Nueva técnica para determinar la catalasa. Aplicado a las bacteriurias

Por: Lic. EMILIO GRUEIRO AZCANO^{*}, Dr. JUAN L. CABO MONTESDEOCA^{**} y el Lic. RAFAEL SARDINAS^{*****}

FERNANDEZ^{***}, el Téc. aux. VLADIMIR GRUEIRO YEN^{****} y la Téc. GELSYS ECHEVARRIA MADEN

Grueiro Azcano, E.; y otros. *Nueva técnica para determinar la catalasa. Aplicado a las bacteriurias.* Rev Cub Med 23: 2, 1984.

La descomposición del agua oxigenada por los microorganismos, se realiza a expensas de la catalasa que ésta contiene. Desde 1983, *Gottatein* sugirió el uso de la reacción de esta enzima para detectar bacterias. En este artículo, se muestran los resultados obtenidos al realizar un estudio comparativo de 119 análisis de orina y 507 urocultivos, y en los que se utiliza la catalasa. La técnica empleada consiste en mezclar dos mililitros de orina con un mililitro de agua oxigenada (11 volúmenes) en una jeringuilla de cristal que tenga la aguja obturada con parafina, y se sitúa el émbolo en un punto de partida y se agita; el resultado se mide a la hora en mililitros de oxígeno, que marca el desplazamiento de émbolo. A cada muestra de orina se le hacen tres determinaciones: a las 4, 24 y 48 horas. La orina se deja a temperatura ambiente. El 87,6% de las orinas con bacterias, por el urocultivo, fueron positivas al medir la catalasa. Así, las curvas obtenidas se debieron a un crecimiento bacteriano en estas orinas, las que con un mismo tipo de bacteria se agruparon y se obtuvieron dos o tres curvas distintas que nos permiten tener criterio sobre "agresividad bacteriana", ya que con estas curvas entendemos que es posible distinguir entre dos o más pacientes que presenten una misma bacteria, en cuál de ellos debe haber más evidencias clínicas de la infección renal. Por lo sencilla y económica, esta técnica está al alcance de cualquier laboratorio.

INTRODUCCION

Aeobl, en 1974,¹ informa que la catalasa (hydrogen-peroxide; hydrogen- peroxide oxidoreductase), fue reconocida como ampliamente distribuida en la naturaleza por O. Loew, 1901, y la actividad de descomposición del agua oxigenada en varios tejidos fue descrita por *Thenard* en 1819.

* Investigador del laboratorio de análisis bioquímicos clínicos, Instituto de Oncología y Radiobiología.

** Médico Veterinario de la clínica de animales improductivos.

*** Técnico del laboratorio de bacteriología, Instituto de Oncología y Radiobiología.

**** Auxiliar técnico del laboratorio de inmunohematología. Hospital "Pedro Borrás"

***** Técnico del laboratorio de análisis bioquímicos clínicos, IOR.

Gottatein, en 1893, citado por *Molland* en 1967,² plantea que la más conocida de las reacciones catalizadas por la catalasa es la descomposición del agua oxigenada, de acuerdo con la ecuación:

es una reacción bimolecular de oxidación-reducción, que describe la descomposición del agua oxigenada por los microorganismos y sugiere el uso de esta reacción para detectar bacterias.

La catalasa fue primeramente aislada y obtenida en forma cristalina del hígado por *Summner* y *Dounce* en 1937 y, posteriormente de sangre y otras fuentes por distintos investigadores. La enzima contiene cuatro grupos de Ferriprotoporphirin por molécula, con un contenido de protohen de 1,1%, y de hierro, de 0,09%.¹

White y *Smith*, en 1959,³ consideran a la catalasa el catalizador más potente para descomponer el agua oxigenada. El peso molecular de la catalasa es de 250 000.

Salle, en 1962,⁴ describe una técnica para determinar la catalasa en cultivo de bacterias, e introduce éstas en tubos de Smith y les añade agua oxigenada. Después de realizada dicha técnica éste observó, que la reacción es muy enérgica frente al bacilo subtilis, mientras que con el bacilo fluorescens esta reacción fue ligera.

Charbonneau, *Hierren* y *Gagnon*, en 1976,⁵ al utilizar el método de flotación de disco con el cataiasómetro, comparó la actividad de la catalasa de diferentes bacterias y halló que variaba con la especie y, entre éstas el género bacilo fue la de mayor actividad, y que la *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* producían similar actividad de catalasa. El bacilo coli B mostró una alta actividad de catalasa.

