

## Evaluación del método de Petroff modificado con solución salina para el diagnóstico de micobacterias en el sistema Bact/Alert 3D

Assessment of Petroff method modified with saline solution for the diagnosis of mycobacteria in Bact/Alert 3D system

Grechen Caridad García León<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7338-2378>

María Rosarys Martínez Romero<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5947-732X>

Misleidis Sardiñas Aragón<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9798-5031>

Lilian M. Mederos Cuervo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7431-2216>

Raúl Díaz Rodríguez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9107-124X>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de Tuberculosis, Lepra y Micobacterias, Centro Colaborador OPS/OMS. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [grechengl@ipk.sld.cu](mailto:grechengl@ipk.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** Existen diferentes métodos de descontaminación de muestras pulmonares para el diagnóstico de micobacterias. El Programa Nacional de Control de Tuberculosis recomienda el método de Petroff modificado con solución salina, pero no existen evidencias documentadas que avalen este método.

**Objetivo:** Evaluar el método de Petroff modificado con solución salina para el diagnóstico de micobacterias en el sistema Bact/Alert 3D.

**Métodos:** Se realizó un estudio observacional analítico de pruebas diagnósticas utilizando 100 muestras pulmonares recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de Tuberculosis, Lepra y Micobacterias del Instituto “Pedro Kourí”, abril 2016 enero 2017. La muestra se dividió en 3 alícuotas y se descontaminaron mediante 3 métodos; luego se inocularon en los medios de cultivo sólido y líquido. Se compararon los resultados del cultivo en cuanto: tiempo

de detección de crecimiento, tasa de contaminación, % de positividad, además se calcularon indicadores de desempeño.

**Resultados:** Al comparar el método Petroff modificado con solución salina con el Petroff modificado con solución fosfato en Löwenstein Jensen, el tiempo de detección de crecimiento, % de positividad y la tasa de contaminación se comportaron de forma similar y la sensibilidad (93,75 %), concordancia (96,47 %) e índice de Youden (0,91) fueron elevadas. Al compararlo el Petroff modificado con solución salina con el N-Acetil-L-Cisteína, las variables no mostraron diferencias significativas y los Indicadores de Desempeño se comportaron por encima del 93 %, para el medio sólido y líquido.

**Conclusiones:** Los resultados avalan la continuidad del uso del Petroff modificado con solución salina como método de descontaminación de las muestras pulmonares en la red de laboratorios de Cuba y como alternativa en el pretratamiento de las muestras para el medio líquido (Bact/Alert 3D), además constituye un soporte para el “Programa Nacional de Control de Tuberculosis”.

**Palabras clave:** Petroff modificado con solución salina; Petroff modificado con solución fosfato; N-acetil-L-cisteína; cultivo; Löwenstein Jensen; Bact/Alert 3D.

## ABSTRACT

**Introduction:** There are different decontamination methods of pulmonary samples for the diagnosis of mycobacteria. The National Program for the Control of Tuberculosis recommends Petroff method modified with saline solution; but there are not documented evidences that endorse it.

**Objective:** Assess Petroff method modified with saline solution for the diagnosis of mycobacteria in Bact / Alert 3D system.

**Methods:** An observational analytic study of diagnostic tests was conducted; there were used 100 pulmonary samples received in the National Laboratory of References and Researches of Tuberculosis, Leprosy and Mycobacteria of ‘ ‘ Pedro Kourí ‘ ‘ Institute, from April 2016 to January 2017. The sample was divided in 3 aliquots and those were decontaminated using 3 methods; then, they were inoculated in the solid and liquid culture means. Cultures´ results were compared according to: growth’s detection time, contamination rate, % of positivity; in addition, performance indicators were calculated.

**Results:** When comparing Petroff method modified with saline solution with Petroff method modified with phosphate solution in Löwenstein Jensen, the growth’s detection time, the % of positivity and the rate of contamination behaved similarly, and sensitivity (93,75%), concordance (96,47%) and Youden´s index (0,91) were high. When the Petroff method modified with saline solution was compared with N-Acetil-L- Cisteina, the variables did not show significative

differences and the behaviour indicators were over 93% for the solid and liquid mean.

**Conclusions:** The results endorse the continuity of the use of Petroff method modified with saline solution as a decontamination method of pulmonary samples in the network of Cuban laboratories and as alternative to the pre-treatment of the samples for the liquid mean (Bact/Alert 3D); it also constitutes a support for the National Program for the Control of Tuberculosis.

**Keywords:** Petroff method modified with saline solution; Petroff method modified with phosphate solution; N-acetil-L-cisteina; culture; Löwenstein Jensen; Bact/Alert 3D.

