Herrera B, Ramos E, Gilman R, Grandjean L, Martin L, Alvarado J, Valencia T, Quino W, Sandhu G, Alva J, Sosa R, Carrera S, Coleman D, Mitchison D, Evans CA.
Simplificando las pruebas de TB / MDRTB basadas en cultivos para laboratorios periféricos.
Presentación oral invitada por Evans CA.

ENCUENTRE Foro científico sobre avances recientes en diagnósticos de tuberculosis: 17 de octubre de 2008; París.
Acceso abierto: [PDF1](http://www.ifhad.org/Abstracts/2008/FIND%20Abst/Herrera%20B%202008%20px%20Simplifying%20cultured%20based%20TB%20CAWE%20zx.pdf); [PDF2](http://www.ifhad.org/Abstracts/2008/FIND%20Abst/Evans%20C%20FIND%20Agenda%202008%20Simplifying%20culture-based%20TB%20MDRTB%20CAWE%20zx.pdf)

**Antecedentes.** La complejidad y el riesgo biológico de los procedimientos convencionales para la licuefacción y descontaminación del esputo restringen en gran medida el uso del cultivo de TB con pruebas de susceptibilidad a los medicamentos a los laboratorios de referencia. La complejidad, la capacidad humana avanzada y el gasto de establecer y mantener laboratorios de referencia los convierten en un recurso raro en las regiones donde la tuberculosis es más común. Por lo tanto, los diagnósticos sensibles de TB, MDRTB y XDRTB están disponibles con poca frecuencia para pacientes en entornos de escasos recursos que tienen mayor necesidad de ellos.

**Objetivo.** Nuestro objetivo era optimizar el procesamiento y el cultivo de esputo seguros para el diagnóstico de TB y las pruebas de susceptibilidad a medicamentos para laboratorios de campo básicos en entornos de escasos recursos.

**Estrategia**. Con el fin de permitir diagnósticos de TB sensibles pero bioseguros en laboratorios regionales básicos, combinamos y refinamos una variedad de procesamiento de esputo, cultivo, pruebas directas de susceptibilidad a medicamentos y Técnicas de detección de tuberculosis descritas por numerosos investigadores en las últimas décadas.

**Participantes**. Los pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar expectoraron 385 esputas en macetas que contenían medio de transporte desinfectante que licuaba y descontaminaba el esputo durante el tránsito. Las muestras de esputo tardaron entre 6 horas y 5 días a temperatura ambiente para llegar al laboratorio.

**Novedosa técnica de prueba de color**. Al llegar al laboratorio, los contenidos de la olla de esputo se aplicaron directamente sin ningún procesamiento a cada cuadrante de una placa de cultivo. La placa de cultivo contenía una capa delgada transparente de agar 7H11 selectiva con antimicrobianos para evitar la contaminación y también incorporó un Indicador de cambio de color para detectar cultivos positivos. Las pruebas directas de susceptibilidad a medicamentos para isoniazida, rifampicina y ciprofloxacina también se llevaron a cabo simultáneamente en los otros cuadrantes de la misma placa de cultivo. Inmediatamente después de la aplicación de esputo, las placas de cultivo se cerraron, sellaron doblemente y se incubaron. Los cultivos positivos se identificaron mediante un examen a simple vista para el cambio de color y M. tuberculosis se confirmó aún más al examinar las áreas de cambio de color dentro de las placas selladas bajo un microscopio normal con Un objetivo 4x de baja potencia.

**Pruebas de control.** A modo de comparación, los mismos pacientes expectoraron otra muestra de esputo en una maceta seca normal que fue procesada por la técnica de laboratorio de referencia de los Centros para el Control de Enfermedades, que utiliza la descontaminación de N-acetil l-cisteína NaOH con centrifugación, resuspensión de vórtice y cultivo en Agar 7H11.

**Resultados.** Para 385 muestras de esputo cultivadas por ambos métodos, 149 fueron cultivos positivos para M. tuberculosis por uno o ambos métodos, el 49% de los cuales también fueron microscopios positivos. La prueba estándar de oro fue cultivo-positividad por cualquiera de las pruebas. La sensibilidad de la nueva prueba fue del 91%, significativamente más sensible que el método de descontaminación centrífuga convencional (74% de sensibilidad diagnóstica, p = 0,0001) y produjo significativamente más colonias de tuberculosis (p <0,0001). La mediana del tiempo estimado de cultivo la positividad con las pruebas concurrentes de susceptibilidad al fármaco fue de 16 días, un poco más rápido que el método de descontaminación centrífuga (p <0.01). La contaminación resultó en la pérdida de 3.6% y 1.0% de los resultados de la prueba, respectivamente (p = 0.02).

**Factibilidad.** El procesamiento de 30 esputas frescas con la nueva prueba tomó menos de una hora, requirió menos capacitación e involucró un biopeligro de procesamiento de muestra similar a la microscopía de esputo, después de lo cual los cultivos se sellaron permanentemente. Por el contrario, la descontaminación centrífuga estándar tomó varias horas, se requirió especialización habilidades y riesgo de formación de aerosoles biopeligrosos. Los materiales de prueba de color cuestan ~ $ 1 y utilizan equipos de laboratorio estándar (una incubadora normal y un microscopio convencional).

**Conclusiones**. Esta técnica simple de cambio de color permitió un diagnóstico de TB seguro, económico y sensible con pruebas concurrentes para MDRTB y detección de XDRTB en laboratorios básicos de campo. Esto tiene el potencial de hacer que los diagnósticos modernos de TB sean más accesibles en entornos con pocos recursos para aumentar la equidad en el diagnóstico de TB.