S. E. Moutsos y colaboradores en 1962,⁸ realizaron un estudio de bacteriurias, y midieron la catalasa con el método de flotación de discos descrito por Braude y Beekowitz. De 50 pacientes investigados, 10 presentaron catalasa positiva (20%): dos de éstos, con catalasa positiva tenían, según el urocultivo, *Escherichia coli*, y eran pacientes con historias previas de pielonefritis; seis de los ocho restantes con catalasa positiva, fueron negativos por cultivo, y tenían pielonefritis con evidencias clínicas de infección renal. Dos pacientes con catalasa negativa, revelaron orinas positivas por cultivo y, en ambos, la bacteria era *Escherichia coli*; estos dos pacientes no tenían evidencias clínicas de pielonefritis.

Voisin, en 1961,⁷ plantea que todas las cepas del bacilo tuberculoso débiles o nulas en actividades de catalasa, poseen una virulencia atenuada: cuando las cepas tienen mayor actividad de catalasa, poseen una virulencia acrecentada y esto es válido, tanto para las cepas bovinas, como para las humanas del bacilo tuberculoso.

La virulencia de las bacterias es mayor cuando es mayor su actividad de catalasa, ya que ésta es un arma defensiva en la lucha por su existencia frente al peróxido de hidrógeno; así podemos ver que los leucocitos, que son células defensivas frente a bacterias, tiene una marcada actividad de catalasa.

En relación con el cáncer, *Voisin* plantea que en el tejido canceroso hay una disminución de catalasa. Además, afirma que el punto de partida de la cancerización de la célula es el empobrecimiento de la catalasa.

Yamafuji (1966)⁸ demuestra que la hidroxilamina (NH₂—OH) obstaculiza de una manera notable la función de la catalasa hística, sin disminuir la respiración, lo cual conduce a una acumulación del peróxido en la células e induce a la multiplicación viral en los gusanos de seda. El peróxido de hidrógeno, por sí sólo tiene la capacidad de despolimerizar el DNA y de activar las enzimas, y cataliza la descomposición de las proteínas, peptonas, moléculas de RNA y DNA. Estos son los procesos necesarios para iniciar la inducción y replicación de los virus, y se comprueba en varios experimentos que la actividad de la catalasa en tejidos atacados por virus, es más baja que en los normales.

Wattiaux (1968)⁹ encontró actividad de esta enzima en el hepatoma 22.

Lage y colaboradores (1977),¹⁰ en un estudio de diferentes enzimas en el hígado del hepatoma 22, encontró que la catalasa mostró la mayor alteración y disminuyó.

Komov y Machizuki (1976),¹¹ y *Jankin.* (1978),¹² plantearon que en la hiper carcinogénesis experimental la actividad de la catalasa era baja en las primeras semanas para después incrementarse.

MATERIAL Y METODO

Se escogen al azar 119 muestras, a las cuales se les realizó el análisis de orina y 507 muestras de orina, a las que se les realizó el urocultivo. Estas determinaciones fueron efectuadas en el laboratorio clínico y de bacteriología del IOR, y correspondieron a pacientes tratados allí.

A todas las muestras se les determinó, simultáneamente la prueba de la catalasa v un urocultivo, para lo que se empleó una técnica en la que se utilizaron jeringuillas de cristal de 5, 10 y 20 cc, agujas hipodérmicas, parafina y 20 volúmenes de agua oxigenada.

Procedimientos

Se colocan las jeringuillas verticales, con las agujas obturadas con parafina y sin el émbolo; se les vierten 2 milímetros de orina (muestra) y 1 ml de agua oxigenada (11 volúmenes); inmediatamente, se presenta el émbolo y se invierte la jeringuilla (cuidado no se bote) y, al quitar la aguja llevamos el émbolo hasta una posición inicial (4 ó 5 cc); se vuelve a colocar la aguja y se agita. Si hay catalasa el émbolo se desplaza y marca un volumen de oxígeno producido.

A la hora se hace la lectura, la cual se expresa en mililitros de oxígenos formados. Se deben hacer, como mínimo, tres lecturas: a las 4, 24 y 48 horas de recogida la orina.

Con estas lecturas, si hay catalasa, se hace una curva de crecimiento bacteriano.

