

Comparación de los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen en el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* de pacientes con tuberculosis pulmonar. Hospital Regional Docente de Trujillo, Perú.

Comparison of Ogawa and Löwenstein-Jensen media for *Mycobacterium tuberculosis* isolation in pulmonary tuberculosis. Regional Hospital of Trujillo, Peru.

PARIMANGO RODRÍGUEZ, Diana¹; CHÁVEZ CASTILLO, Milciades²; LUJÁN VELÁSQUEZ, Manuela³; OTINIANO GARCÍA, Milly⁴; ROBLES CASTILLO, Heber⁵ y MUÑOZ GANOZA EDUARDO⁶.

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo comparar cuantitativa y cualitativamente los cultivos en los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen para el aislamiento de *M. tuberculosis* en muestras de esputo BK (+) de pacientes del Programa de Tuberculosis del Hospital Regional Docente de Trujillo, Perú. Se procesaron 54 muestras de esputos BK (+), sembrándose por duplicado en los medios de cultivo en estudio y se observaron cada tres días durante 2 meses, la identificación de *M. tuberculosis* se realizó mediante la prueba de niacina, según la técnica descrita por el Instituto Nacional de Salud. Se encontró que el 85.19% de las muestras fueron positivas en ambos medios; el 39.13% tuvo crecimiento eugénico en el medio Ogawa y un 28.26% en el Löwenstein-Jensen, teniendo diferencia significativa estadísticamente. La diferencia de tiempo de crecimiento entre ambos medios fue de 1.3 días favorable en el medio Ogawa y la diferencia del número de colonias entre ambos medios fue de 7.43, no existiendo diferencia significativa, en ambos. Por lo tanto, se concluye que ambos medios de cultivo tienen la misma eficacia en el aislamiento de *M. tuberculosis*.

Palabras clave : *M. tuberculosis*, Medios de Cultivo Löwenstein-Jensen y Ogawa

ABSTRACT

The present investigation compare quantitative and qualitatively the culturing in Ogawa and Löwenstein Jensen media, for the isolation of *M. tuberculosis* in samples of saliva BK (+) in patients of Tuberculosis Program Regional Hospital of Trujillo, Peru. We tried 54 samples of saliva BK (+), being sowed by duplicate in the means of culture(culturing) in study and they were observed every three days for 2 months, the identification of *M. tuberculosis* was realized by means of the niacin test, according to the technology(skill) described by the National Institute of Health. One thought that 85.19 % of the samples was positive in both means; 39.13 % it(he,she) had growth eugénico in the way Ogawa and 28.26 % in the Löwenstein Jensen, having significant difference statistically. The difference of time of growth between both means was of 1.3 days favorably in the way Ogawa and the difference of the number of colonies between both means belonged to 7.43, not existing significant difference, in both. Therefore, one concludes that both means of culture(culturing) have the same efficiency in the isolation of *M. tuberculosis*.

Key Words : *M. tuberculosis*, Medios de Cultivo Löwenstein-Jensen y Ogawa

1. Departamento de Microbiología y Parasitología- Facultad de Ciencias Biológicas- Universidad Nacional de Trujillo.

2. Docente Emérito. Universidad Nacional de Trujillo.

3. Docente Universidad Nacional de Trujillo.

4. Docente Universidad Nacional de Trujillo.

5. Docente Universidad Nacional de Trujillo.

6. Docente Universidad Nacional de Trujillo.

Correspondencia: revistamedica@ucv.edu.pe Escuela de Medicina Universidad César Vallejo. Telf. 485000 anexo 5096. Trujillo, Perú

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis pulmonar es una enfermedad infecciosa y contagiosa originada por las micobacterias, en el hombre su agente causal es *Mycobacterium tuberculosis*, conocido como Bacilo de Koch, las micobacterias son generalmente pleomórficas y pueden sufrir ramificación o crecimiento filamentosos fragmentados en bastones o elementos cocoides. Este agente es adquirido con frecuencia al inhalar gotitas que contienen bacterias viables derivadas de un individuo con infección pulmonar activa (1).

La tuberculosis es, primariamente, una enfermedad del aparato respiratorio, *M. tuberculosis* ataca de preferencia a los pulmones, pero puede invadir otros órganos de nuestro cuerpo, como son los huesos, riñón, cerebro, etc, transmitiéndose principalmente por vía aérea (2).