Recibido: 04/02/2020

Aceptado: 23/12/2020

## Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Esta enfermedad constituye un grave problema de salud pública a nivel mundial y cerca de del 95 % de los casos nuevos y el 98 % de las defunciones anuales se reportan en países en vías de desarrollo.<sup>(1)</sup>

El diagnóstico de la TB puede hacerse en el laboratorio demostrando la presencia de bacilos en la muestra por medio de la baciloscopia (BK) (diagnóstico presuntivo) y el cultivo (diagnóstico confirmatorio). El cultivo es más sensible que la BK, pues detecta una menor concentración bacilar (mínimo de 10 bacterias viables por mL de esputo) y es la prueba de referencia para el diagnóstico confirmatorio de la enfermedad.<sup>(2,3)</sup>

*Mycobacterium tuberculosis* es de crecimiento lento, por lo que las colonias en el medio sólido Löwenstein Jensen (LJ) comienzan a hacerse visibles a partir de la tercera o cuarta semana de incubación. A esto se le añade que, para realizar el procesamiento de las muestras procedentes de sitios no estériles, se necesita la descontaminación para eliminar la microbiota normal que impediría el desarrollo de las micobacterias, por lo que el diagnóstico es laborioso y demorado.<sup>(4,5)</sup>

Existen varios métodos de descontaminación para el procesamiento de las muestras pulmonares para el cultivo, que pueden ser utilizados según los recursos de cada laboratorio. Entre ellos se puede citar, Petroff modificado con solución fosfato (PMSF),<sup>(3)</sup> Petroff modificado con solución salina (PMSS), el de agitación y

precipitación lenta de Valdivia, Kudoh-Ogawa, el de NALC- hidróxido de sodio, entre otros.<sup>(6)</sup>

En la red de laboratorios de TB de Cuba se utiliza como medio de cultivo para micobacterias el LJ. Sin embargo, en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de Tuberculosis, Lepra y Micobacterias (LNRI-TBLM) del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” está disponible también el cultivo líquido BACT/ALERT<sup>®</sup>MP (para el sistema automatizado Bact/Alert 3D).

En Cuba, para la descontaminación de las muestras pulmonares, se recomienda por el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PNCTB) el uso del PMSS, antes de la inoculación a ambos métodos de cultivo. Sin embargo, en el país no existen evidencias documentadas de la concordancia de este método con los recomendados por las normas internacionales. Además, hasta la fecha del presente estudio no se había podido validar el método PMSS por falta de insumos y reactivos necesarios. El LNRI-TBLM está inmerso en la implementación de un sistema de gestión de calidad. Como exigencia propia del laboratorio, se propuso realizar este estudio para poder disponer de evidencias objetivas que avalen su utilización y que cumpla con los requisitos para el uso específico propuesto.

En las últimas décadas, la introducción de nuevas técnicas en los laboratorios de micobacteriología ha estado encaminada a lograr el diagnóstico y detección de micobacterias en muestras clínicas pulmonares y extrapulmonares en un menor tiempo. Por lo que se han desarrollado varios sistemas automatizados para la detección del crecimiento de micobacterias en medio líquido, como el sistema Bact/Alert 3D,<sup>(7,8,9)</sup> con el que cuenta el LNRI-TBLM para el cultivo de micobacterias, el que es altamente sensible y no invasivo. Como método de descontaminación de las muestras no estériles, utiliza el NALC-hidróxido de sodio (NALC-NAOH), según lo recomendado por el fabricante, pero este resulta muy caro para países de bajos y medianos recursos económicos.<sup>(6,10,11)</sup>

El objetivo de este trabajo es evaluar el método de Petroff modificado con solución salina para el diagnóstico de micobacterias en el sistema Bact/Alert 3D.

## Métodos

Se realizó un estudio observacional analítico de pruebas diagnósticas. El universo estuvo conformado por todas las muestras pulmonares de pacientes con sintomatología respiratoria por más de 21 días, recibidas en el LNRI-TBLM-IPK, durante el periodo comprendido entre abril de 2016 y enero de 2017. Fueron

excluidas en este periodo de estudio todas las muestras que llegaron al laboratorio derramadas o no identificadas adecuadamente, las muestras extrapulmonares y las muestras pulmonares que el volumen fuera inferior a 6 mL. Del total de muestras recibidas, solo 100 cumplieron el criterio de inclusión.