Las muestras se dejan a temperatura ambiente. Las jeringuillas no deben fregarse con detergente o jabón, ya que éstas reaccionan con el agua oxigenada.

Se considera que hay bacteriuria, si al medir la catalasa ésta se incrementa con el tiempo aunque la primera lectura a las cuatro horas dé cero (cuadro I).

RESULTADOS

El cuadro I nos muestra cómo el 39,1% de las orinas normales y el 58,3% de las orinas patológicas presentaron crecimiento bacteriano al medirles la catalasa.

No. Análisis de orina	No. Catalasa	%
69 Orinas normales	27 Con crecimiento bacteriano	39,1
26 Orina con leucocitos mayor de 10 por campo	12 Con crecimiento bacteriano	48,1
11 Orinas con hematíes mayor de 20 por campo	9 Con crecimiento bacteriano	81,8
11 Orinas con bacterias	7 Con crecimiento bacteriano	63,6

De las 117 orinas, 55 presentaron crecimiento bacteriano por la catalasa, o sea, el 47,0%.
De las 48 orinas patológicas, 28 presentaron catalasa positiva, o sea, el 58,3%.

El cuadro II muestra que en el 46,4% de los urocultivos negativos y en el 66,4% de los urocultivos contaminados, hubo crecimiento bacteriano según la catalasa.

Del total de las orinas con bacterias por el urocultivo (130), el 12,4% (16) no presentaron crecimiento bacteriano.

El 74,9% de las 507 orinas eran negativas o contaminadas y el 25,1% presentaron bacterias por el urocultivo. De las 507 orinas, el 61,7% mostró crecimiento bacteriano y el 38,3% no presentó crecimiento bacteriano, según la catalasa.

CUADRO II
RELACION DE LA CATALASA CON LOS UROCULTIVOS

	No. de uro- cultivos	% parcial	% total
Urocultivos negativos			
no hubo crecimiento bacteriano	135	53,6	
" " "	113	46,4	
Total	248		49,7
Urocultivos contaminados			
no hubo crecimiento bacteriano	43	33,6	
" " "	86	66,4	
Total	129		25,2
Escherichia coli			
no hubo crecimiento bacteriano	9	19,6	
" " "	37	80,4	
Total	46		9,1
Klebsiella			
no hubo crecimiento bacteriano	3	12,0	
" " "	22	88,0	
Total	25		4,9
Proteus vulgaris			
hubo crecimiento bacteriano	4	100,0	0,8
Proteus mirabilis			
hubo crecimiento bacteriano	7	100,0	1,4
Proteus morganii			
hubo crecimiento bacteriano	1	100,0	0,2
Proteus rettgeri			
hubo crecimiento bacteriano	1	100,0	0,2
Estafilococo coagulasa negativo			
no hubo crecimiento bacteriano	2	20,0	
" " "	8	80,0	
Total	10		
Estafilococo coagulasa positivo			
hubo crecimiento bacteriano	4	100,0	0,8
Enterobacter			
hubo crecimiento bacteriano	12	100,0	2,4
Citrobacter			
hubo crecimiento bacteriano	3	100,0	0,6
Aerobacter clocae			
no hubo crecimiento bacteriano	1	16,7	
" " "	5	83,3	
Total	6		1,2
Pseudomonas			
hubo crecimiento bacteriano	8	100,0	1,6
Alcaligenos fecales			
hubo crecimiento bacteriano	3	100,0	0,6
Total	507		100,0
	No.	%	
Orinas con urocultivos positivos	130	100,0	
hubo crecimiento bacteriano (catalasa)	114	87,6	
no hubo crecimiento bacteriano (catalasa)	16	12,4	

El cuadro III nos muestra que las distintas bacterias presentan más de una curva de crecimiento bacteriano. En el caso de las pseudomonas, el valor de la catalasa fue mayor a las 4 horas que a las 24, aunque este valor se incrementó a las 48 horas, señalando crecimiento bacteriano. Las tres lecturas efectuadas dentro de las 48 horas nos permiten establecer una "curva de crecimiento bacteriano".

En orinas con urocultivos positivos, como en los que contenían *Escherichia coli*, *Klebsiella*, estafilococo coagulasa negativo, *Aerobacter*, algunas orinas no mostraron crecimiento bacteriano por la catalasa. Hubo correlación entre el urocultivo y la catalasa en las orinas que contenían las siguientes bacterias: *Proteus*, estafilococo coagulasa positivo, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Pseudomonas*.