En la tuberculosis pulmonar los bacilos destruyen gradualmente el tejido pulmonar, las bacterias hacen agujeros irregulares donde se acumulan secreciones o flema mientras el cuerpo lucha contra la enfermedad. Los vasos sanguíneos atacados a menudo se rompen y se filtra hasta las cavidades pulmonares, por eso los pacientes con tuberculosis a menudo expectoran sangre y flema (3,4).

La tuberculosis (TB) fue declarada emergencia sanitaria mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1993; tiene una incidencia anual aproximada de 400 mil casos en el continente americano y más de 3 millones de muertes por año en el mundo. La tuberculosis es la patología re-emergente más frecuente en las personas jóvenes y tiende a ser más agresiva en el grupo etáreo que va desde los 15 hasta los 45 años (5).

El Perú es un país con una elevada morbilidad por tuberculosis, sus tasas son tres veces mayores al promedio mundial, y aproximadamente, siete veces el valor de la tasa para la región de las Américas (6). La distribución geográfica de la TB en el Perú es heterogéneo. En la costa se observan las mayores tasas de morbilidad (Lima, Callao, Tacna, Ica y Moquegua), seguidos por dos departamentos de la selva (Madre de Dios y Ucayali). En 1998, el 55,5% de los casos de TB en todas sus formas se concentraron en las cinco Direcciones de Salud (DISAs) del departamento de Lima, incluyendo la provincia constitucional del Callao. Para el año 2000, se observó una tendencia similar, en donde las DISAs de Lima concentraron el 57,7% de los casos (6).

En el departamento de la Libertad más del 70% de los casos de TB se ubican entre los 15 y 45 años, siendo los hombres los más afectados. La tasa de mortalidad registrada por el Programa de Control

de Tuberculosis (PCT) en 1991 representó el 1.1 por 100 mil habitantes, alcanzando su pico en 1993 con 5.6 y en 1997 se registró un 4.8. Durante 1998 se identificaron 37,774 sospechosos de tuberculosis y se examinaron a 35,867, encontrándose 2109 sintomáticos respiratorios, con expectoración y tos por más de 15 días y BK + (3).

Actualmente, el método de diagnóstico bacteriológico de tuberculosis pulmonar es el examen directo de muestras de esputo es decir la baciloscopía y el cultivo. La baciloscopía es un método económico, fácil de implementar y proporciona rápidos resultados, pero la sensibilidad de la baciloscopía depende de la calidad de las muestras de esputo, y la especificidad es solamente para bacilos ácido resistente. El cultivo, permite la realización de estudios de resistencia primaria del bacilo, identificación del agente causal y estudios de epidemiología molecular de TB, pero es relativamente costoso y laborioso, y los resultados se obtienen de 3 a 8 semanas (7,8).

El cultivo de *M. tuberculosis* es un ejemplo típico de crecimiento lento y produce colonias visibles a partir de un inóculo después de días o semanas de incubación (3), las micobacterias tienen requerimientos nutricionales relativamente simples como amonio que es la fuente de nitrógeno y el glicerol o el acetato como la única fuente de carbono y donadores de electrones. El crecimiento de *M. tuberculosis* es estimulado por lípidos, ácidos grasos y yema de huevo que se agrega al medio de cultivo para alcanzar un buen crecimiento. El medio de Löwenstein-Jensen se emplea a menudo en el aislamiento primario de *M. tuberculosis* a partir de materiales patológicos. Debido al alto contenido de lípidos de sus paredes celulares, *M. tuberculosis* es capaz de resistir a agentes químicos como álcalis o fenol durante periodos considerables, ésta propiedad se emplea en el aislamiento selectivo del microorganismo a partir del esputo y otros materiales que se encuentran muy contaminados (3,9,10).

La importancia del cultivo radica en aislar *M. tuberculosis* a partir de muestras de escasa cantidad de bacilos, paucibacilares, en pacientes con sospecha de TB y radiografía normal. También es de gran importancia en el diagnóstico de la TB infantil y en pacientes con VIH/SIDA. Investigaciones realizadas muestran que para aislar *M. tuberculosis* de 1mL. de muestra pulmonar o extrapulmonar, es necesario solo la presencia de 10 bacilos, mientras que para tener un frotis positivo con la coloración de Ziehl Neelsen se

necesita tener entre 5000 a 10000 bacilos ácido alcohol resistentes por mL. de muestra (11).