*Procesamiento de las muestras:* las muestras se procesaron según los procedimientos técnicos de operación del laboratorio y aprobados por el Programa Nacional de Control.<sup>(6)</sup> Primeramente, se realizó la BK. Luego la muestra se dividió en 3 alícuotas: para realizar la evaluación del método de descontaminación de PMSS (comparado con el PMSF); la comparación entre el método PMSS y el del NALC-NAOH. Las muestras procesadas por los tres métodos de descontaminación se inocularon en medios de cultivo sólido y líquido (BACT/ALERT<sup>®</sup>MP). Para la validación del método se realizó la descontaminación de las muestras utilizando como agente neutralizante la solución salina fisiológica y la solución fosfato (que recomienda la OMS y OPS).<sup>(6,12)</sup>

Descontaminación por el método de PMSS<sup>(6)</sup>: por cada 2 mL de muestra, se adicionaron 2 mL de NaOH al 4 %, se homogenizó exhaustivamente (por vórtex) y se dejó reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó a 3000 gravedades (g) durante 15 min y luego se decantó el sobrenadante. Se agregaron 15 mL de solución salina fisiológica y se centrifugó nuevamente a 3000 x g durante 15 min y se decantó el sobrenadante. El sedimento se resuspendió en 2 mL de solución salina fisiológica.

La descontaminación de las muestras por los métodos de PMSF<sup>(3)</sup> y NALC-NAOH,<sup>(13,14,15)</sup> se realizó de acuerdo a las normas internacionales.

*Inoculación en medio sólido Lowestein Jensen (L-J):* se inocularon 0,2 mL del sedimento disuelto en dos tubos de LJ y se incubaron a 37 °C. Se realizó la lectura semanal durante ocho semanas. En los tubos donde se observó crecimiento se les realizó tinción de Zielh Neelsen para confirmar la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR). En el caso que la tinción diera positiva a BAAR se realizó la codificación del cultivo, según el número de colonias presentes.<sup>(3)</sup> La identificación en especie se efectuó utilizando una tira inmunocromatográfica SD BIOLINE.<sup>(16)</sup>

*Inoculación en medio líquido BACT/ALERT<sup>®</sup>MP:* Se inocularon 0,5 mL de la muestra previamente descontaminada en una botella con medio líquido BacT/Alert MP, y se cargó en el equipo BacT/Alert 3D. A las botellas presuntas positivas se les realizó tinción de Ziehl-Nielsen (ZN) para confirmar la presencia de BAAR. A las botellas BAAR+ se les hizo la prueba de identificación por la tira SD BIOLINE.<sup>(16)</sup>

*Identificación del complejo M. tuberculosis por la tira inmunocromatográfica SD BIOLINE:* se adicionaron 100 µL de la botella BacT/Alert MP presunta positiva a micobacterias y se esperó 15 minutos para dar el resultado final. La interpretación de la prueba se realizó según las indicaciones del fabricante.<sup>(16)</sup>

*Análisis estadístico de los resultados y cálculo de los parámetros de desempeño del método de Petroff modificado con solución salina como agente neutralizante:* se recogió la información y confeccionó una base de datos en el programa Microsoft EXCEL XP. Se realizaron las tablas utilizando el mismo programa estadístico. Los resultados se presentaron en tablas de frecuencia y se elaboraron tablas de contingencia entre variables. Para el análisis estadístico de los resultados y cálculo de los parámetros de desempeño se utilizó el programa para análisis epidemiológico de datos tabulados EpiDATA (por sus siglas en inglés), versión 3.1 (EpiData Association, Dinamarca), con un intervalo de confianza del 95 %. Para el cálculo de los indicadores de desempeño no se incluyeron los cultivos contaminados.

*Aspectos éticos:* El protocolo de esta investigación fue evaluado y aprobado por la Comisión Científica Especializada de Microbiología (36-17) y el Comité de Ética de Investigación-IPK (código de aprobación: CEI-IPK 95-17). Por el tipo de estudio que se realizó no se requirió de consentimiento informado de los pacientes que intervinieron en el estudio. El personal médico, tuvo derecho a conocer los resultados derivados del diagnóstico. Los nombres de los pacientes involucrados se mantuvieron de manera confidencial.

## Resultados

El mayor número de muestras estudiadas correspondieron a esputos 94 (94 %), seguidas de lavados bronquiales 4 (4 %), secreción bronquial 1 (1 %) y broncoscopia 1 (1 %). El 87 % (87) de las muestras procesadas correspondieron a personas que viven con el VIH.

El tiempo de detección de crecimiento (TDC) y el % de positividad se comportaron de forma muy similar para las muestras descontaminadas con PMSS y PMSF. La tasa de contaminación (TC) fue ligeramente menor cuando se utilizó el PMSS (9 %) comparado con el PMSF, diferencia no significativa ( $p = 0,8183$ ). En la tabla 1 se muestra la comparación de los resultados del cultivo sólido en Löwenstein Jensen utilizando los métodos de descontaminación de PMSS y PMSF.

Al tomar la prueba de comparación de medias, considerando que las varianzas son iguales, se concluyó que el TDC promedio para el cultivo sólido utilizando el PMSS y PMSF no son significativamente diferentes ( $p = 0,9358$ ).

