

IV. Aislamiento de *Vibrio cholerae* a partir de muestras fecales

Aunque *V. cholerae* O1 crece en diversos medios de agar que se utilizan comúnmente, el aislamiento a partir de muestras fecales se realiza con mayor facilidad empleando medios selectivos. Se recomienda el agua peptonada alcalina (APW) como caldo de enriquecimiento, y el agar con tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS) como el medio de agar selectivo preferible para el aislamiento de *V. cholerae* O1. En algunos casos (por ejemplo, cuando el paciente se encuentra en fases muy tempranas de la enfermedad y tiene evacuaciones líquidas), puede ser innecesario el uso de muestras enriquecidas o medios selectivos en placa. Sin embargo, siempre se debe usar el caldo de enriquecimiento y un medio selectivo en placa cuando se trata de personas convalecientes, infecciones presuntivas asintomáticas, muestras ambientales, y cuando es probable que la muestra contenga gran cantidad de microorganismos competidores.

A. Enriquecimiento en agua peptonada alcalina

Vibrio spp. crece muy rápidamente en agua peptonada alcalina, y al cabo de 6 a 8 horas está presente en mayor cantidad que otros microorganismos. El enriquecimiento en dicho medio favorece el aislamiento de *V. cholerae* O1 cuando hay pocos microorganismos, como en muestras de personas convalecientes y de portadores asintomáticos.

Se han descrito otros caldos de enriquecimiento para el cultivo de *V. cholerae*. Entre ellos se puede mencionar el medio de enriquecimiento de Monsur, que contiene tripticasa, telurito de potasio y taurocolato de sodio (sales biliares). A veces se utiliza una modificación del agua peptonada alcalina, en la cual se agrega telurito de potasio en concentraciones de 1:100.000 a 1:200.000. Los medios de enriquecimiento que contienen un agente selectivo quizá no ofrezcan ventaja alguna sobre el agua peptonada alcalina si esta se utiliza con un período de incubación breve (6 a 8 horas).

B. Medios selectivos en placa

1. Agar con tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa

El agar con tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS) es el medio que se prefiere para el aislamiento de *V. cholerae* y se utiliza ampliamente en todo el mundo. El agar TCBS se expende en el comercio y es fácil de preparar; no requiere esterilización en el autoclave y es diferencial y selectivo (Cuadro IV-1). Sin embargo, tiene una vida de almacenamiento relativamente corta una vez preparado (de 3 a 5 días), a menos que las placas se protejan cuidadosamente de la desecación. La selectividad del agar TCBS está sujeta a variaciones de un lote a otro y de una marca a otra, y el cultivo en este medio no es conveniente para las pruebas de aglutinación con antiseros contra *V. cholerae* O1.

Cuadro IV-1. Medios selectivos en placa para el cultivo de *V. cholerae*

Medio	Características morfológicas de las colonias	Tamaño de las colonias (mm)	Se consigue en el comercio	Hay que esterilizar en autoclave	Prueba directa con material tomado de la placa ^a
Agar TCBS	Amarillas, redondas, lisas	2 a 3	Sí	No	No
Agar TTG	Grisés, aplanadas, zona opaca alrededor	1 a 2	No	Sí	Sí
Agar de MacConkey ^b	De incoloras a rosa claro	1 a 3	Sí	Sí	No

Nota: TCBS = tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa; TTG = gelatina con taurocolato y telurito.

^aPrueba directa de aglutinación con antisueros o reacción de la oxidasa.

^bNo todas las cepas de *V. cholerae* O1 crecen en el agar de MacConkey.

El agar TCBS es verde cuando se prepara. El crecimiento de un día para otro (18 a 24 horas) de *V. cholerae* producirá colonias grandes (2 a 4 mm de diámetro), ligeramente aplanadas, amarillas, con el centro opaco y la periferia translúcida (Figura IV-1). El color amarillo se debe a la fermentación de la sacarosa en el medio. Los microorganismos que no fermentan la sacarosa, como es el caso de *V. parahaemolyticus*, producen colonias de color verde a azul verde. Las colonias sospechosas que se someterán a pruebas ulteriores deben resemejarse en un medio no inhibitorio, como agar gelatina, agar infusión de corazón (HIA) agar hierro de Kligler (KIA) o agar hierro con tres azúcares (TSI).

