

MEDIO OGAWA-KUDOH - Cat.01014 RS 2007 RD-0000559

Medio preparado para cultivo y aislamiento de microorganismos del género *Mycobacterium*

INTRODUCCIÓN:

Medio selectivo para aislamiento y cultivo de microorganismos del género *Mycobacterium*. El medio de Ogawa Kudoh preparado por BIOBACTER SAS en tubo es una preparación basada en la recomendación de Kudoh, siguiendo rigurosamente la estandarización que para este medio ha hecho el Instituto Nacional de Salud de Colombia.

El medio se presenta en tubo tapa rosca de 20x125 mm en una superficie inclinada que se inicia a 1 cm del fondo y termina a 2 cm de la boca del tubo. Este medio permite el cultivo de microorganismos del género *Mycobacterium* y es uno de los medios recomendados para aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis*.

COMPONENTES:

1. Caja por 20 tubos
2. Inserto

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

1. Hisopos estériles desechables.
2. Solución estéril de Hidróxido de Na al 4%.
3. Guantes estériles.
4. Tapabocas.
5. Solución de Hipoclorito de Sodio al 2.5% para descarte de material.
6. Tubos de ensayo estériles.

METODOLOGÍA

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El diagnóstico de las infecciones causadas por algunas especies de microorganismos del género *Mycobacterium* presupone el aislamiento e identificación de dichas especies, dentro de las cuales la más importante es la causante de la tuberculosis humana.

El medio de Ogawa - Kudoh es uno de los medios recomendados como útiles a nivel clínico para aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* y en Colombia es el medio más utilizado para este propósito.

El medio básicamente está constituido por un conjunto de sales tales como Citrato de Magnesio, Sulfato de Magnesio, Glutamato de Sodio, Fosfato disódico, Fosfato monopotásico anhidro, además incorpora glicerol, verde de malaquita y homogenizado de huevo; esta mezcla debe tener un pH de 6.4, el medio se dispensa en tubos de 20x125 mm y se coagula inclinado a 78° +/- 2°C. Por 45-60 minutos.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO Y LIMITACIONES DEL MÉTODO

El medio de Ogawa - Kudoh ha sido diseñado para el cultivo selectivo de microorganismos del género *Mycobacterium* cuyo aislamiento está ligado a un proceso patológico como agente etiológico, por tanto la identificación debe ser hecha con todo rigor.

El medio no es selectivo para *Mycobacterium tuberculosis* y por tanto otras micobacterias incluyendo algunas no patógenas pueden crecer.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

El medio de Ogawa - Kudoh en tubo viene listo para ser utilizado.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL REACTIVO

El medio de Ogawa - Kudoh debe conservarse herméticamente cerrado entre 4-8°C. El medio así conservado es estable hasta la fecha señalada en la etiqueta (cuatro meses contados a partir de la fecha final de los reportes de control de calidad).

PROCEDIMIENTO:

El medio básicamente es utilizado a nivel clínico para investigar *Mycobacterium tuberculosis* en caso de sospecha de tuberculosis pulmonar, por tanto, el procedimiento abajo descrito se aplica exclusivamente a muestras de esputo. En caso de otras muestras: pus, orina, LCR, heces, se debe consultar el "Manual de Procedimientos Bacteriología del *Mycobacterium tuberculosis* y de micobacterias no tuberculosas" del Instituto Nacional de Salud Bogotá D.C Mayo del 2001.

1. Muestra de esputo adecuadamente obtenida en el recipiente adecuado.
2. Si no trabaja en cámara estéril tipo II cubra el área de trabajo con papel impregnado de una solución de hipoclorito de sodio al 2.5%.
3. Identifique correctamente los tubos de medio que va a utilizar y coloque la fecha de siembra.
4. Trabajando a la llama de un mechero y usando en todo momento guantes estériles y tapaboca, impregne un escobillón estéril con una capa delgada de la partícula útil de la muestra.

5. Introduzca el escobillón en un tubo que contenga 3 cc de NaOH al 4% deje en reposo durante 2 minutos para asegurar la descontaminación de la muestra.
6. Saque sin escurrir el escobillón y siembre sobre la superficie del medio mediante un movimiento de rotación y presión, use un escobillón para cada tubo, 2 tubos por muestra.
7. Incube los tubos en posición horizontal a 37 °C y con las tapas sin ajustar.
8. Revise los cultivos a la primera semana para determinar si hay ó no contaminación; cierre totalmente las tapas.
9. Continúe la incubación revisando a las 4 y 8 semanas.
10. En caso de crecimiento realice coloración de ZN y realice las pruebas pertinentes de identificación.
11. Si al término de la semana 8 no hay crecimiento informe como negativo el cultivo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS ANALÍTICOS

Al término del periodo de incubación la ausencia de crecimiento bacteriano indica que la muestra procesada no contiene micobacterias. Por el contrario la presencia de colonias circulares amarillentas debe estudiarse con coloración ZN y pruebas complementarias para confirmar el género y la especie, dato de gran importancia para el clínico.

CONTROL DE CALIDAD

El medio de Ogawa - Kudoh esta sujeto a un riguroso control de calidad a lo largo del proceso de producción y al producto final para garantizar esterilidad, consistencia, pH, tersura, color, e inclinación guardando la relación 1-2, igualmente su comportamiento parcialmente inhibitorio para contaminantes usuales del tipo de muestra procesada. Para tal fin se siembra cepas ATCC

Klebsiella pneumoniae 13883
Streptococcus pyogenes SS1264
Streptococcus pneumoniae 49619
Candida albicans 14083
Staphylococcus aureus 25923

Cada lote se controla con una cepa ATCC 6841 DE *Mycobacterium fortuitum* para determinar la calidad del medio frente al género *Mycobacterium*. Ocasionalmente, de acuerdo al cronograma del Instituto Nacional de Salud, se envían contra muestras al azar de lotes para control frente a *Mycobacterium tuberculosis* cepa H37RV.

VALOR DE REFERENCIA:

La presencia ó ausencia de crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* debe valorarse correlacionando estos hallazgos con el proceso clínico.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

Este medio de cultivo debe usarse dentro de las fechas claramente señaladas en el rótulo. El procesamiento debe hacerse siguiendo rigurosamente las normas descritas, el material de desecho, debe descartarse en recipientes que contengan una solución de Hipoclorito de Sodio al 2.5%. Todos los cultivos positivos deberán ser esterilizados por calor húmedo antes de ser descartados en bolsas rojas y entregadas a la empresa recolectora de desechos biológicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bacteriología del *Mycobacterium tuberculosis* y de Micobacterias no tuberculosas. Manual de procedimientos. Instituto Nacional de Salud Bogotá D.C, Mayo del 2001.
2. **Kudoh S, Kudoh T.** A Simple technique for culturing tubercle bacili. Bull WHO 1974; 51:71-82.
3. **Orozco LC.** El cultivo de esputo para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Biomédica 1985;5:24
4. **Orozco LC.** Una modificación al método de Kudoh para el cultivo de *M. tuberculosis*. Biomédica 1985; 5:86-89.

REVISIÓN SEGÚN NORMAS DEL INVIMA
Marzo 2015