Herrera B, Ramos E, Gilman RH, Grandjean L, Martin L, Alvarado J, Quino W, Valencia T, Sandhu G, Montoya R, Alva J, Franco J, Haro M, Sosa R, Valera E, Valiente B, Rivero M, Carrera S, Escombe AR, Curatola A, Evans CA.
Optimización de las pruebas de campo de TB: descontaminación y cultivo de esputo en tránsito en medios colorimétricos selectivos para diagnóstico de TB y pruebas de susceptibilidad a medicamentos.
Presentación del póster, p.15.

En Actas de los Médicos Sin Fronteras (MSF), Campaña por el acceso a medicamentos esenciales. Simposio de un día sobre diagnóstico de campo de TB "Morir por una prueba": 7 de noviembre de 2007; Ciudad del Cabo, Sudáfrica.
Acceso abierto:

<http://www.msfaccess.org/sites/default/files/MSF_assets/TB/Docs/TB_event_DyingforaTest_ENG_2007.pdf>

**Antecedentes**: La tuberculosis afecta particularmente a las poblaciones desfavorecidas. En consecuencia, los laboratorios de referencia y los tecnológicamente exigentes. Las pruebas de MDRTB que proporcionan son las menos disponibles para quienes más las necesitan. En entornos endémicos, los microorganismos salivales generalmente crecen demasiado las muestras de esputo durante el tránsito al laboratorio donde luego se eliminan por descontaminación con álcali fuerte. Esta descontaminación también mata la mayor parte de la TB, lo que reduce la sensibilidad y restringe en gran medida el uso de cultivo de TB a laboratorios de bio-seguridad. La técnica de agar de capa delgada (TLA) tiene el potencial de uso en el campo para el diagnóstico de TB y las pruebas de MDRTB, pero el requisito para el esputo la descontaminación dificulta la implementación en laboratorios de campo. Nuestro objetivo era optimizar el procesamiento y el cultivo de esputo para su uso en el campo.

**Métodos**: Se utilizaron estudios cuantitativos del número de colonias de tuberculosis y el tiempo de crecimiento para optimizar el TLA, una licuefacción "en tránsito" y medio de transporte de descontaminación para uso en campo. Este medio de transporte de un solo paso (fosfato trisódico, sulfato de amonio, sulfato de magnesio, citrato de amonio férrico, penicilina) se almacena a temperatura ambiente. El esputo se expectora directamente en una olla de esputo que contiene la solución que mata los microorganismos salivales contaminantes mientras la muestra está en tránsito hacia el laboratorio, sin matar la TB dentro de la muestra. El procedimiento TLA se modificó con medios de cultivo enriquecidos con antimicrobianos que desalientan contaminación (Selectatabs). Los medios también incorporaron un indicador colorimétrico del crecimiento microbiano (2,3 difenil-5- (2-tienilo) cloruro de tetrazolio (STC) que facilita la interpretación del cultivo. Pacientes recién diagnosticados con tuberculosis pulmonar expectorada volúmenes similares de esputo recolectados al mismo tiempo directamente en dos macetas de esputo, una maceta seca normal y otra que contiene transporte medio que se almacenó durante la noche a temperatura ambiente en un ángulo inclinado, para sedimentar TB. El "sedimento" o la parte más baja de la El esputo de ambas macetas (con y sin medio de transporte) se inoculó luego directamente en el medio de cultivo. El resto de ambos las muestras se procesaron luego con la descontaminación centrífuga estándar de laboratorio de hidróxido de sodio y luego se cultivaron en el mismo camino. Todos los cultivos se realizaron en placas de Petri que contenían medio de cultivo Middlebrook 7H11 suplementado con 10% de OADC, Selectatabs, 50 μg / ml STC. Se usó un cuadrante no suplementado para la detección y otros cuadrantes se suplementaron con isoniazida y rifampicina. El cuarto cuadrante se utilizó para la investigación exploratoria de ciprofloxacina. Inmediatamente después de la inoculación, todos los cultivos se sellaron con cinta adhesiva dentro de una bolsa de plástico transparente "ziplock" y se incubaron en aire ambiente, sin CO2, a 37 ° C. Se identificaron cultivos positivos por cambio de color a simple vista y se confirmó la especiación por morfología usando un examen de aumento x40 de los cultivos de doble sellado con un microscopio de laboratorio normal. Por lo general, los cultivos de doble sellado se leerían con un microscopio y luego se destruirían sin abrirlos, pero para este experimento se extrajeron colonias para confirmar los resultados de susceptibilidad al fármaco con el ensayo TEMA.

**Resultados**: Hasta la fecha, los resultados están completos para 22 pacientes que fueron todos microscopios positivos (ver Figura). 15/22 (68%) eran esputo cultivo positivo mediante pruebas estándar con descontaminación centrífuga de laboratorio, mientras que 18/22 (82%) fueron cultivos positivos con el descontaminación "en tránsito". Los días medios (IQR) para los resultados del cultivo fueron 17 (14-26) con descontaminación en tránsito, 18 (15-31) con sin descontaminación, 26 (18-30) para descontaminación centrífuga de laboratorio y 19 (14-31) días para ambas técnicas de descontaminación combinadas. La velocidad de cultivo no difirió significativamente entre las técnicas de descontaminación. Los resultados de las pruebas directas de susceptibilidad a los medicamentos se leyeron el mismo día en que se detectó la TB (ver fotografía) y estos resultados de isoniazida y rifampicina fueron completamente concordantes con las pruebas indirectas de TEMA que estuvieron disponibles 1-2 meses después (n = 10 hasta ahora).

**Conclusiones**: Esta evaluación en curso sugiere que la descontaminación en tránsito combinada con medios TLA selectivos, un colorimétrico el indicador y la prueba directa de MDRTB pueden aplicarse en entornos de campo sin gabinetes de bioseguridad, porque la configuración de estos cultivos implica un riesgo biológico equivalente a la microscopía de esputo, después de lo cual los cultivos se sellan doblemente de forma permanente hasta su eliminación. La simplicidad y seguridad de esta técnica tiene el potencial de hacer que las pruebas de diagnóstico MDRTB estén más ampliamente disponibles en entornos con pocos recursos.