En nuestro país los medios de cultivo usados para la recuperación de *M. tuberculosis*. incluyen medios sólidos que contienen proteínas del huevo Löwenstein-Jensen y medio Ogawa, cuyos ingredientes como la L-asparagina y el ácido glutámico respectivamente son utilizados como fuente de nitrógeno, y la glicerina como fuente de carbono. Ambos utilizan verde de malaquita como inhibidor de la flora asociada. Entre los medios líquidos se encuentran el Mycobacterial Growth Indicador (MGIT) y el BACTEC (8).

La eficacia de un método de aislamiento bacteriológico, para la determinación de enfermos con tuberculosis pulmonar, no es sino la comparación de un medio de cultivo selectivo con otro para determinar cuál de ellos es el que permite un mejor aislamiento de *M. tuberculosis* con mayor rapidez (12). El medio Löwenstein-Jensen difiere del medio Ogawa en la cantidad de sus ingredientes, pero básicamente por la cantidad de sustancias inhibitoras que presenta y por el método de descontaminación utilizados como el Petroff y el Ogawa respectivamente (13).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) recomienda el diagnóstico por cultivo utilizando el método de Petroff y sembrando en el medio de Löwenstein-Jensen. Sin embargo en nuestro país, muchos laboratorios no están en condiciones económicas de realizar este tipo de cultivo por lo costoso del medio. Por lo que el Instituto Nacional de Salud (INS) a través de la Red Nacional de Laboratorios, utiliza como medio de cultivo Ogawa preparado artesanalmente como un método alternativo, que resulta menos costoso que el Löwenstein-Jensen,

No se ha encontrado estudios aplicados a nuestra realidad que hayan evaluado estos medios de aislamiento, por ello en la presente estudio se propuso comparar los medios de cultivo Löwenstein-Jensen y Ogawa para el aislamiento de *M. tuberculosis*, y determinar el medio que permita el aislamiento con menor porcentaje de contaminación, mejor tipo de crecimiento, mayor rapidez y número de colonias; a partir de muestras de esputo con BK (+) provenientes de pacientes que acudieron al Programa de Control de Tuberculosis del Hospital Regional Docente de Trujillo, durante enero a octubre del 2001.

MATERIAL Y MÉTODO

1. MATERIAL

1.1 MATERIAL DE ESTUDIO: La muestra estuvo constituida por 54 muestras de esputo de personas BK (+) de ambos sexos confirmada por baciloscopia con coloración de Ziehl Neelsen, atendidos en el Programa de Control de Tuberculosis del Hospital Regional Docente de Trujillo Perú, que cumplieron con los criterios de inclusión.

Criterios de inclusión:

Pacientes BK (+) de ambos sexos confirmado por baciloscopia con coloración de Ziehl Neelsen y que no hayan recibido tratamiento antimicrobiano.

Criterios de exclusión:

Pacientes BK que estén recibiendo tratamiento antimicrobiano.

Pacientes BK multidrogoresistentes,

1.2 MUESTREO: La selección de la muestra se llevó a cabo mediante el muestreo no probabilístico de conveniencia (14).

2. MÉTODOS:

2.1 TOMA DE MUESTRA Y TRANSPORTE:

La toma de muestras se realizó en el ambiente de recolección inmediata de esputo (ARIES) del

Programa de Control de Tuberculosis del Hospital Regional Docente de Trujillo.

Prevía a la toma de muestra, a cada paciente se le tomó los datos pertinentes, que se registró en una ficha, elaborada para tal fin donde se registraron: datos del paciente, signos y síntomas respiratorios, diagnóstico clínico, diagnóstico microbiológico y categoría clínica.

Cada muestra de esputo fue tomada por duplicado por personal especializado del área, las muestras de esputo fueron obtenidas por expectoración del árbol bronquial, las cuales tuvieron un volumen aproximado de 5-10 mL. Las muestras fueron recolectadas en recipientes con tapa, debidamente rotulados, inmediatamente los recipientes que contenían las muestras que resultaron BK (+) y cumplían con los criterios de inclusión mencionados anteriormente, fueron transportados de inmediato al laboratorio de Bacteriología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2 SIEMBRA EN MEDIOS DE CULTIVO:

2.2.1 CULTIVO EN MEDIO

LÖWESTEIN-JENSEN: Antes de proceder al cultivo en el medio Löwestein-Jensen se procedió a la descontaminación de la muestra por el método de Petroff, inoculándose 0,2 mL del sedimento de la

muestra descontaminada, por duplicado en los tubos que contenían medio de cultivo Löwestein-Jensen (Difco), y fueron colocados sobre una bandeja de fondo inclinado, para que el líquido sembrado cubriese toda la superficie del medio, e incubados a 37°C. (6,13,15).