En el gráfico 1 se observa que la bacteria *Escherichia coli* presenta tres curvas de crecimiento bacteriano; 7 de las 37 orinas muestran una curva (C) con valores altos de catalasa, con tendencia a formar un *plateau*; las curvas A y B se diferencian en que la B tiene una pendiente ligeramente mayor. La mayor cantidad de orinas con *Escherichia coli* (18) presentan una pendiente ligera curva (A).

El gráfico muestra las curvas de crecimiento bacteriano, según los datos que aparecen en el cuadro III. En la ordenada se ponen los valores de las medias obtenidas con distintas orinas que presentaban la misma bacteria y tenían valores de catalasa cercanos. La abscisa señala los momentos en que se midió la catalasa.

CUADRO III

CURVAS DE CRECIMIENTO BACTERIANO

No. de determinaciones	Bacteria	Valor medio "catalasa" en ml O ₂		
		(1) 4 horas	(2) 24 horas	(3) 48 horas
12	<i>Escherichia coli</i>	1,1	4,3	9,1
18	" "	0,4	1,4	3,9
7	" "	4,8	8,1	9,2
37				
8	<i>Klebsiella</i>	5,9	15,2	19,8
14	" "	1,3	4,1	7,0
22				
4	<i>Proteus vulgaris</i>	8,3	14,0	16,5
1	" <i>mirabilis</i>	10,0	12,0	14,0
6	" "	2,3	5,1	9,0
1	" <i>rettgeri</i>	4,0	6,0	6,0
1	" <i>morganii</i>	1,0	1,5	2,0
13				
5	<i>Estafilococo coagulasa negativo</i>	0,5	1,9	4,8
3	<i>Estafilococo coagulasa negativo</i>	7,6	9,3	16,0
8				
3	<i>Estaf. coagul. posit.</i>	0,8	1,8	3,3
1	" " "	0,3	8,0	11,0
4				
5	<i>Enterobacter</i>	0,5	2,0	5,1
3	" "	3,0	7,3	15,0
4	" "	6,5	9,2	10,7
12				
2	<i>Citrobacter</i>	0,5	1,0	1,3
1	" "	1,0	9,0	9,0
3				
4	<i>Aerobacter</i>	1,0	1,0	2,6
1	" "	0,0	10,0	11,0
5				
5	<i>Pseudomonas</i>	2,6	8,5	9,0
3	" "	7,3	5,6	9,3
8				
2	<i>Alcaligenos facales</i>	0,2	0,5	1,0
1	" "	0,3	2,0	10,0
3				

Las curvas A y B de la bacteria Klebsiella presentan pendientes parecidas; la curva B tiene valores de catalasa más altos que la curva A. Las curvas A, B y C que presentan las bacterias enterobacter son distintas.

En el gráfico 2 se muestra que en las orinas con la bacteria estafilococo coagulasa negativo aparecen dos curvas A y B, que presentan pendientes similares, y la curva B muestra valores más altos de catalasa que la curva A. Las curvas obtenidas de las orinas con las bacterias, estafilococo coagulasa positivo y los Proteus son diferentes.

En el gráfico 3 se observa que las Pseudomonas presentan curvas diferentes. La curva A señala una mayor cantidad de catalasa a las 4 horas que a las 24 horas, aunque la lectura a las 48 horas mostró un incremento de la catalasa, lo cual nos señala un crecimiento bacteriano. Las curvas de las orinas con las bacterias Aerobacter y Citrobacter son similares, lo cual se puede explicar porque ambas bacterias son semejantes. Ambas bacterias presentan dos curvas A y B, que son parecidas.

El gráfico muestra las curvas de crecimiento bacteriano, según los datos que aparecen en el cuadro III. En la ordenada se ponen los valores de las medias obtenidas con distintas orinas que presentaban la misma bacteria y tenían valores de catalasa cercanos. La abscisa señala los momentos en que se midió la catalasa.

El gráfico muestra las curvas de crecimiento bacteriano, según los datos del cuadro III. En la ordenada se ponen los valores de las medias obtenidas con distintas orinas que presentaban la misma bacteria y tenían valores de catalasa cercanos. La abscisa señala los momentos en que se midió la catalasa.