**Tabla 1** - Comparación de los resultados del cultivo sólido en Löwenstein Jensen utilizando los métodos de descontaminación de Petroff modificado con solución salina y de Petroff modificado con Solución Fosfato (LNRI-TBLM, IPK, 2016 - 2017)

Variables	Método de Petroff modificado		p
	Solución salina	Solución fosfato	
Tiempo de detección de crecimiento	33,7 días	33,6 días	0,4985
% positividad a micobacterias	17	16	1,000
% tasa de contaminación	9	11	0,8137

Los indicadores de desempeño del PMSS comparado con el PMSF fueron superiores al 93 %: sensibilidad 93,75 %, especificidad 97,10 % y concordancia 96,47 %. El índice de Youden fue mayor de 0,75 (0,91) (Tabla 2).

**Tabla 2** - Indicadores del método de descontaminación de Petroff modificado con solución salina en el medio sólido Löwenstein Jensen LNRI-TBLM, IPK, 2016 - 2017

Indicadores	Petroff modificado solución salina
Sensibilidad (%)	93,75
Especificidad (%)	97,10
Concordancia (%)	96,47
Valor predictivo positivo (%)	93,75
Valor predictivo Negativo (%)	98,53
Índice de Youden	0,91

En la tabla 3 se muestra la comparación entre los métodos de PMSS y NALC. El TDC (33,7 días) por el PMSS fue ligeramente inferior que al utilizar el NALC (37,3 días) como agente descontaminante de las muestras pulmonares para ser inoculadas posteriormente en el LJ. El % de positividad y el TC se comportaron de manera similar. Es importante resaltar que por el PMSS se obtuvo un aislado más que por el NALC y la TC fue menor comparada con el NALC.

**Tabla 3** - Comparación de los resultados del cultivo sólido en Löwenstein Jensen utilizando los métodos de descontaminación de Petroff modificado con solución salina y NALC LNRI-TBLM, IPK, 2016-2017

Variables	Métodos de descontaminación		p
	PMSS	NALC	
Tiempo de detección de crecimiento	33,7 días	37,3 días	0,4277
% positividad a micobacterias	17	16	1,0000
% Tasa de contaminación	9	12	0,6446

Nota: PMSS, Petroff modificado con solución salina; NALC: N-Acetil-L-Cisteína.

También se compararon los resultados del uso de los métodos de descontaminación de PMSS y el NALC, pero en el cultivo en medio líquido (Bact/Alert MP), similar a lo ocurrido con el medio sólido, el TDC, el % de positividad y la TC no mostraron diferencias significativas al obtenerse un valor de  $p > 0,05$  para todas las variables comparadas (Tabla 4).

**Tabla 4** - Comparación de los resultados del cultivo líquido Bact/Alert MP utilizando los métodos de descontaminación de Petroff modificado con solución salina y NALC. LNRI-TBLM, IPK. 2016 - 2017

Variables	Métodos de descontaminación		p
	PMSS	NALC	
Tiempo de detección de crecimiento	10,72 días	12,21 días	0,3145
% positividad a micobacterias	17 %	15 %	0,8471
% Tasa de Contaminación (TC)	5 %	8 %	0,5662

Nota: PMSS, Petroff modificado con solución salina; NALC: N-Acetil-L-Cisteína.



En esta investigación el TDC promedio utilizando el PMSS y el NALC como métodos de descontaminación para el medio de cultivo líquido (Bact/Alert MP) fue de 10,7 y 12,2 días, respectivamente. Al comparar las varianzas no existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,3145$ ). Al tomar la prueba de comparación de medias en el supuesto de que las varianzas son iguales se concluyó que las media del TDC entre el cultivo en medio líquido donde se utilizaron los dos métodos de descontaminación no son significativamente diferentes ( $p = 0,2864$ ).

La proporción de verdaderos cultivos positivos a micobacterias para los métodos PMSS y NALC-NAOH en el cultivo en LJ y en BACT/ALERT<sup>®</sup>MP fue de 17,647 y 15,909 respectivamente. Sin embargo, al compararlos no existieron diferencias significativas ( $p = 0,9185$ ). Es importante señalar que con el método PMSS (tanto en cultivo sólido como en el líquido) se obtuvo mayor número de aislados en relación al NALC-NAOH, que es el recomendado por Biomeriux empresa productora del sistema automatizado Bact/Alert 3D.<sup>(11)</sup>

En la tabla 5, se muestra la comparación de los resultados de los indicadores de desempeño (ID) de los métodos de descontaminación PMSS y NALC-NAOH en medio de cultivo sólido y líquido (BACT/ALERT<sup>®</sup>MP). Los ID del PMSS fueron similares para ambos medios de cultivo, como se describe en la tabla, pero superiores en relación con el NALC. El IY fue superior por el PMSS comparado con el NALC-NAOH, tanto para el LJ (0,91) como para el BACT/ALERT<sup>®</sup>MP (0,89).