2.2.2 CULTIVO EN MEDIO OGAWA:

Antes de proceder al cultivo de la muestra en el medio Ogawa, se procedió a la descontaminación sin centrifugación (Método Ogawa) de las muestras de esputo. Luego se inoculó 0.2 mL de muestra descontaminada por duplicado en cada uno de los tubos con medio de Ogawa, bañándose toda la superficie del medio. Se colocó los tubos en una bandeja de madera de fondo inclinado y se incubó a 37°C. (6,13,15).

2.2.3 LECTURA DE LOS CULTIVOS: Las colonias de *M. tuberculosis* generalmente se visualizan luego de 2 a 3 semanas de incubación. Las observaciones de los cultivos se hicieron después de 48 horas de incubación de la muestra, para descartar contaminación.

Las observaciones en los medios de cultivo se realizaron directamente en la superficie, hasta la visualización de colonias con características morfológicas típicas con *M. tuberculosis*, tomando nota del porcentaje de contaminación, tiempo de crecimiento, número de colonias y tipo de crecimiento en cada medio de cultivo, el cual fue registrado Para su posterior análisis.

Las colonias típicas son de color crema, rugosas, con aspecto de coliflor y de borde irregular. Se desarrollan en la superficie del medio y el sitio en el que se implantan no cambia de color. Se debe realizar frotis y coloración Ziehl Neelsen de todas las colonias que presenten morfología típica. (6,13,15).

2.3 COMPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Para hacer la comparación de los medios de cultivo, antes mencionados, se procedió a observar los tubos con colonias con características morfológicas típicas de *M. tuberculosis*, luego se procedió a tomar nota de:

- Porcentaje de contaminación.
- Tiempo de crecimiento.
- Tipo de crecimiento.
- Número de colonias.

2.4. IDENTIFICACIÓN DE *M. tuberculosis*: Se seleccionó las colonias con características morfológicas típicas de *M. tuberculosis*, a partir de las cuales se realizó: coloración de Ziehl Neelsen y prueba de la niacina, según la técnica descrita por el Instituto Nacional de Salud (6,13,15).

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS:

Los resultados fueron procesados usando el paquete estadístico SPSS v. 11 (6), en base a promedios, desviación estándar para variable cuantitativa y porcentajes para variable cualitativa. Como cada muestra de esputo fue, cultivado en medios. distintos (Ogawa -y Löwenstein-Jensen), cada uno con dos repeticiones. Los datos resultan correlacionados, por lo que la prueba estadística corresponde al test acerca de la media de las diferencias $H_0: U_D=0$ Vs. $H_a: U_D \neq 0$, para comparar tiempos de crecimiento y numero de colonias. Si $p < 0.05$ confirmará la existencia de diferencia significativa, lo cual atribuye a un tipo de medio de cultivo más eficaz que el otro.

RESULTADOS

De los 54 muestras de esputo BK (+) sólo 46 muestras (85.19%) fueron aislamientos positivos tanto en el medio Ogawa como en el Löwenstein – Jensen (Tabla N° 1). De los 46 cultivos positivos en Löwenstein – Jensen, 03 cultivos (6.52%) presentaron contaminación, mientras que en el medio Ogawa no se reportó contaminación (Tabla N° 2).

En el medio Ogawa el 60.87% de los cultivos tuvieron crecimiento disgénico y el 39.13% crecimiento eugénico, mientras que en el medio Löwenstein-Jensen el 71.74% tuvieron crecimiento disgénico y el 28.26% crecimiento eugénico, el Test-t fue de 33.03 demostrando que existe diferencia significativa (Tabla N° 3).