DISCUSION

En el cuadro I se observa que el 39,1% de las orinas normales y el 58,3% de las orinas patológicas por la catalasa, muestran crecimiento bacteriano. El cuadro II muestra que el 46,4% de los urocultivos negativos y el 66,4% de los urocultivos contaminados, presentaron crecimiento bacteriano, según la catalasa. Estos resultados nos indican la posibilidad de utilizar la determinación de la catalasa para complementar los análisis de orina y el urocultivo. De las 130 orinas que presentaron bacterias por el urocultivo, 16 (12,4%) fueron negativas al medir la catalasa, si tomamos en cuenta los resultados de Moutsos⁶ de que en dos orinas negativas por la catalasa y con Escherichia coli por el urocultivo, estos pacientes no tenían evidencias clínicas de pielonefritis. Sería conveniente acotar nuestros resultados con el médico para evaluarlo en relación con los pacientes.

En el cuadro III y los gráficos 1, 2 y 3, se observa que hay relación entre la catalasa positiva y la existencia de bacterias en estas orinas, por lo que nosotros las denominamos curvas de crecimiento bacteriano.

Algunas de estas curvas de crecimiento bacteriano son parecidas, como las de *Escherichia coli* (A), *Klebsiella* (A) y *Enterobacter* (A) (gráfico 1). Y *Proteus morganii*, estafilococo coagulasa negativo (A) y estafilococo coagulasa positivo (A) (gráfico 2), así como las bacterias *Citrobacter* y *Aerobacter* (gráfico 3). Estos resultados no nos permiten relacionar una curva de crecimiento bacteriano con una bacteria en particular, por lo que sería conveniente utilizar pruebas químicas para identificar las bacterias, lo cual se hace en el urocultivo.

Obsérvese en los gráficos 1, 2 y 3, que todas las bacterias presentan más de una curva con características diferentes.

Al analizar el comportamiento de una bacteriuria en relación con las evidencias clínicas de infección renal en un paciente, la curva obtenida al medir la catalasa pudiera darnos criterios sobre la "agresividad bacteriana", lo cual dependerá de:

- Tipo de bacteria con su síntesis característica de la cantidad de catalasa.
- Cantidad inicial de bacterias presente en la muestra de orina.
- Influencia del medio en el crecimiento.

Con este criterio es posible distinguir entre dos o más pacientes que presenten una misma bacteria, en cuál de ellos debiera haber más evidencias clínicas de infección renal.

Con la técnica propuesta por nosotros para determinar la catalasa en las orinas con bacterias, opinamos que es posible observar la evolución de un paciente bajo tratamiento, y monitorear a éste en presencia de una afección renal crónica.

Si hubiera dificultades para efectuar los urocultivos el médico pudiera orientarse con el resultado de la catalasa para conocer la existencia de una infección renal.

Entendemos que esta técnica, por lo sencilla y económica, está al alcance de cualquier laboratorio.

Al tomar en cuenta la práctica como criterio de la verdad, consideramos que esta prueba debe ser evaluada en la práctica asistencial.

SUMMARY

Grueiro Azcano, E. et al. *New techniques for catalase determination. Application to bacteriuria.* Rev Cub Med 23: 2, 1984.

The decomposition of hydrogen peroxide by microorganisms is made at catalase expenses contained in it. Since 1893, *Gottstein* suggested the use of this enzyme reaction for detecting bacteria. In this paper, results obtained at a comparative study of 119 urine

analysis and 507 urocultures using catalase are shown. Technique used consists in mixing [two milliliters of urine and one milliliter of hydrogen peroxide (11 volumes) in a glass syringe with a needle sealed with paraffin; the embolus is placed in a starting point and is stirred; at the hour result is measured in oxygen milliliters which marks the embolus displacement. To each urine sample, three determinations are made: at 4, 24 and 48 hours. Urine remains at room temperature. A 87,6% of urines with bacteria, by uroculture, were positive at catalase measurement. Thus, curves obtained were due to a bacterial growth in these urines, which were grouped according to the same type of bacterium, and two or three different curves were obtained, allowing us to have a criterion on "bacterial aggressivity", since with these curves we understand it is possible to distinguish between two or more patients presenting the same bacterium, in which one more clinical evidence of renal infection must be present. Because it is simple and economical, this technique is within the reach of any laboratory.

RÉSUMÉ

Grueiro Azcano, E. et al. *Nouvelles techniques pour le dosage de la catalase. Application aux bactériuries*. Rev Cub Msd 23- 2, 1984.