**Tabla 5** - Comparación de los indicadores entre los métodos de Petroff modificado con solución salina y NALC en los medios de cultivo LJ y BACT/ALERT<sup>®</sup>MP LNRI-TBLM, IPK, 2016- 2017

Indicadores	Löwenstein Jensen		Bact ALERT 3D	
	PMSS	NALC	PMSS	NALC
Sensibilidad (%)	93,75	88,24	93,33	82,35
Especificidad (%)	97,10	98,53	95,89	98,59
Concordancia (%)	96,47	96,47	95,45	95,45
VPP (%)	93,75	88,24	82,35	93,33
VPN (%)	98,53	97,10	98,59	95,89
Indice de Youden	0,91	0,87	0,89	0,81

Nota: PMSS, Petroff modificado solución salina; NALC: N-Acetil-L-Cisteína;

VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo.

## Discusión

En el diagnóstico de micobacterias las muestras pulmonares no son estériles por lo que se necesita una descontaminación previa antes de su inoculación en los medios de cultivos (líquido y sólido). Existen diferentes métodos de descontaminación que pueden ser utilizados según los recursos de cada laboratorio de la red. En la actualidad, existen escasos reportes en la literatura internacional que comparen diferentes métodos de descontaminación para micobacterias, incluyendo el PMSS con el NALC-NAOH, ya sea en medio líquido (BACT/ALERT®MP) como en el sólido. También se encontraron escasos reportes que comparen el PMSS y PMSF en medio sólido, por lo que este estudio constituye un aporte al conocimiento en esta temática.

Al comparar el PMSS con el PMSF (método de descontaminación recomendado por las normas internacionales,<sup>(3)</sup> en el medio sólido, se obtuvo una TDC (33,7 días) similar a lo reportado por *Martínez* y otros en el año 2014, que utilizaron el PMSS y obtuvieron un TDC promedio de 33,577 días para el LJ. Pero en ese estudio abarcó mayor número y varios tipos de muestras clínicas, incluyendo las extrapulmonares y no incluyó otros métodos de descontaminación,<sup>(17)</sup> por lo que la comparación pudiera tener sesgo. En cuanto al porcentaje de aislados, aunque no existieron diferencias significativas, se obtuvo un aislado más utilizando el PMSS en comparación con el PMSF.

*Chaudhary* y otros, en 2013 encontraron resultados similares al evaluar estos dos métodos a partir de 50 muestras con BK positiva y obtuvieron mejores resultados para la recuperación de *Mtb* con el PMSS.<sup>(18)</sup> Sin embargo, la TC (9 %) en el presente trabajo fue inferior a lo informado por *Tripathi* y otros en 2014, en una investigación conducida en India, donde estudiaron 225 muestras pulmonares y tuvieron el 12 % de contaminación con el PMSS,<sup>(19)</sup> resultados similares a los obtenidos por *Chaudhary* y otros en el 2013 con un 8,3%.<sup>(18)</sup>

En el presente estudio, la sensibilidad obtenida con el PMSS en el medio sólido LJ (93,75 %) fue similar a lo que reportaron *Ganoza* y otros<sup>(20)</sup> en 2008 cuando analizaron 106 muestras pulmonares inoculadas en medio LJ utilizando el PMSS como método de pretratamiento, y obtuvieron un valor de 95,2%. En una revisión realizada por *Zingue* y otros en 2013 en Burkina Faso, sobre la sensibilidad de varios métodos de descontaminación para muestras pulmonares, concluyeron que para el cultivo en LJ utilizando el PMSS, la sensibilidad promedio estuvo alrededor de 60 %. Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron superiores a los reportados por estos autores.<sup>(21)</sup>

El PMSS es un método simple, menos costoso y se considera como un candidato potencial para ser evaluado por los programas nacionales control de la TB en países de escasos recursos económicos.<sup>(22,23)</sup> Por otro lado, el porcentaje de cultivos positivos y la fluidificación de las muestras dan mejores resultados al tratar el esputo con este procedimiento. También se compararon los resultados del cultivo sólido en LJ utilizando como métodos de descontaminación el PMSS y el NALC.

La TC con el PMSS encontrada en este trabajo (9 %) fue similar a la reportada por *Chaudhary* y otro,<sup>(18)</sup> en India en 2013, que obtuvieron un 8,3 % de contaminación (por este método). Pero inferior a los de *Tripathi* y otros<sup>(19)</sup> en 2014 (también en India), quienes estudiaron 225 muestras pulmonares y obtuvieron un 12 % de contaminación, aunque este estudio solo comparó los métodos Petroff simple y el PMSS.