2. Agar taurocolato-telurito-gelatina (agar TTG o medio de Monsur)

El agar taurocolato-telurito-gelatina (TTG) es un agar diferencial y selectivo ideado específicamente para el aislamiento de *V. cholerae*. El agar TTG tiene una vida de almacenamiento relativamente larga después de preparado, y se pueden utilizar las colonias tomadas directamente del medio para efectuar las pruebas de la oxidasa y de aglutinación (véase el Cuadro IV-1). Este medio tiene como inconvenientes que no se expende en el comercio y que las colonias de *V. cholerae* incubadas de un día para otro en él tienden a ser más pequeñas (1 a 2 mm) que las cultivadas en agar TCBS. También varía la calidad del telurito de potasio, que se agrega al



Figura IV-1. Las colonias de *V. cholerae* cultivadas en agar TCBS durante 18 a 24 horas son grandes (2 a 4 mm) y amarillas debido a la fermentación de la sacarosa; se caracterizan por ser redondas, lisas, brillantes y ligeramente aplanadas.

medio para aumentar la selectividad; por lo tanto, debe titularse cada lote para determinar la concentración óptima que ha de usarse en el agar TTG (véase el Capítulo XI, "Preparación de medios de cultivo y reactivos").

El crecimiento de un día para otro (18 a 24 horas) de *V. cholerae* en agar TTG se caracteriza por colonias pequeñas y opacas con el centro ligeramente oscuro (Figura IV-2). Al cabo de 24 horas, el centro de la colonia se hace más oscuro y, al final, toda ella toma un color de "acero pavonado". Además del color oscuro, que se debe a la reducción del telurito, hay una zona opaca semejante a un halo alrededor de las colonias. El efecto de halo, debido a la producción de la enzima gelatinasa, se puede intensificar mediante refrigeración breve (15 a 30 minutos) de la placa. Como muchos miembros del género *Vibrio* tienen características similares en el agar TTG, se requieren pruebas adicionales (antisueros, pruebas bioquímicas o ambos) para identificar los microorganismos aislados en este medio.

3. Agar de MacConkey

Para aislar especies de la familia *Enterobacteriaceae* se utiliza mucho el agar de MacConkey, que también permite el crecimiento de algunas cepas de *V. cholerae*. Las colonias de este bacilo incubadas de un día para otro en agar de MacConkey tienden a ser pequeñas o medianas (1 a 3 mm) y por lo general se ven como lactosa negativas o ligeramente rosadas; con frecuen-

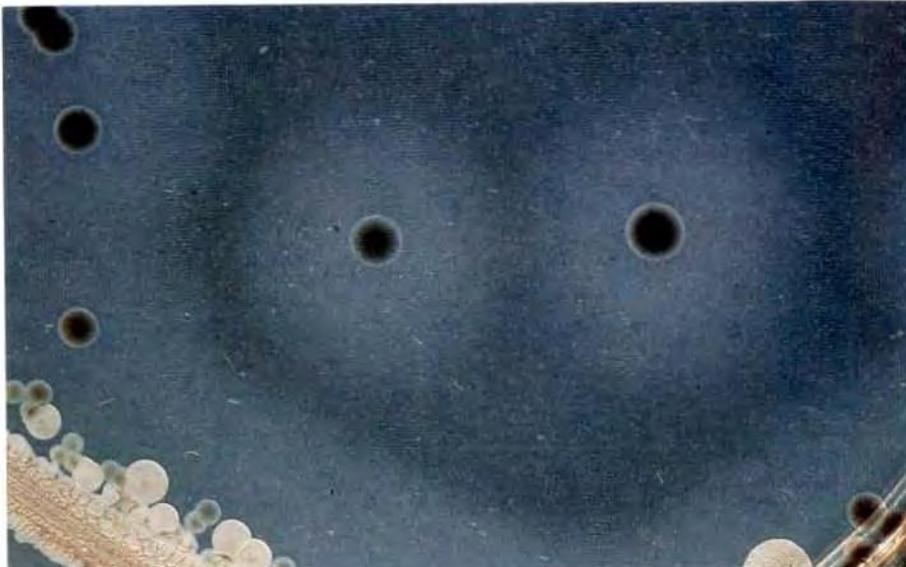


Figura IV-2. Las colonias de *V. cholerae* en agar TTG son grises y aplanadas, y están rodeadas de un halo turbio formado por la producción de gelatinasa.

