

Evaluación del sistema automatizado BacT ALERT 3D para el aislamiento de micobacterias en el LNRTB-IPK

María Rosarys Martínez-Romero, ✉ Misleidis Sardiña-Aragón, Grechen García-León,
Lilian Mederos-Cuervo, Beatriz Vega-Riverón, Raúl Díaz-Rodríguez

Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias;
Centro Colaborador OPS/OMS; Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

Fecha de recibido: 31-VII-2012; aceptado: 15-VIII-2012

RESUMEN. Objetivo: Evaluar el sistema automatizado BacT ALERT 3D para el aislamiento de micobacterias. **Métodos:** Se estudiaron 819 muestras clínicas recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis (IPK), desde agosto de 2010 a noviembre de 2011. Las muestras se inocularon en paralelo en el medio Löwenstein Jensen (LJ) y en el sistema BacT ALERT 3D. Los resultados obtenidos se analizaron y compararon con relación al número de aislamientos obtenidos, tiempo de detección de crecimiento (TDC), tasa de contaminación (TC) y se calcularon los indicadores de calidad del BacT ALERT. **Resultados:** A través de LJ se obtuvieron 99 (90%) aislamientos positivos, 102 (92.7%) por BacT ALERT 3D y 89 (80.9%) por ambos métodos simultáneamente. El TDC promedio para BacT ALERT 3D fue 16.67 días, y de 22.50 días por el LJ. La tasa de contaminación fue de 7.4% y 6.7% por el LJ y el BacT ALERT 3D, respectivamente. La concordancia entre BacT ALERT 3D y LJ fue de 97.82%. La sensibilidad, especificidad e índice de Youden obtenidos para BacT ALERT 3D fue de 97.75, 98.44 y 0.92%, respectivamente. **Conclusiones:** El sistema BacT ALERT 3D es un método adecuado para la recuperación de micobacterias procedentes de muestras clínicas, el cual demostró un TDC significativamente menor que el medio LJ. El cultivo en LJ debe utilizarse en combinación con sistemas automatizados para asegurar la recuperación de *Mycobacterium*.

Palabras clave: Tuberculosis, sistema BacT ALERT 3D, Löwenstein Jensen, cultivo.

ABSTRACT. Objective: To evaluate a BacT ALERT 3D automatic system for mycobacteria isolates. **Methods:** Were study 819 clinical samples received at the National Reference Laboratory of Tuberculosis, IPK, from August 2010 to November 2011. The samples were inoculated in parallel on Löwenstein Jensen medium and BacT ALERT 3D automatic system. The results obtained were analyzed and compared by number of isolates, time detection of growth (TDG), contamination rate (CR) and calculated the quality indicators of BacT ALERT 3D automatic system. **Results:** By Löwenstein Jensen (LJ) was obtained 99 (90%) positives isolates, 102 (92.7%) by BacT ALERT 3D and 89 (80.9%) by two methods simultaneously. El TDG average of BacT ALERT 3D was 16.67 days and 22.50 days for LJ. The CR was 7.4% and 6.7 % for LJ and BacT ALERT 3D, respectively. The concordance between BacT ALERT 3D and LJ was 97.82%. The sensitivity, specificity and Youden index obtained by BacT/ALERT 3D was 97.75%, 98.44% and 0.92, respectively. **Conclusions:** BacT/ALERT 3D system is a suitable method for recovering mycobacteria from clinical samples. It demonstrated a shorter TDG of mycobacteria of LJ medium. The LJ culture it must be used in combination with automatic systems for to assure a mycobacterial *Mycobacterium* recovery.

Key words: Tuberculosis, Bact/ALERT 3D system, Löwenstein Jensen, culture.