Con el método de NALC se obtuvieron en esta investigación valores superiores (12 %) a lo obtenido por *Amer* y otros con una tasa del 6,7 %.<sup>(24)</sup> Al comparar los métodos de descontaminación de PMSS y el NALC, pero en medio líquido (BACT/ALERT<sup>®</sup>MP), los resultados de las variables analizadas tuvieron resultados similares: el TDC, el % de positividad y la TC no mostraron diferencias significativas al obtenerse un valor de  $p > 0,05$ . Existen escasos reportes a nivel mundial que comparen diferentes métodos de descontaminación, incluyendo el PMSS con el NALC, en cuanto al tiempo promedio de detección de crecimiento (TDC) de micobacterias en medio líquido.

El TDC obtenido en esta investigación (10,72 días) es inferior a lo reportado por *Martínez* y otros. En Cuba en el año 2014, quienes utilizaron el PMSS como método pretratamiento para muestras no estériles tuvieron un TDC promedio de 16,435 días para el BACT/ALERT<sup>®</sup>MP, pero abarcó mayor número y varios tipos de muestras clínicas, incluyendo las extrapulmonares y no compararon con otros métodos de descontaminación.<sup>(17)</sup> En cuanto al uso del NALC, los resultados son menores (12,21 días) a los reportados por *Amer* y otros<sup>(24)</sup> que lograron por el BACT/ALERT<sup>®</sup>MP 14,2 días. No hubo diferencias entre la media del TDC de los aislados utilizando los métodos de descontaminación de PMSS y NALC en el medio líquido. Esto avala al método de PMSS como una alternativa en la descontaminación de muestras pulmonares que luego se inocularán en botellas con BACT/ALERT<sup>®</sup>MP, donde el fabricante solo recomienda el método NALC.

Aunque no existieron diferencias estadísticamente significativas entre la proporción de cultivos positivos de muestras pulmonares que fueron descontaminadas con PMSS e inoculadas en el medio de cultivo LJ vs. cultivo líquido BACT/ALERT<sup>®</sup>MP ( $p = 0,9185$ ), es importante señalar que tanto para el

cultivo sólido como el líquido se obtuvo mayor número de aislados. Los sistemas automatizados de cultivo, como el Bact/Alert 3D utilizan antibióticos liofilizados reconstituidos para disminuir la contaminación bacteriana. Para este sistema, según la literatura internacional, debe utilizarse el sedimento de las muestras que han sido previamente descontaminadas por el método de NALC, sin embargo, algunos estudios han reportado TC elevadas con este método.<sup>(9)</sup>

El método de descontaminación con NALC-NAOH es el recomendado para muestras no estériles por las normas internacionales.<sup>(9,19)</sup> Es quizás el método más comúnmente utilizado en la mayoría de los laboratorios de países desarrollados por su rapidez y relativa eficacia en reducir el número de contaminantes.<sup>(25)</sup> No obstante, tiene como desventaja que se pierde actividad del NALC-NAOH rápidamente si se prepara la solución y se deja por varios días. Por otro lado, el tiempo de exposición debe ser vigilado estrictamente y algunos reactivos, tales como la albúmina bovina, y otros insumos son muy caros y de difícil adquisición para países de escasos recursos económicos.<sup>(19)</sup>

La sensibilidad del PM SS para el medio sólido obtenida en este estudio fue elevada (93,75 %). Resultados similares informaron *Ganoza* y otros en Perú<sup>(20)</sup> en 2008 (95,2 %), pero difieren (88,24%) en la sensibilidad utilizando el método de NALC-NAOH (76,2 %). También fue superior a lo publicado por *Amer* y otros<sup>(24)</sup> en 2016 quienes obtuvieron una sensibilidad del 71,9 % con este método. La sensibilidad para el cultivo líquido BACT/ALERT<sup>®</sup>MP con el PMSS en este estudio fue inferior (82,35 %) a lo reportado por *Amer* y otros, que informaron el 100 %.<sup>(24)</sup> Esta diferencia pudiera estar dada a que este último estudio se realizó en África, región de alta carga de TB y que fue realizado a 60 pacientes con clínica y radiografía altamente sugestivas de TB pulmonar por tanto, había una alta probabilidad de que los casos estudiados presentaran la enfermedad y la positividad del cultivo fuera elevada.

