

## Modificación a un método simple para investigar ureasa e indol \*

por

R. R. Brenes-Madrigal

J. B. Soto-Vargas

(Recibido para su publicación el 7 de Noviembre de 1953)

El método original propuesto por RAPPAPORT y HENING (3), del Laboratory of Belinson Hospital Petah Tikva, de Israel, es como sigue:

Materiales:

1) *Medio de cultivo:*

Triptona Difco ... ..	1 gramo
Solución salina al 0,9 % ... ..	100 cc
Solución alcohólica de fenoltaleína ... ..	0,5 cc
Solución de urea al 50 % ... ..	1 gota

2) *Reactivo para Indol:*

Alcohol amílico ... ..	75 cc
HCl concentrado ... ..	15 cc
Paradimetilaminobenzaldehido ... ..	2,5 cc

La triptona se disuelve en la solución salina, agregándose luego la solución alcohólica de fenoltaleína. El medio se distribuye en pequeñas cantidades (aproximadamente 1 cc en cada tubo), esterilizándose luego por 20 minutos a 115°C.

\* Laboratorio Bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública.

La solución concentrada de urea se prepara disolviendo 50 gramos de urea en 100 cc de agua destilada. Esta solución viene a ser estéril después de permanecer 24 horas a temperatura ambiente, lo que evita la filtración por medio de filtros Seitz. La solución debe guardarse en botellas previamente esterilizadas.

*Procedimiento:*

Poco antes de usarse el medio, se agrega una gota de la solución concentrada de urea a los tubos con triptona. Las colonias sospechosas en S.S. (1), u otro medio, se pasan a triple azúcar de HAJNA (1), y se inocula un tubo de triptona-urea con la misma asa. Generalmente después de un período de incubación de 6 horas a 37°C, la habilidad de las bacterias para hidrolizar la urea se muestra por un enrojecimiento del medio debido a la acción del amoníaco liberado de la propia urea (3).

Nosotros hemos introducido algunas modificaciones al medio original expuesto, que se pueden resumir así: Primero, cambiar el indicador de fenolftaleína por azul de bromotimol al 0,04 por ciento; de este indicador agregamos 5 cc para cada 100 cc de medio de cultivo. Segundo, investigar indol por medio del reactivo de Ehrlich haciendo extracción previa con xilol.

Las razones que hemos tenido para hacer tales cambios las basamos en lo siguiente: la zona de viraje de la fenolftaleína se encuentra entre pH 8,3 y pH 10,0 correspondiendo el pK de la misma a un pH de 9,7. En estas condiciones, no es sino hasta que el pH es igual al pK que el indicador comenzará a hacerse patente al ojo humano (4), estando este cambio sujeto al efecto del ion común.

Como se sabe, los indicadores son ácidos o bases débiles cuyas constantes de ionización son pequeñas, y el equilibrio de sus iones es similar al de los ácidos y bases débiles comunes (2).

De acuerdo con este criterio, la habilidad de una bacteria para descomponer la urea y producir suficiente cantidad de amoníaco, no se pondría de manifiesto usando indicador de fenolftaleína, sino después de 6 horas de incubación a 37°C (3), o bien, cuando se emplea como indicador rojo de fenol, después de 12 a 48 horas en las mismas condiciones, una vez que se ha alcanzado en el medio de cultivo un pH de 8,1 o más alcalino (1).

El azul de bromotimol tiene un pH de 6,0 y 7,6 en la zona de viraje, y cuando el indicador está el 50 por ciento disociado (pK igual a pH) el pH es de 7,0. En estas circunstancias, una bacteria ureasa positiva alcanza pronto el pK del indicador, apenas iniciada la hidrólisis en la urea, haciéndose patente este fenómeno por el cambio en el medio de cultivo de un color amarillo verdoso al azul manifiesto. A este respecto, es interesante hacer notar que la ureasa es una enzima cuyas condiciones ópticas de trabajo se señalan a pH 7,0 y el pH inicial del medio propuesto por nosotros es de 6,9. Cuando éste llega al azul manifiesto el pH es de 8,05.