

DLONE

\$500

### FECHA DE DEVOLUCION

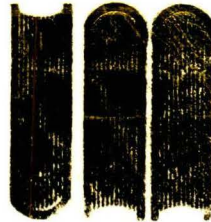
El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

El lector pagará \$ pesos por cada día que pase una semana después del vencimiento.

10 OCT. 1988

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

ESTUDIO Y COMPARACION DE DOS TÉCNICAS  
DE RECUENTO BACTERIANO EN PLACA

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

QUE PRESENTA

*LUCILA ARABELLA LÓPEZ LÓPEZ*

EN OPCION AL TITULO DE  
LICENCIADO EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD  
EN ANALISIS CLINICOS

*Blanca Estela Guzmán*

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 1976

BIBLIOTECA  
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

040.54  
L 864e  
1776

800222

Con cariño

A mis padres

Alfonso López Quiroga

Lucila López de López.



A mis Maestros.

## I N D I C E

- 1).- Introducción..... Pag. 1
- 2).- Material y métodos..... Pag. 6
- 3).- Resultados..... Pag.17
- 4).- Discución y conclusiones..... Pag.26
- 5).- Resúmen..... Pag.33
- 6).- Bibliografía..... Pag.34

## INTRODUCCION

La enumeración de bacterias por el método de recuento en placa, se basa en la presuposición de que cada microorganismo dará origen a una colonia visible después de un determinado período de incubación en un medio adecuado; así, el número de colonias que resulten será el mismo que el número de bacterias inoculadas en el medio.

El método de recuento en placa solamente proporciona un recuento mínimo de bacterias viables, ya que algunos microorganismos pueden quedar tan cercanos entre sí que sus colonias se unan y aparezcan como una sola; también los microorganismos suelen aparecer en acúmulos que no se separan al preparar las diluciones y cada acúmulo será contado como una sola colonia. Además existen otros factores que afectan la exactitud del método tales como la temperatura de incubación, el tiempo de incubación, la composición del medio usado, material, etc.

Ninguna de las técnicas de recuento en placa proporciona un resultado exacto en cuanto al número de bacterias, ya que ningún medio de cultivo ni condiciones de --



incubación permitirán el crecimiento de todos los tipos de bacterias presentes (1). Sin embargo el método de -- recuento en placa es usado más que cualquier otro para la enumeración de bacterias en la leche (2) (3), agua - (4), alimentos (5), orina (6) (7) y otros cultivos líqui- dos y los resultados no son más que cifras estimativas. Sin embargo tanto en la microbiología industrial como - en la microbiología médica existen rangos definidos - - para determinar el control de calidad en el caso de la industria y un diagnóstico clínico en el caso de la me- dicina.

La uretra, principalmente cerca del orificio - externo, está normalmente colonizado por bacterias y -- éstas y las bacterias que causan la infección son las - mismas, la única diferencia entre una contaminación y - una verdadera infección está en el número de bacterias. El hecho tan solo de identificarlas no dice nada para - un acertado diagnóstico.

No se puede asegurar que se obtiene una mues- tra libre de bacterias ni utilizando cateter, ni tiran- do la primera porción de orina, ni utilizando otros me- dios especiales para recoger la orina. Por estas razo- nes es indispensable el cultivo cuantitativo de orina.

Un cultivo adecuado de orina no solo implica -



el aislamiento e identificación de la bacteria presente en la orina (cultivo cualitativo), sino que también significa la determinación del número de bacterias presentes por unidad de volúmen en la orina (cultivo cuantitativo).

El diagnóstico y por lo tanto la terapia racional de las infecciones del tracto urinario, requieren de un cultivo cuantitativo de orina (8).

Aunque el método de recuento en la placa no nos dé un número exacto de bacterias, es el procedimiento más usado y satisfactorio que se ha venido utilizando para medir el grado de bacteriuria (7) (8).

De acuerdo con bases estadísticas el significado de un cultivo positivo es evaluado formalmente en términos de número de bacterias presentes en la orina: menos de diez mil bacterias por mililitro, no se considera infección; entre diez mil y cien mil bacterias por mililitro, probable infección; más de cien mil bacterias por mililitro, indica una infección casi segura (6) (7) (8).

