

7.4: Métodos para identificación de una cepa bacteriana

A continuación se propone un esquema de trabajo para la identificación de una cepa bacteriana desde el punto de vista bioquímico (biotipo):

A. Obtención de un cultivo puro. Para determinar sus características, los microorganismos deben haber desarrollado en un cultivo puro, es decir un grupo de organismos que han desarrollado a partir de una célula única, o un único grupo de células iguales.

B. Examen microscópico de células vivas y de frotis teñido por coloración de Gram. Se determina así la forma y la respuesta a dicha coloración del microorganismo en estudio, la forma de agrupación, la presencia de esporas y otras características de interés.

C. Determinación de las características nutricionales. En general se desprenden de los métodos empleados en el aislamiento y cultivo anteriores: fotoautótrofo, fotoheterótrofo, quimioautótrofo, quimioheterótrofo.

D. Realización de pruebas primarias. Permiten determinar el género, grupo de géneros o en algún caso la familia a la que pertenece una cepa. Estas pruebas son: Gram, morfología, catalasa, oxidasa, OF (oxido-fermentación), fermentación de la glucosa, presencia de endosporas, crecimiento en aerobiosis y anaerobiosis y movilidad.

E. Realización de pruebas secundarias y terciarias a efectos de llegar a especie. Estas dependerán del género o familia determinado, por ejemplo: producción de pigmentos, de indol a partir de triptofano, producción de coagulasa, de fenilalanina desaminasa, etc.

Algunos factores que se deben tomar en cuenta al momento de identificar un microorganismo desde el punto de vista bioquímico son:

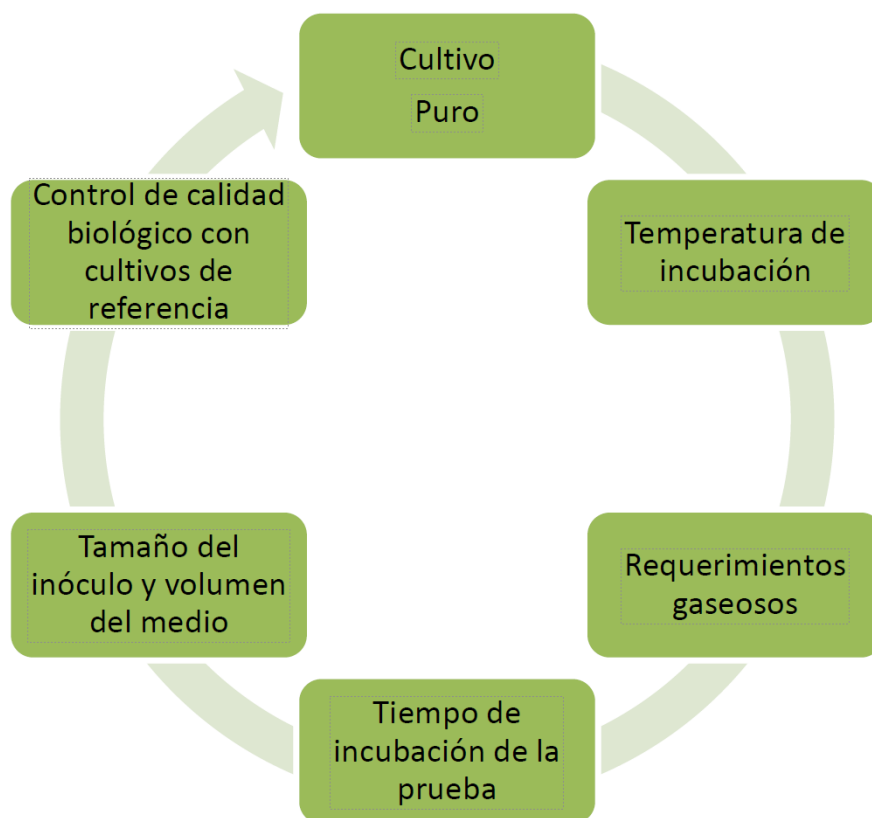


Figura 7.4.1: (CC-BY; Este libero)

La identificación de un microorganismo puede realizarse utilizando diferentes combinaciones de características y diferentes criterios en la evaluación de similitudes. Los ensayos bioquímicos tradicionalmente usados, llamados pruebas bioquímicas convencionales son pruebas simples que evidencian en forma rápida una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas o

determinada vía metabólica, crecimiento en presencia de inhibidores, etc. No significan de ninguna manera un estudio profundo del metabolismo bacteriano. Existen numerosos sistemas de identificación totalmente automatizados, que simplifican mucho el trabajo y la interpretación de los resultados.