En Cuba se han realizado varios estudios donde se calcularon los indicadores de desempeño para el sistema Bact/Alert 3D utilizando el PMSS como método de descontaminación. Los resultados de este trabajo son inferiores a lo descrito por *Martínez* y otros en 2012.<sup>(9)</sup> Ellos obtuvieron valores de sensibilidad (97,75 %), especificidad (98,44 %) e índice de Youden (0,92) elevados e incluso superiores a lo reportado por este grupo de autores en 2015 (sensibilidad 99,1 %, especificidad 99,0 % e índice de Youden 0,98).<sup>(5)</sup> Sin embargo, fueron similares a lo reportado por *Mederos* y otros. en 2016, que incluyeron 547 muestras pulmonares y extrapulmonares utilizando el mismo método de pretratamiento y lograron valores de sensibilidad, concordancia, e índice de Youden del 90,91 %; 94,48 % y 0,89, respectivamente.<sup>(26)</sup> En estos estudios anteriores en Cuba se analizaron más muestras clínicas y se incluyeron extrapulmonares.

Se concluye que los resultados de esta investigación avalan el empleo del PMSS como método de descontaminación de muestras pulmonares en los laboratorios de TB de Cuba y como alternativa en el pretratamiento de las muestras para la inoculación en el medio líquido BACT/ALERT®MP empleado en el sistema automatizado Bact/Alert 3D. Este trabajo constituye un soporte para el PNCTB que recomienda su uso en la red de laboratorios del país.

### Agradecimientos

A los funcionarios del Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Cuba.

## Referencias bibliográficas

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2014 (WHO/HTM/TB/2014.08). Geneva, Switzerland: WHO; 2014 [acceso 20/06/2017] Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/137094>
2. Organización Panamericana de la Salud. Normas y Guía Técnica. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte I Baciloscopía. Washington DC: OPS; 2008. p.8 [acceso 20/06/2017]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/782>
3. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Normas y Guía Técnica. Parte II Cultivo. Washington DC: OPS; 2008. p. 10. [acceso 20/06/2017]. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/18616>
4. Essential components of a tuberculosis program: recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. MMWR Recomm Rep. 1995;44(11):1-16.
5. Martínez Romero MR, Sardiña Aragón M, García León G, Mederos Cuervo L, Díaz Rodríguez R. Nuevas herramientas para el diagnóstico de la tuberculosis. Rev Cubana Med Trop. 2015 [acceso 20/06/2017];67(1):41-9. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602015000100005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602015000100005&lng=es)

6. Resolución Ministerial No. 277. Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de Normas y Procedimientos. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 2013.
7. Piersimoni C, Scarparo C, Callegaro A, Passerine Tosi C, Nista D, Bornigia S, *et al.* Comparison of MB/BacT ALERT 3D system with radiometric BACTEC system and Löwenstein-Jensen medium for recovery and identification of mycobacteria from clinical specimens: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2001;39(2):651-7.
8. Solorzano A, Soria I, Roman J, Huertas P, Soto MJ, Piedrola G, *et al.* Comparative evaluation of three culture methods for the isolation of mycobacteria from clinical samples. *J Microbiol Biotechnol.* 2009;19:1259-64.
9. Martínez Romero MR, Sardiña Aragón M, García León G, Mederos Cuervo L, Vega Riverón B, Díaz Rodríguez R. Evaluación del sistema automatizado BacT ALERT 3D para el aislamiento de micobacterias en el LNRTB-IPK. *Neumol Cir Torax.* 2012;71(4):333-8.
10. Marcano-Vásquez ME, Andreína Ramírez I, Da Mata-Jardín OJ, Fernández-Figueiras S. Comparación del sistema BacT/ALERT® 3D con los métodos de cultivo Lowenstein Jensen y Ogawa-Kudoh para el aislamiento de micobacterias. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2016 [acceso 20/09/2021];36(1):4-9. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562016000100003&lng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562016000100003&lng=en)
11. Customer Training Manual: Mycobacterial Testing With BacT/ALERT® Systems and Media. Global Customer Support K5 31JAN09. Biomérieux; 2009 [acceso 20/06/2017]. Disponible en: <https://manualzz.com/doc/6942932/mycobacterial-testing-with-bact-alert%C2%AE-systems-and-media>
12. Kubica GP, Kaufmann AJ, Dye WE. Comments on the use of the new mucolytic agent, n-acetyl-l-cysteine, as a sputum digestant for the isolation of mycobacteria. *Am Rev Respir Dis.* 1964;89:284-6.
13. Kubica GP, Dye WE, Cohn ML, Middlebrook G. Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide for culture of mycobacteria. *Am Rev Respir Dis.* 1963;87:775-9.
14. Cernoch PL, Enni RK, Saubolle MA, Wallace RJ, Weissfeld AS (ed); *Laboratory Diagnosis of the Mycobacteriosis; Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology.* Washington DC.: American Society of Microbiology. 1994. p. 8.