INTRODUCCIÓN

Mycobacterium tuberculosis (*M. tuberculosis*) es responsable de infecciones con una elevada morbimortalidad. A pesar de los avances en las ciencias médicas, la tuberculosis continúa siendo un problema de salud a escala mundial. El diagnóstico de esta infección de forma rápida y efectiva es fundamental para proveer una adecuada terapia antimicrobiana e implementar un control efectivo de la enfermedad, prevenir la diseminación en la comunidad y realizar intervenciones de salud.^{1,2} La introducción de nuevas técnicas en los labo-

ratorios de micobacteriología está encaminada a lograr el diagnóstico y detección del complejo *M. tuberculosis* en muestras clínicas pulmonares y extrapulmonares en un menor tiempo.³

Durante las últimas décadas, se han desarrollado sistemas automatizados para la detección del crecimiento de diferentes microorganismos en medio líquido. Algunos de estos sistemas están basados en la detección del crecimiento a través de métodos radiométricos como el BACTEC 460;⁴ en métodos colorimétricos para detectar la producción de CO₂, como BacT ALERT 3D, y algunos utilizan sensores de presión o métodos

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/neumologia>

fluorométricos para determinar el consumo de oxígeno, como el sistema de cultivo ESP II y BACTEC MGIT 960. La mayoría de estos métodos automatizados presentan tiempos de detección similares y no necesitan de ninguna instrumentación por parte del operador.^{1,5}

El cultivo representa un paso decisivo para el diagnóstico, tratamiento y control de la tuberculosis; sin embargo, el cultivo en medio sólido es muy laborioso y necesita de varias semanas para que las colonias puedan ser detectadas y se pueda realizar la identificación final a través de las pruebas bioquímicas.³

Desde agosto de 2010, se dispone en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias del Instituto «Pedro Kourí» (LNRTB-IPK) del equipo automatizado BacT ALERT 3D para el cultivo rápido de micobacterias, como parte del proyecto del Fondo Mundial de Lucha Contra el sida, la tuberculosis y la malaria, Ronda 7 «Fortalecimiento del Programa de Control Nacional de la Tuberculosis en la República de Cuba».

El objetivo de este trabajo fue comparar dos métodos de cultivo para el aislamiento de micobacterias: el sistema automatizado BacT ALERT 3D (que utiliza medio líquido) y el medio de cultivo sólido Löwenstein Jensen (LJ), en cuanto a número de aislamientos obtenidos, tiempo de detección de crecimiento (TDC), tasa de contaminación (TC) e indicadores de calidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo prospectivo de corte transversal. Se procesaron 1,202 muestras pulmonares y extrapulmonares recibidas en el LNRTB-IPK, entre agosto de 2010 y noviembre de 2011; de las cuales 819 conformaron el tamaño de la muestra utilizada en el estudio. Se excluyeron las muestras de sangre, de médula ósea y las que se inocularon por un solo método de cultivo.

Las muestras estudiadas fueron: 580 esputos, 67 biopsias de tejidos, 38 orinas, 32 lavados broncoalveolares, 13 secreciones de pus, 3 broncoscopías y 86 líquidos corporales (líquido cefalorraquídeo: 36; líquido pleural: 26; líquido ascítico: 22; líquido pericárdico: 2). Las muestras se inocularon de forma paralela en el medio de cultivo sólido LJ y en medio líquido (sistema automatizado BacT ALERT 3D, Biomérieux, Marcy l'Etoile, Francia).

Procesamiento de las muestras

Inoculación en medio de cultivo Löwenstein Jensen (método de referencia)

Las muestras de origen pulmonar se sometieron a un proceso de descontaminación-digestión a través del método de Petroff modificado para eliminar la flora nor-

mal acompañante, y en las muestras extrapulmonares se utilizó el método de ácido sulfúrico al 4%, según lo establecido por el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis.⁶ Luego de procesar las muestras, se inocularon 0.2 mL en el medio LJ e incubaron a 37 °C. La lectura semanal se realizó durante 8 semanas.