En el caso de la leche, debido a que es un medio de cultivo excelente para las bacterias donde éstas se multiplican rápidamente y tomando en cuenta la importancia de este alimento, es necesario tener estrictas medidas de control de calidad.



La seguridad y la estabilidad de la leche son valorados por el análisis bacteriológico de la leche.

El número total de bacterias de una leche refleja su calidad higiénica; así la leche de alta calidad tiene un recuento bacteriano bajo y no contiene bacterias patógenas.

El método de recuento en placa es más utilizado donde los recuentos bacterianos son bajos y es por esto que en leches pasteurizadas es el método que generalmente se emplea y, en algunas ocasiones también para analizar la leche cruda. Se ha desarrollado un método de cuenta en placa reconocido por la "Asociación Norteamericana de Salud Pública", que es empleado en la mayoría de los laboratorios donde se analicen productos lácteos (2).

Así como se ha explicado la importancia de la técnica en los casos anteriores se hace saber la importancia que tiene en el análisis de agua.

Aunque el método no hace distinguir una bacteria patógena de una saprófita pudiendo dar resultados de recuento bajo y tratarse de bacterias patógenas o resultando lo contrario, que dé un recuento bacteriano alto y tratarse únicamente de bacterias saprófitas, dando así resultados falsos, sin embargo el método es satisfactorio para determinar la eficiencia de las operaciones en el proceso-

de purificación del agua y dá una información de la calidad del agua (1) (4) (9).

De la misma manera que se hizo notar la utilidad de la técnica en los casos anteriores se podría explicar para otros especímenes, pero basta con mencionar estos -- para dar a conocer la importancia de la técnica.

Conociendo los factores que influyen en la exactitud de la técnica y tomando en cuenta los que se mencionaron anteriormente, el propósito de este trabajo es analizar la técnica, con el fin de tener una idea de su reproducibilidad; para esto se diseñaron cuatro experimentos para tratar de ir eliminando algunas de las variables que pudieran influir en la reproducibilidad.



## MATERIAL Y METODOS

### EXPERIMENTO # 1

#### OBJETIVO

Generalmente se observa que los recuentos bacterianos son mayores a diluciones mayores ya que se encuentran proporcionalmente en la caja de dilución 1:1000 que en la de -- 1:100.

Dicho a guisa de ejemplo, si se observan 50 colonias en -- una caja que tiene una muestra diluida 1:100 deben encontrarse 5 colonias en la caja que tiene una muestra diluida de 1:1000.

El objetivo en este experimento es demostrar que en la -- técnica de recuento en placa ocurren siempre recuentos -- más altos a diluciones mayores.

#### ELECCION DE LA MUESTRA

Para preparar el cultivo que servirá de muestra se escogió una cepa de Escherichia coli y otra de Staphilococcus aureus, debido a que son especies con características de cultivo semejantes y son de fácil crecimiento y sus colonias se pueden contar con facilidad.



De un cultivo puro de E. coli y otro de S. aureus se pasó una asada de cada uno a un tubo de ensayo con caldo de -- tripticase y se incubó a 37° centígrados por espacio de -- 24 horas.

#### PREPARACION DEL INOCULO

Con el cultivo de 24 horas se preparó una muestra con un número de bacterias aproximado, para de esta manera tener idea de los recuentos que se van a obtener.

Para producir la densidad bacteriana deseada, que en este caso fué de  $1 \times 10^4$  bacterias por mililitro, para que el recuento resultara fácil, se hicieron las siguientes diluciones utilizando como punto de partida el nefelómetro de Mc. Farland. (10)

El tubo #1 del nefelómetro corresponde a un cultivo que -- contiene  $3 \times 10^8$  bacterias por mililitro.

Para lograr la densidad bacteriana deseada se hicieron -- diluciones de la siguiente manera:

a).- Con una pipeta de 1 ml. estéril, se pasó -- una alícuota del cultivo a un tubo con caldo de tripticase estéril hasta que la turbidez de este fuera igual a la -- del tubo # 1 del nefelómetro que equivale aproximadamente a  $3 \times 10^8$  bacterias por mililitro.

b).- Se tomó 1 ml. del cultivo y se agregaron --

3 ml. de caldo de cultivo estéril para diluir la muestra a  $1 \times 10^8$  bacterias por mililitro aproximadamente.

c).- Se tomaron 0.1 ml. de la dilución  $1 \times 10^8$  y se agregaron 9.9 ml. de caldo estéril y así se diluyó la muestra a  $1 \times 10^6$  bacterias por mililitro.

d).- Se tomaron 0.1 ml. de la dilución  $1 \times 10^6$  y se agregaron 9.9 ml. de caldo estéril diluyendo así la muestra a una concentración aproximada de  $1 \times 10^4$  bacterias por mililitro.