Entre los dos medios de cultivo el que reportó mayor porcentaje de crecimiento entre los 13-15 días fue el medio Ogawa con un 37,04% en comparación con el Löwenstein-Jensen que fue del 26,1%. En cuanto al promedio de días de crecimiento de *M. tuberculosis*, el medio Ogawa tuvo un promedio de 18.65 días en comparación con el Lowenstein-Jensen que reportó un promedio de 19.96 días de crecimiento. La diferencia de tiempo de crecimiento entre ambos medios fue de 1.3 días con una desviación estándar de 12.44 y el Test-t de la media de las diferencias fue de 0.503 demostrando que no es significativa (Tabla N° 4). El mayor numero de colonias en promedio fue en el Ogawa con un promedio de 96.13 colonias en

comparación al Lowenstein-Jensen que reportó 88.7 colonias. La diferencia de número de colonias entre ambos medios fue de 7.43 con una

desviación estándar de 49.82, y el Test-t de la media de las diferencias fue de 0.716 demostrando que no es significativa (Tabla N° 5).

TABLA N° 1: Comparación de aislamientos positivos de *M. tuberculosis* en los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen a partir de 54 muestras de esputo BK (+) de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú.

Medio de cultivo	No de Aislamientos				Total	
	Positivos		Negativos		N°	%
	N°	%	N°	%		
Ogawa	46	85,19	08	14, 81	54	100
Löwenstein-Jensen	46	85,19	08	14, 81	54	100

TABLA N° 2: Comparación de cultivos contaminados de *M. tuberculosis* en el medio Ogawa y Löwenstein-Jensen a partir de 46 cultivos positivos de muestras de esputo BK (+) de pacientes M Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú.

Medio de Cultivo	Total de Cultivos	Cultivo Contaminados	
		N°	%
Ogawa	46	00	0, 00
Löwenstein-Jensen	46	03	6, 52

TABLA N° 3: Distribución de tipos de crecimiento de colonias de *M. tuberculosis* en el medio Ogawa, y Löwenstein-Jensen a partir de cultivos positivos de muestras de esputo BK (+) de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú.

Medios de Cultivo	Tipos de Crecimiento				Total de Cultivos Positivos
	Eugónico		Disgónico		
	N°	%	N°	%	
Ogawa	18	39, 13	28	60, 87	46
Löwenstein-Jensen	13	28, 26	33	71, 74	46
Total	31	32, 61	61	66, 30	92

TABLA N° 4: Distribución de aislamientos de *M. tuberculosis* según tiempo de crecimiento en los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen a partir de 54 muestras de esputo BK (+) de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú.

Tiempo (Días)	Medios de Cultivo			
	Ogawa		Löwenstein-Jensen	
	No	%	No	%
13 – 15	14	25, 93	12	22, 22
16 – 20	20	37, 04	24	44, 44
21 – 25	10	18, 52	08	14, 81
26 – 30	02	3, 70	02	3, 70
31 a mas (*)	08	14, 81	08	14, 81
Total	54	100, 00	54	100, 00

(*) : No se reportó crecimiento Promedio : 18, 65 días 18, 96 días Desviación Estándar : 8, 87 11, 19
 Test de la media de las diferencias: t = -0.503, por lo tanto : No existe diferencia significativa

TABLA N° 5: Distribución de aislamientos de *M. tuberculosis* según No de colonias en los medio Ogawa y Löwenstein-Jensen a partir de 54 muestras de esputo BK (+) de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú.

No de Colonias	Medios de Cultivo			
	Ogawa		Löwenstein_ Jensen	
	No	%	No	%
0	08	14, 8	08	14, 8
1 – 50	14	26, 0	18	33, 3
50 – 99	06	11, 1	08	14, 8
100 – 150	26	48, 1	20	37, 0
Total	54	100, 0	54	100, 0

Promedio : 96,13 Promedio : 96,13 colonias 88,7 colonias Desviación : Estándar : 54,83 colonias 66,71 colonias
 Test de la Media de las diferencias: $t = 0.716$, por lo tanto: No existe diferencia significativa.

DISCUSIÓN

Son muchos los intentos para mejorar los métodos bacteriológicos de cultivo del bacilo de Koch, de modo que se pueda disponer de sus resultados en corto tiempo. Las técnicas más prometedoras a este respecto parecen ser las radiométricas que permiten hacer el diagnóstico de tuberculosis en pocos días (6). Sin embargo estos nuevos métodos bacteriológicos requieren de una inversión que a nivel local pocos centros pueden hacer, por lo que se sigue recurriendo a la baciloscopía y al cultivo en medios Löwenstein-Jensen y medio Ogawa a nivel local.

En el presente trabajo de investigación las muestras de esputo BK (+) procesadas por baciloscopía tuvieron una positividad al cultivo del 85.19% en los medios Ogawa y Löwenstein - Jensen, en comparación con (10) que evaluaron el cultivo de muestras de esputo BK(+) por el método Ogawa-Kudoh, encontrando sólo una positividad del 70%.