Los líquidos corporales procedentes de sitios estériles se centrifugaron a 3,000 g por 15 minutos, y después se inocularon 0.2 mL en el medio de cultivo LJ e incubaron a 37 °C. La lectura semanal se realizó durante 8 semanas.

En los tubos donde fue detectado crecimiento se realizó la tinción de Zielh-Nelseen a las colonias para confirmar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistente (BAAR). Posteriormente, se realizó la identificación a través de las pruebas bioquímicas convencionales (niacina, termoestabilidad de la enzima catalasa a 68 °C y reducción de nitratos a nitritos) de acuerdo con las normas establecidas.^{6,7}

Inoculación de muestras procedentes de sitios no estériles en medio de cultivo líquido (botella MP, BacT ALERT 3D)

Primeramente, al suplemento antibiótico MB BacT liofilizado (anfotericina B, azlocilina, ácido nalidixico, polimixina B, trimetoprim, vancomicina), se le adicionó 10 mL de fluido de reconstitución (ácido oleico, glicerol, amaranto, albúmina sérica bovina y agua purificada), para disminuir la incidencia de contaminación por otras bacterias. La fecha de vencimiento fue de 7 días a partir de la fecha de preparación, según las normas del fabricante.

Después del proceso de descontaminación de las muestras contaminadas pulmonares y extrapulmonares, se adicionó 1 mL de agua destilada estéril para reconstituir el sedimento. La botella MP, Biomérieux (con 10 mL del medio líquido Middebrook 7H9 enriquecido con caseína, albúmina sérica bovina y catalasa) se rotuló con los datos del paciente y se le adicionó 0.5 mL del suplemento antibiótico reconstituido y 0.5 mL del sedimento.

Inoculación de muestras procedentes de sitios estériles en medio de cultivo líquido (botella MP, BacT ALERT 3D)

Las muestras procedentes de sitios estériles se centrifugaron a 3,000 g por 15 minutos, se decantó el sobrenadante y se adicionó 1 mL de agua destilada estéril para reconstituir el sedimento. A la botella MP, se le adicionó 0.5 mL del fluido de reconstitución y fue rotulada con los datos del paciente. Posteriormente, se inoculó 0.5 mL del sedimento de la muestra directamente en la botella.

Después de inocular las muestras a las botellas MP, éstas se colocaron en el instrumento de laboratorio BacT ALERT 3D por 42 días (período de incubación establecido por el instrumento). Se utilizaron los algoritmos de detección del equipo para determinar y alertar al laboratorista sobre la presencia y localización de botellas con crecimiento presuntivo de *Mycobacterium*. Para confirmar estos resultados, se realizó la coloración de Zielh-Nelseen a todas las botellas que se identificaron como presuntas positivas por el instrumento BacT ALERT 3D.

Ante la presencia de BAAR, se procedió a extraer 100 µL y realizar el ensayo inmunocromatográfico por la tira SD BIOLINE (*Standard Diagnostics*, Kyonggi-do, Corea) para la identificación del antígeno MPT64, presente solamente en el complejo *M. tuberculosis*.⁸ La interpretación de los resultados por la tira SD BIOLINE se realizó según las instrucciones del fabricante.

A las botellas que resultaron negativas por la coloración de Zielh-Nelseen, se les realizó subcultivo (0.2 mL) en el medio LJ e incubaron a 37 °C por 4 semanas. En las que hubo crecimiento positivo a BAAR, se les realizaron las pruebas bioquímicas convencionales para la identificación en especie.

Análisis estadístico

Para éste, 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% y el paquete estadístico para ciencias sociales (*IBM SPSS Statistics*), versión 18 (*IBM Corporation*, EU). El supuesto de normalidad fue verificado por la prueba Kolmogorov-Smirnov. Se aplicó la t de Student para el análisis de las variables independientes y el test de ANOVA para variables relacionadas.

Los resultados obtenidos por ambos métodos fueron analizados y comparados con respecto al número de aislamientos obtenidos, TDC y TC; también se calcularon los indicadores de calidad del sistema automatizado BacT ALERT 3D.