15. Krasnow I, Wayne LG. Sputum digestion. The mortality rate of tubercle bacilli in various digestion systems. *Amr J Clin Path.* 1966;(45):284-8.
16. Dinesh Babu R, Arun Kumar P, Purohit HK, Shivashri C. Rapid Detection of Mycobacterium tuberculosis by using MPT64 Immunochromatographic Assay. *J Med Microb Diagn* 2018;7(3):282. DOI: [10.4172/2161-0703.1000282](https://doi.org/10.4172/2161-0703.1000282)
17. Martinez MR, Sardiñas M, Garcia G. Mederos LM, Díaz R. Evaluation of BacT/ALERT 3D System for Mycobacteria Isolates. *JTR.* 2014;2:59-64.
18. Chaudhary SK, Mishra B. Comparison of hypertonic saline-sodium hydroxide method with modified Petroff's method for the decontamination and concentration of sputum samples. *Int J Infect Microbiol.* 2013;2(3):78-81. DOI: [10.3126/ijim.v2i3.8664](https://doi.org/10.3126/ijim.v2i3.8664)
19. Tripathi K, Tripathi PC, Nema S, Shrivastava AK, Dwiwedi K, Dhanvijay AK. Modified Petroff's Method: an Excellent Simplified Decontamination Technique in Comparison with Petroff's Method. *Int J Recent Trends Sci Technol.* 2014 [acceso 20/06/2017];10(3):461-4. Disponible en: [https://statperson.com/Journal/ScienceAndTechnology/Article/Volume10Issue3/10\\_3\\_14.pdf](https://statperson.com/Journal/ScienceAndTechnology/Article/Volume10Issue3/10_3_14.pdf)
20. Ganoza CA, Ricaldi JN, Chauca J, Rojas G, Munayco C, Agapito J, Palomino JC and Guerra H. Novel hypertonic saline-sodium hydroxide (HS-SH) method for decontamination and concentration of sputum samples for *Mycobacterium tuberculosis* microscopy and culture. *J Med Microbiol.* 2008;57:1094-98. DOI: [10.1099/jmm.0.2008/001339-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.2008/001339-0)
21. Zingué D, Hien H, Méda N, Zida S, Kaboré A, Sanou A. Avantages et limites des méthodes de décontamination des expectorations pour le diagnostic de la tuberculose et des résistances aux antituberculeux [Advantages and drawbacks of expectoration decontamination methods for tuberculosis and anti-tuberculosis drug resistance diagnosis]. *Ann Biol Clin.* 2013;71(3):283-91. French. DOI: [10.1684/abc.2013.0815](https://doi.org/10.1684/abc.2013.0815)
22. World Health Organization. Global tuberculosis report 2013. (WHO/HTM/TB/2013.11). Switzerland: WHO; 2013 [acceso 20/06/2017]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/91355>
23. Ricaldi JN, Guerra H. A simple and improved method for diagnosis of tuberculosis using hypertonic saline and sodium hydroxide to concentrate and decontaminate sputum. *Tropical Doctor* 2008;38:97-9.

24. Amer S, Hefnawy AE, Mahmoud M, Okasha H, Gad M. Verification of BacT/ALERT 3D System Results for Detection of *Mycobacterium tuberculosis*. Egyptian J Med Microbiol. 2016;25(4):105-11. [acceso 20/06/2017]. Disponible en: <https://n9.cl/gkltf>
25. Yajko DM, Nassos PS, Sanders CA. Comparison of four decontamination methods for the recovery of *Mycobacterium avium* complex from stools. J Clin Microbiol. 1993;31:302-6. DOI: [10.1128/jcm.31.2.302-306.1993](https://doi.org/10.1128/jcm.31.2.302-306.1993)
26. Mederos Cuervo LM, Martínez Romero MR, Sardiñas Aragón M, García León G, Concepción Acosta CM, Díaz Rodríguez R. Utilidad del cultivo rápido en medio líquido Bact/Alert 3D en el diagnóstico micobacteriano de muestras clínicas. AVFT 2016;35(3):77-81. [acceso 20/06/2017] Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-02642016000300003&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642016000300003&lng=es)

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

*Grechen Caridad García León*: análisis formal; redacción -borrador original; revisión y edición; investigación; metodología; visualización.

*María Rosarys Martínez Romero*: análisis formal; redacción-borrador original; supervisión:

*Misleidis Sardiñas Aragón*: análisis formal; recursos.

*Lilian María Mederos Cuervo*: recursos.

*Raúl Díaz Rodríguez*: adquisición de fondos; administración del proyecto.

### Financiación

“Fortalecimiento del Programa Nacional de Tuberculosis en la República de Cuba” financiado por el Fondo Mundial de lucha contra el sida, la tuberculosis y la malaria. Ronda 7. Proyecto CUB-708-G03-T. 2009-2013.