 5- Imaz S., Latini O., 1996. Aporte del cultivo. Documento Mimeografiado del I.N.E.R..
- 6- Alta J., Barrera L., Reniero A., López B., Biglione J., Weisburd G., Rajmil J., Largacha C., Ritacco V., 1996. Hospital transmission of Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Rosario, Argentina. Medicina (Buenos Aires) 56: 48-50.
- 7- Ritacco V., Di Leonardo M., Reniero A., Ambroggi M., Barrera L., Dambrosi A., López B., Isola N., Kantor Y., 1997. Nosocomial spread of Human Immunodeficiency virus. Related Multidrug-Resistant Tuberculosis in Buenos Aires. The JID, 176: 637-642.

- 8- Pérez H., Kaufman S., Barrera L., Erbin M., Cahn P., 1995. Timely treatment for *Mycobacterium-avium Complex* improves survival in AIDS cases in Argentina. Abstracts of the 35th ICAAC. 9-Inderlied C., Kemper C., and Bermudez L., 1993. The *Mycobacterium avium Complex*. Clin. Microbiol. Rev 6, 3: 266-310.
- 10-Kantor I., Ritacco V., Barrera L. 1996. ¿Es la tuberculosis multirresistente una infección emergente en Buenos Aires? Medicina. (Buenos Aires) 56: 102-104.
- 11-Morcillo N., Scipioni S., Vignoles M., Trovero A. 1998. Diagnóstico rápido y sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* a antibióticos por el sistema MGIT. Revista Argentina de Microbiología. 30: 155-162.
- 12-Casal M., Gutierrez J., Vaquero M., 1997. Comparative evaluation of the mycobacteria growth indicator tube with the BACTEC 460 TB System and Löwestein-Jensen medium for isolation of mycobacteria from clinical specimens. Int. J. Tuberc Lung Dis 1, 1: 81-84.
- 13-Rivera A., Tupasi T., Grimaldo E., Cardano R., Co V., 1997. Rapid and improved recovery rate of *Mycobacterium tuberculosis* in Mycobacteria Growth Indicator Tube combined with solid Löwestein-Jensen medium. Int. J. Tuberc Lung Dis. 1, 5: 454-459.
- 14-Chew W., Lasaitis R., Schio F., Gilbert G., 1998. Clinical evaluation of the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) compared with radiometric (BACTEC) and solid media for isolation of Mycobacterium species. J. Med. Microbiol. 47, 9: 821-7.
- 15-Hanna B., Ebrahimzadeh A., Elliot L., Morgan M., Novak S., Rusch-Gerdes S., Acio M., Dunbar D., Homes T., Rexer C., Savthyakumar C., Vannier A., 1999. J Clin Microbiol. 37, 3: 748-52.
- 16-Amadio G., 1999. Acerca de los Métodos de Lectura Precoz de cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* y otras micobacterias. Boletín de la A. A. M. 134: 16-17.

Tabla 1. Total de muestras procesadas clasificadas según sean de diagnóstico o control de tratamiento y distribuidas por tipo de cultivo en medio líquido

Muestras	M-GIT			7H9 Middlebrook		
	Diagnóstico	Tratamiento	Total	Diagnóstico	Tratamiento	Total
Espuito	46	39	85	14	11	25
L.C.R.	39	0	39	160	0	160
L. pleural	16	0	16	114	1	115
L. ascítico	11	0	11	23	1	24
Biopsia ganglio	23	0	23	9	0	9
Biopsia pleural	14	0	14	4	0	4
Biopsia ósea	5	0	5	0	0	0
Biopsia pulmonar	4	0	4	5	0	5
Abscesos	5	0	5	2	0	2
L. sinovial	2	0	2	13	0	13
L. sinovial	4	0	4	3	0	3
Lav. gástrico	2	1	3	2	0	2
Piel	2	0	2	2	0	2
Médula ósea	0	1	1	0	0	0
Secreción ótica	0	1	1	0	0	0
Total	173	42	215	351	13	364

Tabla 2. Resultados de los cultivos en M-GIT y medios sólidos.

