

Reactivo de oxidasa como ayuda en la lectura de pruebas de sensibilidad a antibióticos en gonorrea

DR. TILLMANN BRUNKER*

DR. BERNAL FERNÁNDEZ*

En la práctica bacteriológica se presenta con frecuencia el problema de que los gonococos recién aislados crecen muy pobremente y esto reviste especial importancia cuando se trata de llevar a cabo pruebas de sensibilidad a los antibióticos, debido a la dificultad para verificar la existencia de una zona de inhibición alrededor de los discos.

MATERIAL Y METODOS

Usamos el medio Base de Agar GC (Difco) con suplemento B (Difco) y 5% de sangre, achocolatando el medio a 56° C. y vertiéndolo luego en platos de petri estériles.

Para montar las pruebas de sensibilidad a los antibióticos, obtuvimos las cepas de gonococos a partir de material clínico, el cual se sembró en el medio dicho y se incubó a 37° C. en frascos herméticos con candela encendida para elevar la concentración del dióxido de carbono en esa atmósfera. Al día siguiente se sembraron nuevos platos mediante rayado tupido, con torunda estéril, a partir de las colonias aisladas y se colocaron los discos de antibióticos sobre su superficie. Los platos así preparados se incubaron en la forma ya indicada durante 24 horas, después de lo cual fueron inundados con reactivo para oxidasa al 5% (Oxalato de N, N-dimetil-p-fenilendiamino) y el exceso de reactivo fue decantado inmediatamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con el método indicado se demarcaron claramente las zonas de crecimiento de la bacteria aún cuando, en ausencia del reactivo, no se observara crecimiento alguno.

Empleamos el reactivo de oxidasa para el propósito de este trabajo al 5% en vez del 1% habitual (1) por haber observado que así se obtiene una demarcación más nítida de la zona de inhibición. En unos 10 a 15 minutos después de haber inundado el plato con el reactivo se puede notar claramente el color más oscuro característico de las zonas en que el gonococo está creciendo, quedando sin cambio de color la zona de inhibición alrededor de los discos de

* Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad de Costa Rica, Cátedras de Microbiología General y de Microbiología para Estudiantes de Medicina.

antibióticos efectivos contra la bacteria. En la figura 1 se puede observar la ayuda que significa el uso del reactivo de oxidasa para visualizar las zonas de inhibición en pruebas de sensibilidad a antibióticos en gonorrea.

Aún cuando no lo hemos ensayado, sugerimos el uso de nuestro método también para las pruebas de sensibilidad a antibióticos de meningococos, ya que todas las neiserias son oxidasa positivas.

Tanto para el uso antes señalado como para la identificación tentativa de *Neisseria gonorrhoeae* (o de *N. meningitidis*) mediante la prueba de la oxidasa preferimos el uso del reactivo en la forma de "oxalato" en vez de la de "hidrocloruro" por cuanto el primero es más estable tanto en la forma de sal como en la de solución de trabajo que el segundo (2); el "oxalato" tiene la ventaja adicional de reaccionar más lentamente para dar la prueba de oxidasa, permitiendo así un tiempo de observación y de trabajo más prolongados antes de que el reactivo afecte adversamente a la bacteria; y finalmente, aunque la forma de "oxalato" requiera de calentamiento para lograr su completa disolución, presenta la ventaja de que la solución obtenida es perfectamente clara y estable hasta por tres días. Los mejores resultados se obtuvieron dejando la solución fresca del reactivo en reposo, durante aproximadamente una hora antes de usarlo, hasta que adquiriera un tinte rosado.

RESUMEN

Se ensaya con buenos resultados el uso del reactivo de oxidasa al 5% (Oxalato de N,N-dimetil-p-fenilendiamino) para facilitar la lectura de pruebas de sensibilidad a antibióticos en casos de gonococos recién aislados del paciente. Dicho reactivo hace que el crecimiento débil de la neiseria se destaque como un color más oscuro, de las zonas de inhibición de los antibióticos efectivos contra la bacteria.

Se hace énfasis en las ventajas de usar el reactivo de oxidasa en la forma de "oxalato" por sobre la de "hidrocloruro", tanto para el propósito ya dicho como para su uso en la identificación de neiserias.

SUMMARY

The oxidase reagent (N,N-dimethyl-p-phenylenediamino oxalate) at a concentration of 5% is successfully employed as a means of facilitating the reading of antibiotic sensitivity tests performed on strains of gonococci recently isolated from the patient. This reagent makes the poorly growing neisseria stand out in darker color from the clear inhibition zones around the antibiotic discs effective against the bacterium.

The advantages of using the "oxalate" over the "hydrochloride" form of the oxidase reagent are emphasized both for the aforementioned purpose as well as for its use in the identification of neisseria.

BIBLIOGRAFIA :

- 1.—BLAIR, J. E., E. H. LENNETTE, AND J. P. TRAUNT.
Editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 727 pp., Bethesda, Amer. Soc. for Microbiol., 1970.
- 2.—HARRIS, A. H., AND M. B. COLEMAN.
Editors. *Diagnostic Procedures and Reagents*. 4th ed., 888 pp., New York, Am. Publ. Health Assoc., 1963.

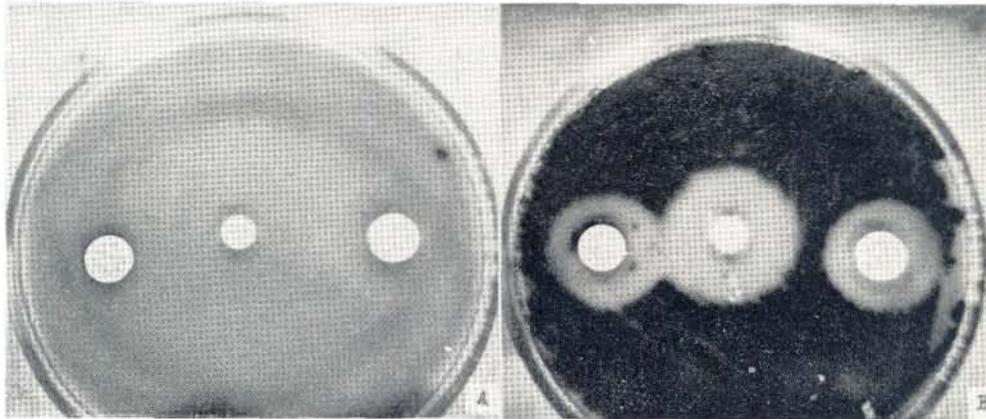


Fig. N^o 1.—(A) Prueba de sensibilidad a antibióticos practicada a cultivo de gonococos (la observación directa del plato apenas permitió discernir contraste entre las zonas de inhibición y la de crecimiento).

(B) El mismo plato 10 min. después de tratarlo con el reactivo de oxidasa. La ventaja del uso del reactivo para la visualización de las zonas de inhibición queda claramente demostrada.