La sensibilidad de la baciloscopía guarda íntima relación con la cantidad eliminada de bacilos en la muestra a investigar (5.000 a 10.000 bacilos/ mL.) (6). Esto indica que la baciloscopía sigue siendo solo un diagnóstico presuntivo de tuberculosis, en comparación con el cultivo que es la única prueba segura para el diagnóstico de tuberculosis, por su alta sensibilidad, pues bastan unos pocos cientos de bacilos por milímetro de muestra para que resulte positivo; esto permite incrementar el diagnóstico de la enfermedad en casos con codificaciones muy bajas y en fases tempranas (16), y que por lo tanto, tenga pocas posibilidades de ser detectada por la baciloscopía. Sin embargo la baciloscopía no debe omitirse bajo ninguna circunstancia, considerando la sencillez del método, su bajo costo y la rapidez con que entrega un diagnóstico presuntivo en comparación

con otros métodos bacteriológicos más sensibles.

Recopilaron 150 muestras de esputo de pacientes sintomáticos respiratorios y realizaron un estudio comparativo entre los medios de cultivo Löwenstein-Jensen y Ogawa-Kudoh presentando un porcentaje de positividad de 12 % en el medio Löwenstein-Jensen y el 11.3 % en el medio Ogawa Kudoh, comprobando que la diferencia entre ambos porcentajes no era estadísticamente significativa. La mayor positividad en el medio Löwenstein-Jensen se le atribuyó a que en el procedimiento que se siguieron para sembrar la muestra en él se realizó un periodo de centrifugación a 4000 rpm durante 15 minutos que permitió concentrar la muestra aumentando así la probabilidad de aislar *M. tuberculosis*.

Hernandez et al (17) compararon la recuperación de micobacterias a partir de muestras 82 muestras de autopsia y 28 muestras clínicas de diferente procedencia utilizando los medios Löwenstein-Jensen y Ogawa. Kudoh de las cuales solo 7 resultaron BK:(+) por baciloscopía y crecieron en ambos medios; de las muestras BK (-) sí hubo diferencia significativa entre ambos medios, ya que, 11 crecieron en el medio Löwenstein Jensen y sólo 3 en el Ogawa, lo cual sugiere a los microbiólogos no abandonar el cultivo en el medio Löwenstein-Jensen en aquellas muestras con baciloscopía negativa, cuando la sospecha clínica se oriente hacia el diagnóstico de tuberculosis, sobre todo en casos extrapulmonares.

La negatividad del 14.81% de las muestras procesadas en la investigación, indicarían esputos BK (+) falsos positivos o debido a un procedimiento inadecuado en la neutralización o descontaminación con el NaOH al 4%, ya que no sólo logra eliminar la flora asociada a *M. tuberculosis* cuyos gérmenes se multiplican mas

rápido que el bacilo, sino que homogeniza la muestra liberando al bacilo del mucus, del material celular y tejidos.

El desarrollo de colonias antes de las 48 horas es indicativo de contaminación, la cual generalmente es de origen bacteriano, pocas veces es causada por hongos, para evitar al máximo esta contaminación es importante el procedimiento utilizado para descontaminar la muestra, cuyo principal objetivo es destruir la flora asociada y no el *M. tuberculosis*.

En el presente trabajo se observó una contaminación del 6.52%, en el medio Löwenstein-Jensen, debido probablemente a una manipulación inadecuada de la muestra, mientras que en el medio Ogawa no se observó contaminación, probablemente por la mayor cantidad de verde de malaquita que contiene el medio Ogawa.

Ortega et al (18) realizaron una evaluación del cultivo en medio Ogawa-Kudoh, encontrando una contaminación mayor en el medio Löwenstein-Jensen pero sin diferencia significativa con el total de tubos sembrados y mayor contaminación al usar el método de Petroff (NaOH 4%) respectivamente.

