

HOSPITAL PROVINCIAL DOCENTE "SATURNINO LORA" SANTIAGO DE CUBA

La microtécnica en el diagnóstico bacteriológico

Por:

Dr. GILBERTO MOYA JUSTIZ, Téc. MARIELA DIAZ OJEA

Téc. MARIA DEL CARMEN MORALES SALAS

Moya Jústiz, G. y otros. *La microtécnica en el diagnóstico bacteriológico*.

Por primera vez en nuestro medio, se prueba un método microtécnico para la detección de ureasa producida por microorganismos entéricos gramnegativos, procedentes de productos patológicos de origen humano, con el cual es posible realizar esta investigación bioquímica a 96 cepas bacterianas diferentes a la vez, en un tiempo máximo de 60 minutos y un área de incubación mínima. Se investigaron 1 940 cepas. Al comparar los resultados de la microtécnica con los obtenidos por el método convencional, se observó una coincidencia en el 100%.

INTRODUCCION

A los microorganismos entéricos gramnegativos se les denomina así por constituir el intestino del hombre y los animales, su habitat natural. Algunos forman parte de la flora normal de éste; otros, en cambio, son generalmente patógenos para el ser humano.^{1 3}

Es, por tanto, sumamente importante contar con métodos de identificación rápidos, sencillos y fidedignos, antes de enviar las cepas a los laboratorios centrales de bacteriología, para posterior examen serológico.⁴

Por tal motivo se han desarrollado técnicas capaces de dar respuestas en minutos u horas, es decir, en un tiempo mucho menor que el requerido por los procedimientos clásicos.

Estas técnicas pueden ser clasificadas en tres grupos:

1. Las que utilizan medios que permiten que dos o más reacciones sean observadas al mismo tiempo
2. Las que emplean poco volumen de reactivos y mayor concentración de bacterias.
3. Y aquéllos en que los reactivos o medios están contenidos en tabletas o papeles impregnados.

* Especialista de I grado en microbiología. Jefe del servicio de microbiología del hospital provincial docente "Saturnino Lora".

** Técnico docente del ISCM de Santiago de Cuba.

Estos métodos rápidos de identificación encuentran su mayor aplicación en el diagnóstico clínico de laboratorio.⁵ En relación con el micrométodo, base de nuestro trabajo, se han creado dos tipos diferentes; ambos son rápidos cuando los comparamos con los métodos convencionales y, en casi todos los casos, los resultados concuerdan. En el primero se utiliza un inoculo masivo de crecimiento directo en un pequeño volumen de medio, pudiendo demostrarse con él la producción de enzimas preformadas e inducidas por los microorganismos; en el segundo se emplean suspensiones que son añadidas al sustrato, y sólo se evidencian las enzimas preformadas.

Algunos autores han desarrollado microtécnicas individuales, pero *Weaver y colaboradores*, generalmente con cultivos en crecimiento, produjeron una serie que cubrió muchas de las pruebas de identificación de diagnóstico bacteriológico. Por otro lado, *Claeke y Cowan* utilizaron, en una serie de micrométodos, suspensiones bacterianas para la investigación de acetilmetilcarbinol y gluconato.^{4,5}

En nuestro medio, una de las investigaciones bioquímicas empleadas con mayor frecuencia en el diagnóstico diferencial entre las bacterias intestinales patógenas y no patógenas, es la prueba de detección de la ureasa.

La prueba rápida para la detección de la ureasa fue señalada por *Stuart, Van Stratum y Rustigian*, en 1945, utilizando un medio descrito por *Rustigian y Stuart*, en 1941. Investigadores como *Ferguson y Hook* (1943) y *Elek* (1948) usaron otros medios; pero por cualquiera de estos métodos, los *Proteus* dan resultados positivos mientras que las *Salmonellas* y *Shigellas* resultan siempre negativas.^{4,5}

Por otro lado, las microtécnicas en general han encontrado una amplia aplicación en el diagnóstico virológico,^{6,9} así como en el parasitológico.^{10,13}

El conocimiento de la positividad real de su aplicación en bacteriología, constituye el motivo de la realización de este trabajo, en el que nos hemos propuesto los siguientes objetivos.