Para realizarlas, se pueden usar diferentes sistemas de trabajo (medio de cultivo, indicador, revelador, etc.) que puede cambiar con diferentes organismos: por ejemplo, debe agregarse factores de crecimiento en el caso de estudiar la fermentación de distintos azúcares cuando se sabe que el microorganismo en estudio es exigente.

A la identificación de la especie se puede llegar según diversos sistemas: sistemas comerciales, manuales de identificación, etc. **Los sistemas comerciales**, usan modificaciones de las pruebas bioquímicas convencionales, ya sea sustratos deshidratados, tiras de papel de filtro impregnadas en reactivos o pequeños compartimentos con medios prontos para sembrar. En todos los casos, se emplean códigos numéricos para la interpretación de los resultados. Una limitación de este tipo de método de identificación es la aparición de cepas mutantes y la adquisición de plásmidos que pueden dar origen a cepas con características diferentes. Este tipo de método de identificación también ha sido desarrollado para la identificación de levaduras y de otros hongos.

Los sistemas comerciales más frecuentemente usados son:

API 20E: es un sistema estandarizado para la identificación rápida de bacterias Gram negativas y consiste en una plantilla con microtubos conteniendo medios de cultivos deshidratados que se reconstituyen al agregar la suspensión bacteriana. Permite realizar 23 pruebas bioquímicas estandarizadas y miniaturizadas a partir de una sola colonia bacteriana (Figura 7.1).

Los microtubos se inoculan con una suspensión del microorganismo en estudio, en agua o solución salina, que hidrata los medios. Las tiras se incuban a 37° C y por efecto del metabolismo bacteriano se van a producir cambios de color espontáneamente o al añadir los respectivos reactivos. La lectura de las reacciones se hace mediante comparación con una tabla de lectura donde se indica si los microorganismos deben considerarse positivos o negativos para cada reacción según el color aparecido.

Resultados: La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con los de la tabla de lectura.



Figura 7.4.2: API20E. a) todos los resultados positivos. B) todos los resultados negativos (<http://www.tgw1916.net/Tests/api.html>)

BBL, Enterotube II: es un sistema para la identificación rápida de enterobacterias, definidas como bacilos Gram negativos, aerobios y aerobios facultativos, oxidasa (-). Es un tubo de plástico con 12 medios de cultivo contenidos en compartimentos individuales que se inoculan simultáneamente en una etapa y permiten detectar 15 características bioquímicas.

OXI/FERM TUBE II: es un sistema listo para usar para la identificación de bacilos Gram negativos, aerobios o aerobios facultativos, oxidasa (+). Consiste en un tubo de plástico de 12 medios de cultivo que permite la realización simultánea de 14 pruebas bioquímicas.

API 50 CH: es un sistema listo para usar para la identificación de *Lactobacillus*.

Otros sistemas:

- Quintet 3H de Diagnostico Pasteur para Enterobacterias. API 10S, versión miniaturizada del API 20 E
- API *Listeria*
- API NH (*Neisseria* - *Haemophilus*)
- API 20 C (para levaduras del género *Candida*) Auxacolor de Diagnostico Pasteur
- Fongiscreen 4H de Diagnostics Pasteur (identificación de levaduras de interés médico)

Cada laboratorio que trabaja en grupos especiales de microorganismos: bacterias lácticas, levaduras, enterobacterias, rhizobios, etc. han desarrollado sistemas propios de identificación.

Si bien existen una gran variedad de pruebas bioquímicas empleadas con fines de identificación, se enumerarán a continuación las más usadas, agrupadas según el tipo de ensayo.



Figura 7.4.3: (CC-BY; Este libero)

This page titled [7.4: Métodos para identificación de una cepa bacteriana](#) is shared under a [not declared](#) license and was authored, remixed, and/or curated by [María M. Reynoso](#), [Carina E. Magnoli](#), [Germán G. Barros](#) y [Mirta S. Demo](#).