Para calcular los indicadores de calidad del BacT ALERT 3D se consideró como:

- *Verdadero positivo*: a todas las muestras que se identificaron como positivas por el instrumento BacT ALERT 3D con confirmación de la presencia de BAAR por la tinción de Zielh-Nelseen, ya sea del medio líquido o en el subcultivo de la botella MP al medio LJ, y fueron positivas por el cultivo convencional en LJ (método de referencia).
- *Verdadero negativo*: a todas las muestras que se identificaron como negativas por el instrumento BacT ALERT 3D y por el cultivo convencional.
- *Falso positivo*: a todas las muestras que se identificaron como positivas por el instrumento BacT ALERT 3D y resultaron negativas por el cultivo convencional.
- *Falso negativo*: a todas las muestras que se identificaron como negativo por el instrumento BacT ALERT 3D y resultaron positivas por el cultivo convencional.

RESULTADOS

De las 819 muestras clínicas que conformaron el estudio, el mayor número correspondió a muestras de esputos (70.8%). Del total de muestras estudiadas, 558 (63.1%) procedieron de pacientes con síndrome de inmunodeficiencia humana.

En la tabla 1 se muestra el aislamiento de micobacterias según los métodos de cultivo utilizados. Por el cultivo LJ se obtuvieron 99 (90%) aislamientos, 102 (92.7%) por el instrumento BacT ALERT 3D y 89 (80.9%) simultáneamente por ambos métodos de cultivo. Se identificaron 75 *M. tuberculosis*, 66 (88%) por el LJ, 72 (96%) por el BacT ALERT 3D y 64 (85.3%) por los dos métodos. Se identificaron 30 (85.7%) micobacterias ambientales (MA); 33 (94.3%) por el LJ; 30 (85.7%) por el BacT ALERT 3D, y 25 (71.4%) por el BacT ALERT 3D y LJ. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de micobacterias aisladas y el método de cultivo utilizado ($p = 0.005$).

Para realizar el análisis por variables independientes y variables relacionadas, se basó en los 89 aislamientos

Tabla 1. Distribución de aislamientos de micobacterias según métodos de cultivo utilizados.

Micobacterias	Total de aislamientos identificados	Núm. (%) de aislamientos recuperados en			Valor p
		LJ	BacT ALERT 3D	Simultáneamente por BacT ALERT 3D y LJ	
<i>M. tuberculosis</i>	75	66 (88%)	72 (96%)	64 (85.3%)	0.118769
Micobacterias ambientales	35	33 (94.3%)	30 (85.7%)	25 (71.4%)	0.063518
Total	110	99 (90%)	102 (92.7%)	89 (80.9%)	0.26504

LJ: Löwenstein Jensen.

Tabla 2. Comparación del tiempo de detección de crecimiento entre *M. tuberculosis* y micobacterias ambientales según el método de cultivo utilizado.

n = 89	Tiempo de detección de crecimiento	
	LJ	BacT ALERT 3D
<i>M. tuberculosis</i> (64)	32.73	16.06
Micobacterias ambientales (25)	34.31	11.80
Valor de p	0.555	0.024

LJ: Löwenstein Jensen

Tabla 3. Comparación de la media del tiempo de detección del crecimiento de las micobacterias según el método de cultivo utilizado.

n = 89	Tiempo de detección de crecimiento de micobacterias	
	Media	DE
Método de cultivo		
BacT ALERT 3D	16.67	8.872
LJ	22.50	13.92
	Valor de p = 0.021	

LJ: Löwenstein Jensen; DE: Desviación estándar.

Tabla 4. Resultados de los indicadores de calidad del método BacT ALERT 3D.

