

Estudio de dos sistemas de transporte para mantener la viabilidad de bacterias de interés clínico

Study of the ability of two swab transport systems to maintain viability of clinically important bacteria

Estudo de dois sistemas de transporte para manter a viabilidade de bactérias de interesse clínico

► Horacio Ángel Lopardo¹, Daniela Borgia², Alejandra Mastroianni³

¹ Dr. en Ciencias Bioquímicas

² Bioquímica

³ Técnico de laboratorio

Servicio de Microbiología
Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan"
Combate de los Pozos 1881
(1245) CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, Argentina

Resumen

Se compararon dos dispositivos de conservación de muestras tomadas por hisopado con cepas de referencia de *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Streptococcus pneumoniae* (ambos con medio de Stuart). El dispositivo Copan Venturi Transystem® (Copan Italia Spa, Brescia, Italia) resultó ser significativamente más efectivo que el Eurotubo (Deltalab, Rubí, Barcelona, España) probablemente porque la estrangulación que presenta al comienzo de la columna semisólida (sistema tipo Venturi) permitiría una mejor conservación de los microorganismos.

Palabras clave: dispositivos de transporte * medio de Stuart * Copan Venturi Transystem * Eurotubo

Summary

Two extendedly-used swab transport devices with Stuart medium using *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Streptococcus pneumoniae* reference strains, were compared. Copan Venturi Transystem® (Copan Italia Spa, Brescia, Italy) was significantly more effective than Eurotubo (Deltalab, Rubí, Barcelona, Spain), probably because the narrowing of the tube, just at the beginning of the semisolid column (Venturi system), would yield a better conservation of different organisms.

Key words: transport devices * Stuart medium * Copan Venturi Transystem * Eurotubo

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Resumo

Foram comparados dois dispositivos de conservação de amostras tomadas por swab com cepas de referência de *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Streptococcus pneumoniae* (ambos com meio de Stuart). O dispositivo Copan Venturi Transystem® (Copan Italia Spa, Brescia, Itália) resultou ser significativamente mais efetivo que o Eurotubo (Deltalab, Rubí, Barcelona, Espanha) provavelmente porque o estrangulamento que apresenta no início da coluna semi-sólida (sistema tipo Venturi) permitiria uma melhor conservação dos microorganismos.

Palavras chave: dispositivos de transporte * meio de Stuart * Copan Venturi Transystem * Eurotubo

Introducción

Un diagnóstico microbiológico correcto requiere de la conservación y el transporte adecuado de las muestras. Este es uno de los pasos más críticos de todo el proceso. Dada la diversidad de tipos de muestras, los dispositivos utilizados son muy diferentes. También son diversos los medios de transporte utilizados: Stuart, Amies, Cary Blair. El medio de transporte de Stuart es uno de los más empleados y fue diseñado para poder conservar los microorganismos de una muestra sin que ocurra un crecimiento notable ni un descenso significativo de su concentración inicial (1). El Cl_2Ca permite el balance osmótico, el glicerofosfato de sodio actúa como *buffer* y el tioglicolato o el ácido mercaptoacético impiden las reacciones de oxidación.

El objetivo de este trabajo fue comparar la capacidad de dos dispositivos destinados al transporte de muestras para conservar microorganismos exigentes.

Materiales y Métodos

Se utilizaron dos dispositivos para el transporte de muestras tomadas con hisopo: Copan Venturi Transystem® (Copan Italia Spa, Brescia, Italia) y Eurotubo (Deltalab, Rubí, Barcelona, España). Ambos contenían medio de Stuart como medio de transporte pero uno de ellos (Copan Venturi Transystem®) presenta una es-

trangulación al comienzo de la columna semisólida del tubo (sistema tipo Venturi).

Se emplearon cuatro cepas de colección correspondientes a especies bacterianas de importancia clínica, algunas de ellas exigentes desde el punto de vista nutricional: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43069 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305.

Se siguieron las recomendaciones del NCCLS (actualmente CLSI) publicadas en 2003 (2).

Brevemente, se absorbieron concentraciones apropiadas de cada una de las cepas bacterianas ($10^4 - 10^5$ UFC/mL) en hisopos de ambos dispositivos. Estos hisopos fueron colocados en los correspondientes tubos con medio de Stuart y se mantuvieron por espacio de 10 min (considerado tiempo cero), 24 y 48 h a temperatura ambiente controlada con termómetro digital de máxima y mínima ($25,1 - 28,0$ °C) antes de realizar estrías sobre placas de agar chocolate (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina). Todas las pruebas se realizaron por triplicado. El recuento de colonias se efectuó después de 48 h de incubación a 35 ± 1 °C por uno de los autores (HL) en forma ciega. Para expresar los resultados se promediaron los resultados de las tres placas de cada lectura. Se consideró que un dispositivo de transporte era aceptable si la diferencia entre las UFC a tiempo cero y a 24 h para *N. gonorrhoeae* o a 48 h para los otros microorganismos no era mayor de 1×10^3 .