Casal et al (19) sostienen que los métodos de descontaminación más utilizados en la actualidad son los de Petroff. Tacquet y Ticcson, Kubica modificado por Krasnow y N-acetil-L cisteína-Hidróxido Sódico (NALC-NaOH). Además afirman que la elección de cualquiera de estos métodos dependerá del tipo de muestras que se descontamine y, sobre todo, de la utilización de determinados medios de cultivo líquidos y realización de técnicas moleculares a partir del sedimento de las muestras descontaminadas, ya que algunos reactivos utilizados en estos métodos pueden retrasar el crecimiento -de las micobacterias o interferir en las reacciones de amplificación. El porcentaje de contaminación aceptado, para los medios sólidos lo establecen entre el 3% y el 5%. Un índice de contaminación significativamente menor del 3% indica que la descontaminación es demasiado fuerte y un rango significativamente mayor del 5% sugiere un proceso de descontaminación demasiado suave o de digestión incompleta. Por lo que se deduce que la contaminación observada en el medio Löwenstein-Jensen de la presente investigación también pudo deberse a una descontaminación suave o incompleta.

Se define al crecimiento disgónico como un crecimiento con colonias pequeñas menores de 1 mm. de diámetro adheridas al medio y el crecimiento tipo eugónico como un crecimiento con colonias mayores a 1 mm de diámetro y fáciles de separar de la superficie del medio (13). En la

evaluación del tipo de crecimiento de las colonias en ambos medios de cultivo se observó que primó el tipo disgónico, Este tipo de crecimiento de las colonias se debió probablemente a que los bacilos aún no tan virulentos de acuerdo a la selección de la muestra, según (19). presentan en su pared micelatos de trealosa llamados factores de cordón que produce este tipo de cultivos en forma de cordones serpenteantes. Y por la presencia de ácidos grasos en los medios que favorecen este tipo de crecimiento.

López et al (1) observaron que el tiempo promedio de crecimiento de los cultivos positivos para Ogawa Kudoh fue de 30.6 días mucho mayor al MGIT y de capa delgada evaluados, esto debido probablemente a que utilizaron muestras paucibacilares de esputo en un porcentaje de 88.5 %, lo cual indicaría que Ogawa Kudoh en comparación con el MGIT y el medio de capa delgada es menos efectivo en la detección de micobacterias procedentes en muestras paucibacilares.

El uso de los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen se diferencian fundamentalmente en los métodos de descontaminación usados, donde la descontaminación por Petroff para sembrar en Löwenstein-Jensen es una metodología laboriosa con mayor riesgo de contaminación del personal y dura aproximadamente 60 min. a diferencia de la descontaminación sin centrifugación (método Ogawa) para sembrar en medio Ogawa que se caracteriza por ser una técnica sencilla, con un mínimo riesgo de contaminación, más económico (Anexo 8), y dura aproximadamente 20 min.

El análisis estadístico de los resultados de la presente investigación sugiere que no existe diferencia significativa al utilizar el medio Ogawa o el medio Löwenstein - Jensen para el aislamiento de *M. tuberculosis* a partir de muestras de esputo BK (+) en pacientes sin tratamiento antimicrobiano; pues, el tiempo promedio de crecimiento es relativamente menor y el número promedio de colonias es relativamente mayor en el Ogawa en comparación con el Löwenstein -Jensen. Esto debido a que ambos medios contienen ingredientes similares con una relativa variación en las cantidades: Ogawa usa 0.08 mL. más solución de huevo y glicerol (fuente de carbono) que el Löwenstein Jensen, ambos contienen soluciones reguladoras a base de fosfatos, ciertos cationes (hierro y magnesio) en muy bajas concentraciones y en cuanto al nitrógeno el medio Ogawa contiene 0.01g más fuente de nitrógeno (asparagina en el medio Löwenstein-Jensen y glutamato de sodio en el medio Ogawa), Además ambos contienen verde de malaquita que actúa como inhibidor de la flora asociada cuya cantidad se encuentra relativamente

mayor en el medio Ogawa. A diferencia del tipo de crecimiento donde sí existe diferencia significativa, ya que, el crecimiento eugónico se

presenta en mayor porcentaje que en el medio Löwenstein-Jensen.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye que:

- * Los medios Ogawa y Löwenstein-Jensen presentan la misma efectividad en el aislamiento de *M. tuberculosis*, es decir, pueden ser utilizados indistintamente para tal fin.
- * El medio Ogawa favorece el aislamiento de *M. tuberculosis* a partir de muestras de esputo BK (+) con menor porcentaje de contaminación,

menor tiempo promedio de crecimiento y mayor número de colonias, que con el medio Löwenstein-Jensen, pero sin una diferencia estadísticamente significativa.