Las diluciones de la muestra se hicieron con -- agua destilada estéril de la siguiente manera:

a).- Se tomó 1 ml. de la dilución  $1 \times 10^4$  del inóculo y se agregaron 9 ml. de agua destilada estéril diluyendo el inóculo 1:10.

b).- Se tomaron 0.1 ml. de la dilución 1:10 y se agregaron 9.9 ml. de agua destilada estéril para diluir el inóculo 1:1000.

c).- Del tubo que corresponde a la dilución 1:1000 se pasaron 0.1 ml. a una caja Petri estéril quedando una dilución 1:10,000.

d).- De la dilución 1:1000 se pasó 1 ml. a una caja Petri estéril quedando una dilución de 1:1000.

e).- De la dilución 1:10 se pasó 0.1 ml. a una caja Petri estéril quedando así una dilución 1:100.



Se vertieron aproximadamente de 18 a 20 ml. de agar estándar para recuento en placa\* fundido, esterilizado y enfriado a 45 grados centígrados en cada una de las cajas que contienen las diluciones.

Se mezcló el agar con el inóculo haciendo girar suavemente la caja Petri primero en una dirección y luego en la contraria, dejando solidificar el medio.

Se incubaron las placas en posición invertida por 24 horas a una temperatura de 37° grados centígrados.

Se observaron las placas y se contaron las colonias en un contador de colonias de Quebec.

Se multiplicó el número de colonias obtenidas por la dilución de la muestra.

#### OBSERVACIONES.-

La preparación de la muestra se hizo con una pipeta volumétrica de 1 ml. estéril y las diluciones con otra, y con esa misma se pasó el inóculo a las cajas empezando de la dilución mayor a la menor.

La dilución de 1:10 no se pasó a caja pues daría resultados de numerosas colonias que serían difíciles de contar.

Se hicieron tres recuentos cada día, repitiendo el experimento completo cinco días consecutivos.

---

\* Standard Plate Count Agar, Merck.

## EXPERIMENTO # 2

### OBJETIVO

Muchas veces un microorganismo impide el crecimiento de otro ya sea porque sus metabolitos bacterianos resulten tóxicos para el otro o porque no haya suficiente espacio vital donde se desarrollen.

Para eliminar estas posibilidades, en este experimento se trabajó con las mismas bacterias que en el experimento anterior, S. aureus y E. coli pero esta vez como cultivos puros.

La técnica se analizó una vez por día para cada microorganismo por espacio de tres días consecutivos.

### PROCEDIMIENTO

De un cultivo puro de 24 horas de E. coli y otro de S. aureus se preparó una muestra con caldo de cultivo\* estéril siguiendo la misma técnica del nefelómetro ya empleada.

La preparación de las diluciones se hizo de igual modo que en el experimento anterior.

---

\*Trypticase Soy Broth BBL.



Se utilizó una pipeta para la reparación de la muestra y otra para la preparación de las diluciones.

Cada vez que se introdujo la pipeta en un nuevo tubo, se tomó la precaución de flamearla.

Con la misma pipeta que se hicieron las diluciones se pasó a las cajas la cantidad correspondiente, empezando de la dilución mayor a la menor.

Solamente se pasaron a las cajas las diluciones de 1:100, 1:1000 y 1:10,000, por considerarse innecesario pasar la dilución de 1:10 debido a que resultarías incontables colonias.

### EXPERIMENTO # 3.

#### OBJETIVO

Familiarizarse con la técnica de recuento bacteriano - utilizando asas calibradas para hacer las diluciones, - con el propósito de comparar posteriormente los dos -- métodos.

#### PROCEDIMIENTO

Se utilizaron tres asas calibradas estándar hechas de alambre de 96.5% de platino y 3.5% de rodio (8), cuyos diámetros interiores son de 4 mm., 3 mm. y de 1.45 mm. y dan diluciones de 1:100, 1:500 y 1:1000, respectivamente.