Objetivos

Ofrecer un método económico, sencillo y de fácil realización e interpretación, que permita establecer rápidamente el diagnóstico diferencial entre microorganismos entéricos productores de ureasa y no productores, fundamentalmente entre los de los géneros *Proteus* y *Salmonella*.

- Reducir considerablemente, con el empleo del método propuesto, el período de incubación y de lectura.
- Disminuir la cantidad de medios y materiales utilizados en la técnica convencional.

MATERIAL Y METODO

Materiales

- Bandejas de plexiglass con 96 excavaciones de 0,3 ml/c/u.
- Agujas y asas de nícrón.
- Placas de Petri de 100 x 100 mi.
- Tubos para cultivo de 100 x 13 mm.
- Medios de: agar nutritivo, agar MacConkey, urea líquida y sólida, Klíglér, agua peptonada, citrato y movilidad.
- Incubadora regulada a 37 °C.
- 1 940 cepas de microorganismos entéricos gramnegativos.

Método

Con el fin de estudiar comparativamente el método convencional de detección de ureasa con la microtécnica de urea líquida y sólida propuesta por nosotros, se investigaron 1 940 cepas de microorganismos entéricos gramnegativos.

Todas las cepas (cultivos puros), identificadas previamente, se pasaron a cuñas de agar nutritivo. A partir de éstas, se les realizó la prueba convencional y microtécnica, respectivamente, de la producción de ureasa.

En el caso de la microtécnica propuesta, las cepas fueron inoculadas en las excavaciones de 0,3 ml de capacidad, que en número de 96 poseen las bandejas de plexiglass, en lugar de los tubos de ensayo que requieren 2-3 ml de medio de urea. La inoculación se hizo por punción con aguja en la urea sólida y con asa cuando ésta era líquida.

La lectura se efectuó cada 15 minutos por espacio de cuatro horas, anotándose los resultados en el libro de registro de la investigación.

RESULTADOS

Considerando que todo país en vías de desarrollo debe ir hacia la búsqueda de técnicas que le permitan hacer más con igual o mayor calidad y menos costo, nuestros resultados, como puede verse en el cuadro I, son realmente alentadores. Todas las cepas investigadas (1940) mostraron resultados idénticos a los obtenidos por el proceder estándar, lo que, comparado con el tiempo empleado por el método convencional (entre 2-4 horas y más), constituye ya una ventaja.

CUADRO I
RESULTADOS COMPARATIVOS ENTRE LOS METODOS EVALUADOS

Microorganismos	No.	Método estándar (urea líquida)		Microtécnica líquida)		Microtécnica (Urea sólida)	
		Posit.	Neg.	Posit.	Neg.	Posit.	Neg.
Escherichia coli	810	0	810	0	810	0	810
Proteus sp	790	790	0	790	0	790	0
Klebsiella sp	290	290	0	290	0	290	0
Salmonella sp	10	0	10	0	10	0	10
Enterobacter sp	20	0	20	0	20	0	20
Pseudomonas aerug.	20	0	20	0	20	0	20
Total	1 940	1 080	860	1 080	860	1 080	860

Fuente: Libro registro
Hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1981.

En relación con el tiempo (cuadro II), 1 047 cepas (53,97 %) exhibieron sus resultados a los 15 minutos; 291 (15,0 %), a los 30; 436 (22,47 %), a los 45 minutos; 166 (8,56 %), a los 60 minutos.

Como puede verse, nunca se excedió la obtención de los resultados más de 60 minutos.

La coincidencia de los resultados, la utilización de menos tiempo y de menor cantidad de materiales y medios, nos lleva a las siguientes conclusiones.

CUADRO II

TIEMPO EMPLEADO EN OBTENERSE LOS RESULTADOS POR LA MICROTECNICA EN 1 940 CEPAS

Número de cepas	%	Tiempo en minutos			
		15	30	45	60
1 047	53,97	x			
291	15,0		X		
436	22,47			x	
166	8,56				x

Fuente: Libro registro

Hospital provincial docente "Saturnino Lora", 1981.