Indicadores de calidad	BacT ALERT 3D	
	%	Intervalo de confianza
Sensibilidad	97.75	88.39-99.11
Especificidad	99.44	97.39-99.48
Índice de Youden	0.92	0.87-0.97
Concordancia	97.82	96.70-98.84

identificados por los dos métodos de cultivo utilizados (BacT ALERT 3D + LJ).

El promedio de TDC en el medio LJ para *M. tuberculosis* y micobacterias ambientales fue de 32.73 días y 34.31 días respectivamente, no evidenciando diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.555$). Sin embargo, para el BacT ALERT 3D, sí hubo diferencias ($p = 0.024$) entre el TDC y el tipo de micobacteria aislada, al obtenerse un TDC para *M. tuberculosis* de 16.06 días y 11.80 días para MA (tabla 2).

La media del TDC de los aislamientos de micobacterias obtenidos por el BacT ALERT 3D fue de 16.67 días,

significativamente menor ($p = 0.021$) al TDC obtenido por el cultivo en LJ (22.50 días) (tabla 3).

La TC obtenida con el medio LJ fue de 7.4 y 6.7% por el instrumento BacT ALERT 3D, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.563314$).

La concordancia entre los métodos de BacT ALERT 3D y LJ fue de 97.82%. Los indicadores de sensibilidad, especificidad y el índice de Youden obtenidos por el BacT ALERT 3D fueron de 97.75, 99.44 y 0.92%, respectivamente (tabla 4).

DISCUSIÓN

A pesar de las mejoras considerables de los ensayos disponibles en el mercado, y las ventajas que ofrecen los mismos para acortar el tiempo de diagnóstico de las infecciones por micobacterias, no se espera que el uso de las técnicas moleculares pueda reemplazar las técnicas del cultivo para el diagnóstico definitivo de estas infecciones. Una de las prioridades de los laboratorios de diagnóstico es la detección sensible del crecimiento de las micobacterias y automatización de los procesos del cultivo.³

En los últimos años se han desarrollado nuevos sistemas comerciales de cultivo líquido, entre los que se encuentran el sistema BacT ALERT 3D (bioMérieux). Éste es un instrumento de laboratorio totalmente automatizado, no radiométrico, con poco riesgo de contaminación tanto para el operario como para el cultivo, aprobado para su uso por la agencia estadounidense reguladora de medicamentos y alimentos FDA (del inglés *Food and Drug Administration*).³ Está basado en la detección colorimétrica continua de CO₂ liberado en el medio líquido durante el metabolismo de las micobacterias, dando lugar a una elevada concentración del CO₂; el cual disminuye el pH del medio y éste, a su vez, produce cambio de color en el sensor de la botella que es detectado por el instrumento.^{9,10}

En el presente estudio, se comparó la capacidad del medio LJ y el sistema automatizado BacT ALERT 3D en cuanto a la recuperación de micobacterias procedentes de muestras clínicas pulmonar y extrapulmonar, TDC y TC.

El cultivo en LJ es la prueba de referencia y desempeña un papel importante para el diagnóstico y aislamiento de micobacterias de muestras clínicas; pero es muy laborioso, y las colonias de micobacterias pueden tomar varias semanas para hacerse visibles en el medio de cultivo sólido.

Varios estudios reportan una evaluación favorable del BacT ALERT 3D^{1,11} para el cultivo de micobacterias. El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) recomienda el uso combinado con el medio líquido, porque el crecimiento

en este último es detectado más rápidamente que en el medio sólido.¹²⁻¹⁵

En el presente estudio, con el medio LJ se detectaron micobacterias en el 90% de las muestras y con BacT ALERT 3D fue de 92.7%. Estos resultados son superiores a los reportados por Sorlozano *et al.* en España (2009), quienes analizaron 1,770 muestras de 696 pacientes y reportaron, tanto para LJ como por BacT ALERT 3D, el 79.5%. Al analizar los hallazgos con la combinación BacT ALERT 3D y el medio LJ, el valor fue menor (85.3%) a los obtenidos en este trabajo.¹ En otro estudio realizado por Parrish *et al.*, se obtuvo un menor número de aislamientos de *M. tuberculosis* con el empleo del instrumento BacT ALERT 3D (66.6%).²