La décomposition de l'eau oxygénée par les microorganismes, se réalise aux dépens de la catalase qu'elle contient. Depuis 1983, *Gottstein* a suggéré l'emploi de la réaction de cette enzyme pour le dépistage des bactéries. Dans cet article, on montre les résultats obtenus lors de réaliser une étude comparative de 119 analyses d'urine et 507 urocultures, et dans lesquelles on utilise la catalase. La technique employée consiste en faire le mélange de deux millilitres d'urine avec un millilitre d'eau oxygénée (11 volumes) dans une seringue en verre portant une aiguille obturée avec de la paraffine; le piston se situe dans le point de départ, et on agite; le résultat est mesuré au bout d'une heure en millilitres d'oxygène, ce qui indique le déplacement du piston. Chaque échantillon d'urine est soumis à trois dosages: au bout de 4 heures, de 24 heures et de 48 heures. L'urine est maintenue à température ambiante. 87,6% des urines avec des bactéries, par l'uroculture, ont été positives lors du dosage de la catalase. De cette façon, les courbes obtenues ont été dues à une croissance bactérienne dans ces urines; celles ayant le même type de bactérie ont été groupées et il a été obtenu deux ou trois courbes différentes qui permettent d'avoir un critère sur "l'agressivité bactérienne", puisque avec ces courbes on considère qu'il est possible de distinguer, entre deux ou trois patients qui présentent la même bactérie, chez qui d'entre eux il doit y avoir plus d'évidences cliniques de l'infection rénale. Donc, il s'agit d'une technique simple et économique qui est à la portée de tous laboratoires.

BIBLIOGRAFIA

1. *Aebi, H.*: Methods of Enzymatic Analyses. Ed. Hens Ulrich Bergmeyer, Second Edition, Vol. 2. Academic Press Inc. New York, 1974. P. 673.
2. *Molland, L.*: Bacterial Catalasa. Acta Pathol Microbiol Scien (Supp.) 2: 66, 1967.
3. *White, H.; R. Smith*: Principles of Biochemistry. Mc Grow Hill Book, Third edition 21: 230-251, 1959.
4. *Salle, A.*: Bacteriología. Ciudad de La Habana, Edición Revolucionaria, 1962. 2da. et., p. 338.
5. *Charboneau, R. I.; M. Hierrien; M. Cagnn*: Comparison of two Methods for Determination of catalase activity. Rev Can Bio! 35 (4): 177-788.
6. *Moustos, S. E.; H. Stein; A. P. Shapiro*: Evaluation of the urinary catalase test In hipertensive vascular disease. J Lab Clin Med 59 (5): 846-840, 1962.
7. *Voisin, A.*: Suelo hierba y cáncer. Editorial Tecnos, S. A., Madrid, 1961. P. 178.

8. *Yamafuji, K.*: Los factores nutricionales en la formación de los virus. Ciudad de La Habana, Edición Revolucionaria, 1966.
9. *Wattiaux, R.; De Connicks*: Partíoles subcellulaires dans les tumeurs I. Distribution intracellulaire de la cytochrome oxidase, glucose 7 phosphatase, la catalase, et plu- sieurs hydrolasess acides dans hepatome chimique transplantable, Europ J Cáncer 4: 1963.
10. *Lage, A.; J. W. Díaz; M. Ramos*: Estructuras subcelulares del Hepatoma 22. I Distribución i'ntracelular de la citocromo C-oxidasa, la succinato deshidrogenasa, la catalasa, proteínas y ácidos nucleicos. Revista CENIC 8: 3, 1977.
11. *Komov, V. P.; H. L. Machizuki*: Factors is posttranscription regulation of rate of liver catalase syntesis in rats with tumor. Bull Exp Biol Med 81/3: 352-354, 1976.
12. *Jankin, N. 2.*: Changes in peroxldation under conditions of 3: 4 benzoplrne induced carcinogenesis (Russ). Inst. Chem. Phys. Acad. Schin. Sun Bifhi, iya 43/2: 99-239, 1978.
13. *Crueiro, E.; J. L. Cabo; A Castellanos; V. Crueiro*: Nueva técnica para determinar la catalasa. Entregado para su publicación en la Revista CENIC.

Recibido: 30 de noviembre de 1982.

Aprobado: 19 de mayo de 1983.

Lic. *Emilio Grueiro Azcano*

Instituto de Oncología y Radiobiología

Calle 29 y E, Vedado.

Ciudad de La Habana.