Medios Sólidos	M-GIT			
	Pos.	Neg.	Cont.	Total
Pos.	29	3	0	32
Neg.	6	140	30	176
Cont.	1	1	5	7
Total	36	144	35	215

PT.: 18,1% S.R. M.S.: 82%
 P.M.S.: 14,9% S.R. MGIT: 92,3%
 P.MGIT: 16,7%
 K= 0,825; Test deMac Nemar $p = 0,346$

Tabla 3. Resultados de cultivos clasificados según medios de cultivos en muestras para diagnóstico y control de tratamiento.

Medios sólidos	MGIT							
	Muestras diagnóstico				Muestras control de tratamiento			
	Pos.	Neg.	Cont.	Total	Pos.	Neg.	Cont.	Total
Pos.	27	1	0	28	2	2	0	4
Neg.	3	117	23	143	3	23	7	33
Cont.	1	0	4	5	0	1	1	2
Total	31	118	27	176	5	26	8	39

Muestras de diagnóstico PT.: 18,1% S.R. M.S.: 87,5%
 P.M.S.: 15,3% S.R. MGIT: 96,8%
 P.MGIT: 17,6%
 $p = 0,156$

Muestras control tratamiento PT.: 17,8% S.R.M.S.: 57%
 PM.S.: 10,2% S.R.M-GIT:70%
 PM-GIT: 12,8%
 $p = 0,31$

Tabla 4. Resultados clasificados según muestras pulmonares o extrapulmonares

Medios sólidos	MGIT							
	Muestras pulmonares				Muestras extrapulmonares			
	Pos.	Neg.	Cont.	Total	Pos.	Neg.	Cont.	Total
Pos.	18	3	0	21	11	0	0	11
Neg.	3	48	10	61	3	93	19	115
Cont.	1	1	5	7	0	0	0	0
Total	22	52	15	89	14	93	19	126

Muestras pulmonares PT.: 26% S.R. M.S.: 84%
 P.M.S.: 23,6% S.R. MGIT: 88%
 P.MGIT: 24,7%
 $p = 0,27$

Muestras extrapulmonares PT.: 11,1% S.R.M.S.: 78,6%
 PM.S.: 8,8% S.R.M-GIT: 100,0%
 PM-GIT: 11,1%
 $p = 0,125$

Tabla 5. Resultados clasificados según muestras baciloscopías positivas o negativas

Medios sólidos	MGIT							
	Muestras pulmonares				Muestras extrapulmonares			
	Pos.	Neg.	Cont.	Total	Pos.	Neg.	Cont.	Total
Pos.	20	2	0	22	8	1	0	9
Neg.	1	10	0	11	5	132	29	166
Cont.	1	0	1	2	0	0	5	5
Total	22	12	1	35	13	133	34	180

Muestras baciloscopía positiva.

PT.: 62,9% S.R. M.S.: 91,7%

P.M.S.: 62,9% S.R. MGIT: 91,7%

P.MGIT: 62,9%

p = 0,375

Muestras baciloscopía negativa.

PT.: 8,3% S.R.M.S.: 64,3%

PM.S.: 5% S.R.M-GIT: 92,6%

PM-GIT: 6,1%

p = 0,093

Tabla 6. Rangos y medianas de los tiempos de detección de desarrollo según tipo de muestra y medios de cultivo

Muestras	Rangos y medianas (días)				Diferencia de las medianas	
	MGIT		Medios sólidos		días	P
Diagnostico	R=5-31	M=17,5	R=10-45	M=30	12,5	0,0001
Tratamiento	(*)		(*)		(*)	(*)
Pulmonares	R=5-31	M=14	R=10-60	M=20	6	0,0003
Extrapulm.	R=8-35	M=23	R=20-45	M=27,5	4,5	0,0663
Bac. positiva	R=5-31	M=14	R=10-60	M=30	16	0,0001
Bac.negativa	R=8-35	M=23	R=20-30	M=27,5	4,5	0,1282
Total	R=5-35	M=16,5	R=10-60	M=30	13,5	<0,0001

(*) No se analizan por no poseer un número significativo muestras.