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de micobacterias aisladas y el método de cultivo utilizado, con el sistema BacT ALERT 3D se obtuvo un mayor número de aislamientos. No obstante, no se recuperó el total de micobacterias por ambos métodos de cultivo, por lo que se sugiere que el medio LJ se utilice junto con el sistema automatizado BacT ALERT para asegurar la recuperación de *Mycobacterium*.

En nuestro estudio, el promedio de TDC para todas las *M. tuberculosis* en BacT ALERT 3D (16.67 días) fue significativamente menor que el obtenido por LJ; estos resultados son superiores a los obtenidos por Parrish *et al.*,² en un estudio similar realizado en Baltimore, Estados Unidos, donde se analizaron 622 muestras clínicas y se encontraron un TDC para *M. tuberculosis* de 25.2 días, similares a los obtenidos por Alcaide *et al.*,¹⁶ en un estudio realizado en España donde obtuvo un TDC para *M. tuberculosis* por BacT ALERT 3D de 15.9 días.

Para todas las micobacterias, los TDC fueron significativamente menores utilizando el BacT ALERT 3D que con el medio LJ. Harris *et al.*¹¹ obtuvieron similares resultados en un estudio realizado en el Laboratorio de Referencia de Micobacterias de Edinburgo, con un TDC de 12.8 días para BacT ALERT 3D y 18.6 días para el LJ.

Las muestras clínicas procedentes de sitios no estériles deben someterse a procesos de digestión y descontaminación para una recuperación óptima de las micobacterias. Los sistemas comerciales de cultivo, como el BacT ALERT 3D, utilizan antibióticos liofilizados reconstituidos para disminuir la contaminación bacteriana. Para el sistema BacT ALERT 3D, según la literatura internacional, debe utilizarse el sedimento de las muestras que han sido previamente descontaminadas por el método de N-acetil-L-cisteína-NaOH.^{17,18} Sin embargo, algunos estudios han reportado tasas elevadas de contaminación bacteriana con este método.^{17,19}

En esta investigación, utilizamos como método de descontaminación el de Petroff modificado para mues-

tras pulmonares en ambos métodos de cultivo, que hasta la fecha no se han realizado reportes del mismo.

La tasa de contaminación obtenida para BacT ALERT 3D (6.7%) estuvo por debajo de los parámetros establecidos por las normas internacionales (hasta el 8 o 9%), y los valores encontrados para el LJ (7.4%) fueron ligeramente superiores a los estándares internacionales (3-5%).^{1,7} Resultados similares reportaron Piersimoni *et al.*³ No obstante, las diferencias de las tasas de contaminación entre los dos métodos de cultivo utilizados en el estudio no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

Los indicadores de sensibilidad, especificidad y el índice de Youden obtenidos para el instrumento BacT ALERT 3D fueron aceptables. Se ha documentado en la literatura internacional que los valores de sensibilidad para el sistema BacT ALERT 3D pueden variar entre 78 y 99%. En este estudio, la sensibilidad y especificidad de este método estuvieron dentro de los estándares aceptables (por encima del 97%), valores superiores a los reportados por Sorlozano *et al.*¹

En resumen, el sistema BacT ALERT 3D es un método adecuado para la recuperación de *M. tuberculosis* y micobacterias ambientales procedentes de muestras clínicas. Asimismo, demostró un TDC significativamente menor que el medio LJ. El método de cultivo LJ se debe utilizar en combinación con sistemas automatizados para asegurar la recuperación de *Mycobacterium*.

