

I.™ Identificación y aislamiento del B. Tífico

DR. ANTONIO VIDAL

Este bacilo puede aislarse principalmente de: la sangre, la orina y las heces.

1o.—Para la sangre se usa el Hemocultivo en caldo o en caldo-bilis conforme la técnica siguiente:

- a) Se incuba a 37 C y se examina diariamente. Se preparan extensiones teñidas por el método de Gram y se hace el trasplante sembrando en estrías la superficie de placas de agar—eosina—azul de metileno.
- b) Las colonias del B. Tífico son translúcidas, incoloras o rosadas.
- c) Se preparan extensiones teñidas por el método de Gram. Si se encuentran bacilos de Gram negativos, se siembra la superficie y la base de tubos de agar con azúcar doble de Russell y se deja en incubación para establecer la diferenciación.
- d) Sino hubiese proliferación en el término de 10 días, los cultivos pueden considerarse estériles. Los cultivos positivos por lo general muestran los gérmenes en el término de 3 días.

2o.—Para la Orina

- a) Siempre es aconsejable recoger la orina de un modo aséptico por cateterismo; el bacilo de estar presente, se encuentra usualmente en cultivo puro. La orina recogida sin las precauciones dichas ha de mostrar con toda probabilidad B. coli, estafilococos y otros gérmenes.
- b) Por medio de una pipeta estéril se colocan 2 a 5 cc. en un frasco con caldo nutrido. Así mismo se siembra 1 o 2 cc. sobre la superficie de una placa de eosina—azul de metileno—agar.
- c) Se deja en incubación durante 48 a 72 horas. Si no hay proliferación en este período el espécimen puede considerarse negativo o estéril.
- d) Si hubiera proliferación se hacen extensiones teñidas por el método de Gram. Sobre el medio de eosina—azul de metileno—agar las colonias son translúcidas, incoloras o rosadas. Háganse trasplantes sobre tubos inclinados de agar con doble azúcar de Russell para identificaciones ulteriores.

30.—Método para las heces

Uno de los mejores métodos es el Agar con Sulfito de bismuto de Wilson y Blair. Teniendo en cuenta que este medio inhibe el crecimiento de la mayoría de las razas de B. Coli, es conveniente sembrar las placas con una cantidad relativamente glande de heces.

Técnica:

- a) Se siembran sobre una placa grande tres o cuatro asas del material, teniendo cuidado de no romper la superficie. Luego se diluye una asa del mismo espécimen en 1 ce. de agua esterilizada y se extienden tres o cuatro asas sobre una segunda placa. La placa más fuertemente más inoculada habrá de presentar colonias típicas, incluso en heces con teniendo una cantidad relativamente pequeña de bacilos, en tanto que la segunda placa ofrecerá colonias características discretas.
- b) Se dejan en incubación durante 24 a 48 horas. Las colonias' típicas son más bien pequeñas, aplastadas, muy negras con brillo metálico. Están rodeadas de halos oscuros de color de humo, que sin embargo pueden faltar en las colonias que están muy aproximadas y en tal caso éstas son pequeñas, brillantes y verdes, semejantes a las de los bacilos paratíficos.
- c) Las colonias sospechosas se recogen y se trasplantan a tubos de agar con doble azúcar de Russell para ulteriores identificaciones.
- d) Con el **B. tífico** se pueden ejecutar subcultivos en agar azúcar doble de Russell, dejando en incubación de 24 a. 48 horas a 37 C. El B. tífico produce ácido pero no gas en la base del medio, quedando sin alteración la superficie inclinada (alcalina).

Obtenido tal resultado, se preparan extensiones teñidas por el método de Gram. Los bacilos Gram negativos son con toda probabilidad bacilos tíficos, pero para la identificación definitiva se precisa realizar las pruebas siguientes:

- 10.—Se hacen siembras en tubos de fermentación con caldos conteniendo maltosa, dextrosa, manita, sacarosa y lactosa.
- 20.—Se dejan en incubación de 24 a 48 horas; el bacilo produce ácido, pero no gas con dextrosa, maltosa y manita, en tanto que no forma ninguno de los dos productos con la sacarosa y la lactosa.

2.—MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS BACILOS PARATÍFICOS A. Y B.