Tabla 7. Resultados de los cultivos en medios sólidos y 7H9 de Middlebrook

Medios Sólidos	7H9 de MIDELEBROOK		
	Pos.	Neg.	Total
Pos.	26	1	27
Neg.	6	331	337
Total	32	332	364

PT.: 9,1%

S.R.M.: 81,8%

P.M.S.: 7,4%

S.R. 7H9: 97%

P. 7H9: 8,8%

Test de Mac Nemar: $p = 0,55$

K: 0,87

Tabla 8. Resultados clasificados según muestras de diagnóstico o control de tratamiento

Medios sólidos	Middlebrook 7H9					
	Muestras diagnóstico			Muestras control de tratamiento		
	Pos.	Neg.	Total	Pos.	Neg.	Total
Pos.	22	1	23	4	0	4
Neg.	5	323	328	1	8	9
Total	27	324	351	5	8	13

Muestras de diagnóstico

Muestras de control de tratamiento.

PT.: 8 %

S.R. M.S.: 82,1%

P.M.S.: 6,6%

S.R. M7H₉: 96,4%P.M7H₉: 7,7% $p = 0,094$

PT.: 38,5 %

S.R.M.S.: 80 %

P.M.S.: 30,8 %

S.R.M7H₉: 100 %P.M.7H₉: 38,5 % $p = 0,5$ **Tabla 9.** Resultados clasificados según muestras pulmonares o extrapulmonares

Medios sólidos	Middlebrook 7H9					
	Muestras pulmonares			Muestras extrapulmonares		
	Pos.	Neg.	Total	Pos.	Neg.	Total
Pos.	18	0	18	8	1	9
Neg.	2	8	10	4	323	327
Total	20	8	28	12	324	336

Muestras pulmonares

Muestras extrapulmonares.

PT.: 71,4%

S.R. M.S.: 90%

P.M.S.: 64,3%

S.R. M7H₉: 100%P.M7H₉: 71,4% $p = 0,25$

PT.: 3,9 %

S.R.M.S.: 69,2 %

P.M.S.: 2,7 %

S.R.7H₉: 92,3 %P.M.7H₉: 3,6 % $p = 0,156$

Tabla 10. Resultados clasificados según muestras baciloscopia negativa o positiva.

Medios sólidos	Middlebrook 7H9					
	Muestras pulmonares			Muestras extrapulmonares		
	Pos.	Neg.	Total	Pos.	Neg.	Total
Pos.	19	0	19	7	1	8
Neg.	1	1	2	5	330	335
Total	20	1	21	12	331	343

Muestras baciloscopia positiva

PT.: 95,2% S.R. M.S.: 95%

P.M.S.: 90,5% S.R. M7H9: 100%

P.M7H9: 95,2%

p = 0,5

Muestras baciloscopia negativa.

PT.: 3,8 % S.R.M.S.: 61,5 %

PM.S.: 2,3 % S.R.M 7H9: 92,3 %

PM 7H9: 3,5 %

p = 0,094

Tabla 11. Rangos, medianas y diferencias de medianas del tiempo de detección de desarrollo en 7H9 y en medios sólidos.

Muestras	Rangos y medianas (días)				Diferencia de las medianas	
	Middlebrook 7H9		Medios sólidos		días	p
Diagnostico	R=10-60	M=15	R=10-30	M=17,5	2,5	0,256
Tratamiento	R=10-45	M=20	R=15-60	M=30	10	0,465
Pulmonares	R=10-45	M=10	R=10-60	M=15	5	0,0159
Extrapulm.	R=15-60	M=27,5	R=15-60	M=30	2,5	0,4631
Bac. positiva	R=10-45	M=10	R=10-60	M=15	5	0,0229
Bac. negativa	R=10-60	M=25	R=15-60	M=30	5	0,6121
Total	R=10-60	M=15	R=10-60	M=20	5	0,1474