Se trabajó con un cultivo puro de Staphilococcus aureus diluido a una concentración de  $1 \times 10^4$  bacterias por mililitro, aproximadamente.

La técnica se practicó 2 veces cada día por -- espacio de tres días consecutivos.

Para preparar la concentración bacteriana deseada se utilizó la técnica de dilución a primera ---- transparencia (13), intentando ver si por este método se obtenían muestras con una cantidad de bacterias más



aproximada al número deseado.

Los pasos que se siguieron para la técnica fueron los siguientes:

a).- Se flameó el asa de 4 mm. y se dejó enfriar al aire debido a que su capacidad de retener calor es un poco mayor que la de las otras asas. (7)

b).- Se flameó el asa de 1.45 mm. y se dejó enfriar tomándose 0.001 ml. de la muestra y se pasó a una caja Petri que contiene agar nutritivo\*; se hicieron estrías en cuatro direcciones distintas girando la caja para que quede diluída la muestra. El asa no debe de ser flameada mientras se estría.

c).- Después de enfriada el asa de 4 mm. se pasó 0.01 ml. de la muestra a otra caja Petri estriando del mismo modo que en la anterior.

d).- Se flameó el asa de 3 mm. y se pasó 0.05 ml. de la muestra a otra caja Petri y se hizo lo mismo que en las anteriores.

e).- Se incubaron las cajas en posición invertida a 37° centígrados por 24 horas.

f).- Para obtener los resultados, se cuenta el número de colonias en un contador de Quebec y se multiplica por la dilución correspondiente. (7)

## EXPERIMENTO # 4

### OBJETIVO

Comparar la técnica del asa calibrada estándar con la técnica de dilución en tubo.

Se trabajó con una misma muestra para analizar las dos técnicas con el fin de que los resultados sean semejantes.

Para la preparación de la muestra se empleó una cepa de S. aureus en un cultivo puro de 24 horas.

### PROCEDIMIENTO

La muestra de trabajo se preparó de igual manera que en el experimento No. 1 de manera tal que contenga aproximadamente  $1 \times 10^4$  bacterias por mililitro.

Se hicieron seis determinaciones por duplicado para cada técnica en seis días consecutivos.

Preparación de las diluciones en tubo:

a).- Se tomó 1 ml. del tubo que contiene  $1 \times 10^4$  bacterias por mililitro y se agregó a 9 ml. de agua destilada estéril de manera que quede una dilución de 1:10.



b).- Se tomó 1 ml. de la dilución 1:10 y se --  
agregó a 9 ml. de agua destilada estéril de manera que --  
quede una dilución de 1:100.

c).- Se tomaron 2 ml. de la dilución 1:100 y se  
agregaron a 8 ml. de agua destilada estéril de manera --  
que quede una dilución de 1:500.

d).- Se tomó 1 ml. de la dilución 1:100 y se --  
agregó a 9 ml. de agua destilada estéril de manera que --  
quede una dilución de 1:1000.

e).- Se pasa 1 ml. de la dilución a las cajas --  
Petri. La dilución de 1:10 no se pasó a caja debido a --  
que resultarían incontables colonias.

f).- Se vertieron aproximadamente de 18 a 20 ml.  
de agar fundido esterilizado y enfriado a 45 grados cen-  
tígrados, se agitó suavemente primero en una dirección y  
luego en la contraria.

g).- Se dejó que solidifique el medio y se dejó  
incubar en posición invertida por 24 horas a una tempe--  
ratura de 37° centígrados.

h).- Los resultados se obtuvieron contando el --  
número de colonias en un contador de colonias Quebec. El  
número de colonias se multiplicó por la dilución corres-  
pondiente.

Técnica del asa calibrada:

Del tubo que contiene  $1 \times 10^4$  bacterias por mililitro se hicieron las diluciones con las asas correspondientes de acuerdo con la técnica descrita en el experimento anterior.



RESULTADOS.