- a) Son exactamente análogos a los descritos para la identificación y aislamiento del bacilo tífico.
- b) Sobre placas de agar con **sulfito** de bismuto las colonias bacilo paratífico A. son claras, secas o de tamaño medio y verde claras con el centro más oscuro. Las del bacilo paratífico B. son grandes, oscuras y húmedas, pardo grisáceas y confluentes.
- c) En medio de agar doble azúcar de Russell, ambos bacilos paratíficos producen ácido con una pequeña cantidad de gas en la base, sin cambiar la superficie inclinada (alcalina).
- d) Ambos producen ácido y gas en caldos con tubos de fermentación y dextrosa o manita; ninguno de los dos fermentan la lactosa. El paratífico A. no fermenta la xylosa, en tanto que el paratífico B. produce ácido y gas.
- e) El bacilo paratífico A. no ennegrece el agar acetato de plomo por la producción de H. S. en tanto que el paratífico B. si le? hace.
- f) El bacilo paratífico A. produce una ligera acidez de la leche, en tanto que el paratífico B. vuelve a la leche fuertemente alcalina después de iniciar producción acida.
- g) La identificación final tanto del B. tífico como para los paratíficos, se realiza por medio de las pruebas de aglutinación con sus respectivos inmunes sueros.

3.—MÉTODOS PARA IDENTIFICAR BACILOS DISENTÉRICOS

- 1o.—Los bacilos disentéricos aparecen como bastones o coco-bacilos y se disponen generalmente aislados. Se tiñen con facilidad y son Gram negativos. Teniendo en cuenta que tanto su morfología como su propiedad de tinción no son características, es natural que el examen de las extensiones no posea gran valor diagnóstico.
- 2o.—Con fragmentos de material muco-purulento teñidos de sangre se preparan siembras en estrías sobre agar—eosina—azul de metileno, las cuales se dejan en incubación durante 24 horas a 37 C. Las colonias del B. disentérico de Shiga son pequeñas, redondas, traslúcidas o incoloras.
- 3o.—Las colonias sospechosas formadas por Bacilos Gram negativos se trasladan a tubos inclinados de agar sangre. Se dejan en incubación durante 24 horas y se examina la movilidad tiñendo por el método de Gram.
- 4o.—Para la identificación se hacen siembras en agua peptonada a fin de investigar la producción del indol y en leche tornasolada, en tubos de fermentación con dextrosa, manita, lactosa y dulcita para comprobar la formación

de ácido (no se produce gas). Las características diferenciales de los más importantes grupos se detallan en el cuadro siguiente:

GERMENES	Dextrosa	Manita	Lactosa	Dulcita	Indol
B. dysenterie Shiga.....	+	-	-	-	-
B. ambiguus Schmitz.....	+	-	-	-	+
B. dysenterie Flexner.....	+	-	-	-	+
B. dysenterie His-Park.....	+	+	-	-	+
B. dysenterie Strong.....	+	+	-	-	+
B. Alcalescens.....	+	+	+	+	+
B. dispar.....	+	+	+	-	-

4o.—Material necesario:

1o. Vidriería y otros materiales

- 24 cajas de Petri medianas.
- 12 cajas de Petri grandes.
- 100 tubos de cultivo tamaño corriente.
- 50 tubos de fermentación corrientes.
- 6 Balones fondo plano de 250 cc.
- 12 pipetas serológicas de 1 cc. en 1/10.
- 6 pipetas serológicas de 10 cc. en 1/10.
- 12 varillas de vidrio para siembras.
- 2 Asas de platino o neocromo.

2o. Medios de cultivo

- 3 libras Bacto Agar deshidratado.
- 3 " Bacto caldo deshidratado.
- 2 " Bacto eosina—azul de metileno Agar.
- 2 " Bacto doble azúcar de Russell.
- 2 " Bacto Agar con sulfato de bismuto.
- 1/2 " Bacto Agar con acetato de plomo.

3o. Azúcares siguientes:

- 1 Libra dextrosa.
- 1 " sacarosa.
- 1 " lactosa.
- 4 Onzas maltosa.
- 4 " manita.
- 4 " dulcita.
- 2 " xilosa.

So. Transporte de las maestras

Estas se pueden transportar por avión; pueden sembrarse el mismo día, en cajas de madera con frascos de 1 onza, de boca ancha con tapón de bakelita.