REFERENCIAS

1. Solorzano A, Soria I, Roman J, et al. *Comparative evaluation of three culture methods for the isolation of mycobacteria from clinical samples.* J Microbiol Biotechnol 2009;19:1259-1264.
2. Parrish N, Dionne K, Sweeney A, Hedgepeth A, Carroll K. *Differences in time to detection and recovery of Mycobacterium spp. between the MGIT 960 and BacT/ALERT MB automated culture systems.* Diagn Microbiol Infect Dis 2009;63:342-345.
3. Piersimoni C, Scarparo C, Callegaro A, 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;39:651-657.
4. Rohner P, Pepey B, Auckenthaler R. *Comparison of BacT/Alert with Signal blood culture system.* J Clin Microbiol 1995;33:313-317.
5. Drobniewski FA, Caws M, Gibson A, Young D. *Modern laboratory diagnosis of tuberculosis.* Lancet Infect Dis 2003;3:141-147.
6. Marrero A, Carreras L, Valdivia JA, et al. *Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de normas y procedimientos.* La Habana, Cuba: Ciencias Médicas, 2010.

7. Organización Panamericana de la Salud. *Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Normas y guía técnica*. Parte II. Cultivo. OPS, 2008.
8. Gaillard T, Fabre M, Martinaud C, Vong R, Brisou P, Soler C. *Assessment of the SD Biline Ag MPT64 Rapid™ and the MGIT™ TBc identification tests for the diagnosis of tuberculosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;70:154-156.
9. Werngren J, Klintz L, Hoffner SE. *Evaluation of a novel kit for use with the BacT/ALERT 3D system for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2006;44:2130-2132.
10. Agudelo CA, Builes LN, Hernández M, Robledo J. *Nuevos métodos para el diagnóstico de la tuberculosis*. *IATREIA* 2008;21:321-332.
11. Harris G, Rayner A, Blair J, Watt B. *Comparison of three isolation systems for the culture of mycobacteria from respiratory and non-respiratory samples*. *J Clin Pathol* 2000;53:615-618.
12. Recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. *Essential components of a tuberculosis prevention and control program*. *MMWR Recomm Rep* 1995;44(RR-11):1-16.
13. Alfa MJ, Manickam K, Sepehri S, Sitter D, Lenton P. *Evaluation of BacT/Alert 3D automated unit for detection of nontuberculous mycobacteria requiring incubation at 30 degrees C for optimal growth*. *J Clin Microbiol* 2011;49:2691-2693.
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:7-10.
15. Somoskovi A, Mester J, Hale YM, Parsons LM, Salfinger M. *Laboratory diagnosis of nontuberculous mycobacteria*. *Clin Chest Med* 2002;23:585-597.
16. Alcaide F, Benítez MA, Escribà JM, Martín R. *Evaluation of the BACTEC MGIT 960 and MB/BacT systems for recovery of mycobacteria from clinical specimens and for species identification by DNA AccuProbe*. *J Clin Microbiol* 2000;38:398-401.
17. Dionne K, Sweeney A, Hedgepeth A, Carroll K, Parrish N. *Methods for reducing bacterial contamination in the BacT/Alert mycobacterial culture detection system*. *J Clin Microbiol* 2005;43:2523-2525.
18. Carricajo A, Fonsale N, Vautrin AC, Aubert G. *Evaluation of BacT/Alert 3D liquid culture system for recovery of mycobacteria from clinical specimens using sodium dodecyl (lauryl) sulfate-NaOH decontamination*. *J Clin Microbiol* 2001;39:3799-3800.
19. Garrigó M, Aragón LM, Alcaide F, et al. *Multicenter laboratory evaluation of the MB/BacT Mycobacterium detection system and the BACTEC MGIT 960 system in comparison with the BACTEC 460TB system for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2007;45:1766-1770.

✉ **Correspondencia:**

Dra. María Rosarys Martínez-Romero
Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"
La Lisa, 11300, Ciudad de La Habana, Cuba.
Correo electrónico: rosarys@ipk.sld.cu

Los autores declaran no tener conflictos de interés