Tabla I. Promedio del descenso del inóculo bacteriano (en \log_{10} UFC) respecto de los recuentos a tiempo cero* para cada dispositivo

Cepa	Copan		Eurotubo	
	T=24	T=48	T=24	T=48
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	-0,8	-0,9	≤ -5	≤ -5
<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	- 1,6	-3	≤ -5	≤ -5
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	0	0	-1,3	-1,7
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	0	-0,4	≤ -5	≤ -5

* Se tomó como tiempo cero a los 10 minutos a partir de la absorción del inóculo bacteriano en el hisopo

Resultados

Tomando como base cero a la lectura inicial se observó el descenso en la concentración de cada microorganismo a los distintos tiempos en ambos dispositivos utilizados (Tabla I). El dispositivo Copan Venturi Transystem permitió la conservación del inóculo inicial de las cepas de *H. influenzae*, *S. pyogenes* y *S. pneumoniae* dentro de un orden de magnitud por 48 h. Sólo se observó un descenso en la concentración bacteriana de 1,6 log y 3 log a las 24 y 48 h respectivamente para la cepa de *N. gonorrhoeae*. El sistema Eurotubo en cambio falló en la conservación de las cepas de *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* y *S. pneumoniae* ya a las 24 h. Sólo se logró la conservación de la cepa de *S. pyogenes* con disminución de aproximadamente 1 a 2 órdenes de magnitud tanto a las 24 como a las 48 h.

Discusión y Conclusiones

La supervivencia de una bacteria en un medio de transporte depende de varios factores: el tipo de bacteria y su concentración, la duración y temperatura del almacenamiento y la formulación del medio.

Hay publicaciones previas en las que se evaluó este sistema con estos y otros microorganismos utilizando el dispositivo que lleva el medio de Amies con y sin carbón activado (3-6). En este trabajo se empleó el dispositivo con medio de Stuart.

La evaluación se realizó de la manera recomendada por el NCCLS (actualmente CLSI) (2) y se eliminaron las variables previamente señaladas al utilizarse las mismas cepas en las mismas condiciones de trabajo. Se realizó una lectura final en forma ciega y en ella se observaron notables diferencias en el mantenimiento de la viabilidad de las cepas entre los dos sistemas. El dispositivo Copan Venturi Transystem resultó ser significativamente el más efectivo probablemente por evitar la desintegración y desplazamiento del gel, eliminar las burbujas de aire y controlar la humedad (impediría el desecamiento del medio). De este modo se preservaría la consistencia del medio y se mantendría un ambiente reductor que favorecería la viabilidad de los microorganismos.

Tomando los criterios del CLSI (2) el sistema Eurotubo sólo sería apto para la conservación de *S. pyogenes* a temperatura ambiente, mientras que el Sistema Copan Venturi Transystem lo sería para los cuatro microorganismos ensayados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Laboratorios Britania por la provisión de los insumos y las cepas de referencia para la realización de este estudio.

CORRESPONDENCIA

DR. HORACIO A. LOPARDO

Servicio de Microbiología

Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan"

Combate de los Pozos 1881

(1245) CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, Argentina

E-mail: hlopardo@garrahan.gov.ar

Referencias bibliográficas

1. Moffett M, Young JL, Stuart RD. Centralised gonococcus culture for dispersed clinics. *Brit Med J* 1948; 2: 421-4.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality control of microbiological transport systems. Approved standard, 2003; M40-A, Vol.23 No.34, Wayne, PA, USA.
3. Hudspeth MK, Citron DM, Goldstein EJC. Evaluation of a novel specimen transport system (Venturi Transystem) for anaerobic bacteria. *Clin Infect Dis* 1997; 25 (Suppl 2): S132-3.
4. Citron DM, Warren YA, Hudspeth MK, Goldstein EJC. Survival of aerobic and anaerobic bacteria in purulent clinical specimens maintained in the Copan Venturi Transystem and Becton Dickinson Port-a-Cul transport systems. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 892-4.
5. Teese N, Hennessey D, Pearce C, Kelly N, Garland S. Screening protocols for group B streptococcus: are transport media appropriate? *Infect Dis Obstet Gynecol* 2003; 11: 199-202.
6. Arbiq JC, Forward KR, LeBlanc J. Evaluation of four commercial transport media for the survival of *Neisseria gonorrhoeae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36: 163-8.

Aceptado para su publicación el 15 de noviembre de 2011