TABLA No. 1

EXPERIMENTO # 1

Recuento de bacterias viables.

dilución deter- minación #	1:100	1:1000	1:10,000
I	3400	233,000	560,000
	incontables	2300,000	790,000
	incontables	300,000	750,000
II	9600	82,000	80,000 *
	16,900	47,000	90,000
	19,000	57,000	60,000
III	incontables	230,000	980,000
	incontables	280,000	780,000
	incontables	140,000	320,000
IV	incontables	150,000	500,000
	incontables	130,000	300,000
	incontables	140,000	660,000
V	incontables	100,000	60,000 *
	incontables	180,000	750,000
	incontables	78,000	150,000

\* Las cifras indican bacterias/ml.



TABLA No. 2

EXPERIMENTO #2

Recuento de bacterias viables.

Valor promedio de las determinaciones hechas por triplicado.

dilución deter- minación #	1:100	1:1000	1:10,000
I	incontables	277,600	700,000
II	15,166	62,000	76,600
III	incontables	2216,600	693,000
IV	incontables	140,000	486,600
V	incontables	119,300	320,000

Las cifras indican bacterias /ml.

TABLA No. 3.

EXPERIMENTO # 2.

Recuento de bacterias viables.

Staphilococcus aureus

dilución deter- minación #	1:100	1:1000	1:10,000
I	Incontables	370,000	640,000
II	incontables	520,000	810,000
III	incontables	400,000	810,000

Escherichia coli

dilución deter- minación #	1:100	1:1000	1:10,000
I	28,600	80,000	300,000
II	incontables	300,000	300,000
III	incontables	100,000	400,000

Las cifras indican bacterias /ml.



TABLA No. 4

EXPERIMENTO # 4

Recuento de bacterias viables.

dilución deter- minación #	1:100	1:500	1:1000
I	100	500	-
	100	500	-
II	incontables	incontables	incontables
	incontables	incontables	incontables
III	300	1000	-
	200	2000	-

Las cifras indican bacterias /ml.

TABLA No. 5

EXPERIMENTO # 4.

Los resultados están en número de bacterias por mililitro.

Método del asa calibrada.

dilución deter- minación #	1:100	1:500	1:1000
I	1,800	500	-
	1,000	500	-
II	1,300	3,000	6,000
	1,000	2,000	3,000
III	1,000	2,000	4,000
	1,000	2,500	5,000
IV	17,000	70,000	50,000
	18,000	70,000	30,000
V	3,000	20,000	15,000
	3,000	27,000	20,000
VI	3,000	15,000	20,000
	3,000	15,000	25,000



TABLA No. 6.

EXPERIMENTO # 4.

Recuento de bacterias viables.

Método de dilución en tubo.

dilución deter- minación #.	1:100	1:500	1:1000
I	4,800	8,000	20,000
	4,200	8,000	11,000
II	2,000	2,000	3,000
	1,000	1,500	2,000
III	5,000	3,000	7,000
	5,000	2,500	7,000
IV	17,000	25,000	20,000
	16,000	25,000	20,000
V	5,000	25,000	20,000
	6,000	20,000	20,000
VI	3,000	5,000	4,000
	3,000	4,500	5,000

Las cifras indican bacterias /ml.

TABLA No. 7

EXPERIMENTO # 4

Recuento de bacterias viables.

Valor promedio de las determinaciones hechas por duplicado.

Método del asa calibrada.

dilución deter- minación #	1:100	1:500	1:1000
I	1,400	500	-
II	1,150	2,500	4,500
III	1,000	2,250	4,500
IV	17,500	70,000	40,000
V	3,000	23,500	17,500
VI	3,000	15,000	22,500

Las cifras indican bacterias /ml.



TABLA No. 8

EXPERIMENTO #4

Recuento de bacterias viables.

Valor promedio de las determinaciones hechas por duplicado.

Método de dilución en tubo.

dilución deter- minación #	1:100	1:500	1:1000
I	4,500	8,000	15,000
II	1,500	1,750	2,500
III	5,000	2,750	7,000
IV	16,500	25,000	20,000
V	5,500	22,500	20,000
VI	3,000	4,750	4,500

Las cifras indican bacterias /ml.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES.

Muchas veces, se han presentado casos en los recuentos bacterianos, en los cuales los resultados dan un margen muy alto de variación entre una dilución y otra, y por ejemplo, en el caso de tratarse de un cultivo cuantitativo de orina, no saber que decisión tomar para dar un diagnóstico.

Así como se presentan estos problemas en la orina se pueden presentar para otros cultivos.