CONCLUSIONES

1. En nuestra investigación, la microtécnica propuesta resultó ser tan sensible y específica como el método convencional comúnmente empleado.
2. Para la lectura de los resultados se necesitaron sólo 60 minutos de incubación, mientras que con el método convencional se precisó un mayor tiempo.
3. Con la microtécnica propuesta pueden realizarse 96 investigaciones bioquímicas a la vez en un área de incubación mínima.
4. La microtécnica es más sencilla, de menos costo y utiliza un mínimo de materiales y medios.
5. Se reduce en aproximadamente 10 ó 15 veces el costo de la investigación, lo que constituye una innegable ventaja económica.

RECOMENDACION

Que sea evaluado este método por otros investigadores, con vistas a su aplicación en aquellos laboratorios donde se trabaje en la identificación de muchas cepas a la vez, y sea necesario determinar la actividad ureásica de éstas.

SUMMARY

Moya Jústiz, G. et al. *Microtechnical method in the bacteriologic diagnosis.*

By first time, a microtechnical method for detection of urease produced by gramnegative enteric microorganisms from human pathologic producis is proved in our environment. By

such method is possible to perform this biochemical research to 96 different bacterial strains at the same time, in 60 minutes as maximal time and in a minimal incubation area. A total of 1 940 strains were investigated. When results of the microtechnical method are compared with those obtained by traditional method, 100% agreement was observed.

RÉSUMÉ

Moya Jústiz, G. et al. *La microtechnique dans le diagnostic bactériologique.*

Pour la première fois dans notre milieu, on met à l'épreuve une méthode microtechnique pour le dépistage d'uréase produite par des microorganismes entériques gram-négatifs, provenant de produits pathologiques d'origine humaine; avec cette méthode il est possible de réaliser cette recherche biochimique sur 96 souches bactériennes différentes en même temps, pendant un temps maximum de 60 minutes et sur une aire d'incubation minimum. On a étudié 1 940 souches. Lors de comparer les résultats de la microtechnique avec ceux obtenus par la méthode conventionnelle, il a été constaté une coïncidence dans 100% des cas.

BIBLIOGRAFIA

1. *Jawetz, E.*: Manual de Microbiología Médica. 5ta. ed., Méjico, El Manual Moderno, 1975. P. 229.
2. *Pons, Pedro; A. Ferreras y otros*: Enfermedades infecciosas y Enfermedades Alérgicas. 3ra. ed., Barcelona, Salvat, 1969. Pp. 115 y 239.
3. *Zinsser*: Microbiología de Zinsser. 3ra. edición en español, Méjico, Uteha, 1967.
4. *Ewing, W. H.; P. R. Eduardo*: Identificación de Enterobacteriaceal. Ediciones Revolucionarias, ICL, La Habana, 1970. Pp. 17-18.
5. *Cowan, S. T. et al.*: Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge at the University Press, Cambridge, 1966. Pp. 166-174.
6. *Palmer, D. F. et al.*: Advanced laboratory techniques for influenza diagnosis. U.S. Department of Health Education and Welfare, Atlanta, Jan. 1925. Pp. 101-133.
7. *Palmer, D. F. et al.*: Standardized rubella hemagglutination inhibition test. U.S. Department of Health Education and Welfare, Atlanta, Oct. 1970. Pp. 1-40.
8. *Palmer, D. F. et al.*: Serodiagnosis of toxoplasmosis, rubella, cytomegalic inclusion disease, herpes simplex. U. S. Department of Health Education, and Welfare, Atlanta, Jan. 1974. Pp. 1-111.
9. *Enders, B.; X. D. Hungerer*: Serodiagnóstico en amebiasis. Hojas de Laboratorio, Jul. 1975. Pp. 23-41.
10. *Schwzinsberg, H.*: Serodiagnóstico en toxoplasmosis. Hojas de Laboratorio, Jul. 1975. Pp. 23-41.
11. *Enders, B.*: Serodiagnóstico en esquistosomiasis. Hojas de Laboratorio, Jul. 1975. Pp. 48-54.
12. *Zwisler, O.*: Serodiagnóstico en equinococosis. Hojas de Laboratorio, Jul. 1975. Pp. 66-82.
13. *Microtécnicas en diagnóstico microbiológico.* U. S. Department of Health, Education and Welfare, Atlanta, Jan. 1974.

Recibido: 26 de octubre de 1983

Aprobado: 30 de enero de 1984

Dr. *Gilberto Moya Jústiz*
Hospital provincial docente "Satumino
Lora". Santiago de Cuba