- * El medio Ogawa favorece significativamente el crecimiento eugónico (colonias más grandes, forma típica en coliflor y borde irregular) de *M. tuberculosis* a partir de muestras de esputo BK (+) en comparación con el medio Löwenstein - Jensen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mims, C.; J. Playfair; I. Roitt, D. Waake Lin and R. Willians. Microbiología Médica. Edit. Mosby/Doyma Libros. Madrid. España. 1995.
2. Koneman, E., S. Allen; V. Dowel; W. Janda; H. Sommers y W. Winn. Diagnóstico Microbiológico. Y ed. Edit. Médica Panamericana Bs. As. Argentina. 1992.
3. Hernández, C.; Zamora, F.; Gómez, M. y Villarroel, M. Recuperación de micobacterias mediante el uso de dos diferentes medios de cultivo. Sección de Bacteriología, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela. 2000
4. Ilczyszyn, G. Y J., Gurí. Tuberculosis la enfermedad re-emergente con mayor incidencia entre los jóvenes. Informe especial del Noveno Congreso Internacional de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires Argentina. 2000. <http://www.cdc.gov/spanish/default.htm>.
5. López, M.; Vélez, C.; Zuluaga, L. y col. Evaluación de medios de cultivo alternativos para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín. Colombia. Infection. 5(4):235-240. 2001. <http://www.infectio.org/v5n4/art4/4.html>.
6. Moran, E. y Lazo, Y. Tuberculosis. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana. Facultad de Estomatología. Revista cubana estomatológica; 38(1):33-51. 2001.
7. Asencios, L.; N. Quispe., H. Sanabria y A. Yit. Manual de Normas y Procedimientos en Bacteriología de Tuberculosis. (Zavaleta, A; Chang, J; Vigil, L., Eds). Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Laboratorios de Salud Pública. Red Nacional de Laboratorios. Laboratorios de Referencia de Mycobacterias. Serie de Normas Técnicas N° 10. Lima, Art. Lautre. 1995.
8. Díaz, José. Juntos Debemos Vencer a la Tuberculosis. Informe especial del Diario La Industria en coordinación con el Programa de Tuberculosis de la Dirección Regional de Salud. 1998.
9. Casal, M.; A. Guerrero; N. Martín; S. Moreno y C. Nogales. Diagnóstico Microbiológico de las Infecciones por *Mycobacterias*. 1999. <http://www.Seimc.org/iprotocolos/cgp9.htm>.
10. Oficina panamericana de la salud. Definiciones de casos: Tuberculosis. Boletín Epidemiológico 21(1);, 2000. <http://www.paho.org/Spanish/SHA/bev21nl-casos.htm>.
11. Valenzuela, P. Metodología de la investigación científica. Edit. Biociencia. UNT. Trujillo. Peru. 2000.
12. Ministerio de salud. El laboratorio de la salud publica frente a la emergencia de la tuberculosis resistente. Instituto Nacional de Salud. Documento técnico No 3: Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. Lima, NRC Corporación grafica S.A.C. 72 pags. 2001
13. Brock, Thomas y Michael, Madigan. Microbiología. Sexta edición. Editorial Prentice may Hispanoamericana S.A. México. 1993.
14. Farga, V. Otras técnicas diagnosticas de la tuberculosis. Edit. El manual moderno. Chile. 2002.
15. Flores L.; R. Jaspe y Y. Rojas. Evaluación del cultivo por el método Ogawa-Kudoh en el diagnóstico de la tuberculosis. Escuela de Bioanálisis. UCIV. Instituto de Biomedicina. Laboratorio de Tuberculosis. Caracas Venezuela. <http://www.med.ucv.ve/Paizes/BioBiblio.html>.
16. Universidad Católica de Manzanares. Estudio comparativo entre los medios de cultivo Löwenstein-Jensen y Ogawa-Kudoh. Resumen del trabajo realizado en el Hospital Universitario Santa Sofía, para optar el título de Bacterióloga y Laboratorista Clínica de la Corporación Universidad Católica de Manzanares. 1999
17. López A., Francisco J.. Usos y efectos del bacilo *Mycobacterium bovis* Calmette-Guerin. Salud pública de México. 39(2): 1997
18. <http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulo.asp?archivo=v8e1a3.html&vol=8&ed=1&idarticulo=3>
19. Griffith D. 1998. Mycobacteria as Pathogens of Respiratory Infection. Infectious Disease Clinics of North America. 12(3): 593-600.