Tomando en cuenta estos hechos, fué que se ideó hacer este primer experimento para demostrar que los recuentos son más altos cuando la dilución es mayor y, por lo tanto, dan variaciones muy altas en los resultados.

Según la tabla No. 1, considerando cada recuento por separado, sólo en dos casos que marco con asterisco no se obtuvieron recuentos mayores a diluciones mayores. Considerando que son en realidad cinco determinaciones efectuadas por triplicado pudo observarse que cinco de cada cinco veces que se hizo la determinación se obtuvieron recuentos mayores en las cajas con muestra más diluida, Tabla No. 2.



Además, no se logró la densidad bacteriana deseada de aproximadamente 10,000 bacterias por ml. según la técnica del nefelómetro de Mc. Farland, sino que se obtuvieron recuentos diez veces más altos de los esperados y no fué posible contar las colonias en las cajas de dilución 1:10, con excepción de cuatro cajas en las cuales las colonias obtenidas fueron relativamente pocas, tal vez por error de manipulación.

En este experimento se trabajó con un cultivo mixto de E. Coli y S. aureus y debido a los resultados obtenidos se pensó que las variaciones podían ser debidas precisamente a esto, es decir, que por tratarse de un cultivo mixto, una bacteria estuviera inhibiendo el crecimiento de la otra por razones tales como de que los metabolitos de una impidieran el desarrollo de la otra o también por falta de espacio vital o por otras causas.

Para aclarar lo anterior se planeó el segundo experimento, en el cual se trabajó con cultivos puros de las dos cepas bacterianas utilizando la misma técnica seguida en el experimento anterior para que los errores fueran los mismos.

En este experimento se puede descartar la posibilidad de que un cultivo mixto sea la causa principal de variación en el recuento bacteriano, pues según la --

tabla No. 3, de seis determinaciones practicadas solamente en una no hubo resultados más altos a diluciones mayores.

Para probar si la variación de los recuentos era debida a la técnica empleada, se practicó el tercer experimento usando la técnica del asa calibrada -- estándar y se trabajó con diluciones más pequeñas para observar si disminuye la variación cuando se trabaja con diluciones más pequeñas.

Como ya se comprobó que no importa si el cultivo es mixto o puro para el recuento, en este caso se utilizó un cultivo puro de S. aureus.

La preparación de la muestra se hizo por una técnica diferente a la del nefelómetro con el fin de -- observar si utilizando la técnica de dilución a primera transparencia los resultados se aproximaban más a los que en realidad se esperaba obtener.

Según la tabla No. 4, los resultados de este experimento fueron muy irregulares de manera que no se puede dar una conclusión satisfactoria, sólo se demuestra que una densidad bacteriana preparada por la técnica de dilución a primera transparencia es muy inexacta, pues en los tres recuentos, las cuentas bacterianas -- fueron muy distintas aún cuando la muestra fué prepara



da de igual manera en cada una.

En esta técnica se hace notar que al hacer las diluciones con el asa se debe tener especial cuidado, - pues cuando el número de bacterias es muy grande, al -- diluir la muestra por medio de estrías, las colonias -- crecen muy amontonadas y no es posible contarlas, oca-- sionando que el error sea mayor.

Con el objeto de seguir analizando la técnica del asa calibrada para tener idea más clara en cuánto a sus resultados, se practicó el cuarto y último experi-- mento y al mismo tiempo se comparó esta técnica con la de dilución en tubo.

Se trabajó con los dos métodos a la vez, utili-- zando la misma muestra para los dos casos con el fin de observar si se obtenían resultados aproximados.

La muestra se preparó con el método del nefeló-- metro ya expuesta, pues se comprobó por los resultados - de la tabla No. 4 que la técnica de dilución a primera - transparencia es más inexacta.

Se hicieron seis determinaciones por duplicado-- para cada técnica y se pudo observar según la table No.5 que en dos casos en la dilución de 1:500 los resultados-- fueron menores que en la dilución de 1:100 y en seis ca-- sos en la dilución de 1:500. Observando la tabla No. 6,-

en cuatro casos en la dilución de 1:500 los resultados fueron menores que en la dilución 1:100 y en cinco casos en la dilución 1:1000 fueron menores y comparándola con la de 1:500.

Las tablas No. 7 y No. 8 muestran los promedios de estas determinaciones y observándose que éstos son muy variados no fué posible aplicar ninguna ley matemática para obtener un porcentaje de variación entre una dilución y otra y entre las técnicas empleadas.

Analizando la técnica del asa calibrada en el experimento No. 4, se pudo observar que también ocurren recuentos mayores en diluciones mayores.

Estudiando las diluciones que se usaron para este experimento se demuestra que mientras más pequeñas sean las diluciones usadas, el margen de variación entre un recuento y otro es menor.

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

El método de placa proporciona solamente un recuento aproximado en el número de bacterias en una muestra pero para los propósitos que es utilizada proporciona suficiente información.

Según algunos autores, (5), (6), se deben con



tar las cajas que contengan entre treinta y trescientas colonias porque se facilita más el conteo, sin embargo en algunas ocasiones dos cuentas caen dentro de estos márgenes dando resultados muy diferentes y en estos casos no saber cual se debe tomar como resultado verdadero; cuando esto ocurre se prefieren aquellas cifras que no estén cerca de estos límites. Es preferible preparar dos cajas con la misma dilución para dar un resultado promedio más correcto.

La exactitud del método se aumenta si se trabaja con diluciones más pequeñas y cuyo margen entre cada una sea menor.

Cuando el número de bacterias en la muestra es muy elevado proporciona resultados más inexactos y aquí si es conveniente diluir la muestra para facilitar el conteo.

Comparando las dos técnicas estudiadas de recuento en placa se observó que en las dos ocurren variaciones semejantes en las diluciones. Existe una ventaja en la técnica del asa calibrada con respecto a la otra técnica debido a que en la primera se requiere menos material y se realiza en un tiempo más corto; sin embargo en la segunda técnica el inóculo se distribuye mejor en el medio facilitando su conteo un poco más.

Considerando las ventajas y limitaciones de las técnicas estudiadas se escogerá la que sea más conveniente para cada caso.



## RESUMEN

Se diseñaron cuatro experimentos para estudiar las variaciones en los recuentos bacterianos.

Se encontró que a diluciones mayores los recuentos ocurridos son mayores. Lo mismo se observó cuando se trabajó en cultivo puro independientemente de la técnica empleada.

Al comparar la técnica del asa calibrada con la de dilución en tubo, se obtuvieron resultados similares.

## B I B L I O G R A F I A .

- 1).- Saile, A. J. Fundamental principles of Bacteriology 7 th.Ed. Mc. Graw - Hill, Book Company. New York -- 1973.
- 2).- Frazier, W.C. Microbiologia de los Alimentos. 2a. - Ed. Acribia. Zaragoza España. 1972. 512 pp.
- 3).- Pelczar, M.J. Chain, E.C.S. Laboratory Exercises in Microbiology. Mc. Graw - Hill, Book Company. New -- York. 1972. 478 pp.
- 4).- Pelczar, M.J. Reid, D. R. Microbiology. Mc. Graw- - Hill, Book Company. New York 1972. 948 pp.
- 5).- B.B.L. Manuel de Procedimientos de Laboratorio y de Productos. Versión española de la redacción Beckton, Dickenson de México, S. A. de C.V. Editores Asociados, S.A. México. 1974. 213 pp.
- 6).- Bailey, W. R. Scott, E.G. Diagnostic Microbiology.- 4 th. Ed. The C.V. Mosby Company. Saint Louis. 1974. 414 pp.
- 7).- Hoeplich, P.D. Culture of the Urine. J. Lab. Clin. - Med. 1960, 56, 899-906.
- 8).- Pryles, CH. V. The Diagnosis or Urinary Tract Inspe<sub>c</sub>tion. Pediatrics. 1960. 441-449.
- 9).- Crabtree, K. T. Hinsdill, R.D. Fundamental Experiments in Microbiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1974. 349 pp.



- 10).- Branson D. Métodos en Bacteriología Clínica. Medicina Panamericana. Buenos Aires. 1974.
- 11).- Mena Arroyo. Estudio estadístico de la técnica de dilución a primera transparencia de un inóculo bacteriano. Tesina Universidad de Monterrey. Monterrey, N.L. 1972.

800222



## FECHA DE DEVOLUCION

---

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase.

Plata 153,672

~~17 AGO 1977~~

--	--	--