cia recuerdan a las colonias de microorganismos que producen fermentación “tardía” o “lenta” de la lactosa (Cuadro IV-1; Figura IV-3). Las colonias que presuntamente correspondan a *V. cholerae* se resemebrarán en medios no inhibitorios para efectuar pruebas adicionales.

C. Medios no selectivos en placa

1. Agar gelatina

El agar gelatina es un buen medio no selectivo para el cultivo de *V. cholerae*. La producción de gelatinasa, que es una característica de los vibrones en general, se puede determinar en el agar gelatina y se reconoce por la aparición de una zona opaca parecida a un halo alrededor de las colonias. El efecto de halo se puede identificar mediante la refrigeración breve (15 a 30 minutos) de la placa. Las colonias de *V. cholerae* en el agar gelatina son lisas, opacas, blancas y de 2 a 4 mm de diámetro tras la incubación de 18-24 horas a una temperatura de 35° a 37 °C. Cuando las colonias se observan con luz transmitida oblicuamente con aumentos de 10× a 20×, pueden aparecer finamente granuladas e iridiscentes, con un brillo verdoso como de bronce. Las colonias provenientes de este medio pueden



Figura IV-3. Las colonias de *V. cholerae* aisladas en agar de MacConkey e incubadas de 18–24 horas son pequeñas (1 a 3 mm), translúcidas, con una gama cromática que va desde incoloras hasta rosado claras (lactosa negativas).

someterse directamente a las pruebas de aglutinación con antisueros, de la oxidasa y del hilo o hebra mucoide. Se puede utilizar agar gelatina sin sales como un medio selectivo para descartar los vibriones marinos halófilos (que requieren sal) semejantes a *V. cholerae*, que frecuentemente se aíslan de pescados y mariscos y de muestras ambientales. Véanse en el Capítulo XI, “Preparación de medios de cultivo y reactivos”, las instrucciones especiales para la preparación del agar gelatina.

2. Agar de extracto de carne (agar nutritivo alcalino)

El agar de extracto de carne es similar al agar gelatina en su capacidad para permitir el crecimiento de *V. cholerae*; sin embargo, a diferencia de este, las colonias que aparecen en él no tienen características distintivas. Al cabo de la incubación de 18 a 24 horas, las colonias de *V. cholerae* en agar de extracto de carne son de 2 a 4 mm de diámetro, lisas, opacas y de color crema. Cuando se observan con luz oblicua con aumentos de 10× y 20×, las colonias se ven finamente granulares e iridiscentes, con un brillo verdoso como de bronce. Las pruebas de oxidasa y del hilo mucoide y la aglutinación con antisueros se pueden realizar directamente con colonias presuntivas aisladas en placas de agar de extracto de carne.

D. Aislamiento e identificación presuntiva

1. Inoculación directa de muestras fecales en medios selectivos en placa

En los medios muy selectivos (agares TCBS y TTG) la siembra se hace con un inóculo abundante de heces líquidas, suspensión fecal o hisopado rectal (Figura IV-4). Con medios de baja selectividad (agar gelatina, agar de extracto de carne y agar sangre), se utiliza un inóculo ligero, el cual se siembra mediante estriación con asa de alambre para aislar colonias. No es necesario flamear el asa entre la estriación de los diferentes cuadrantes de la placa. Los medios de alta selectividad requieren una estriación más cerrada en los cuadrantes que se siembran primero, no así los medios de baja selectividad. Después de la inoculación, se incuban las placas durante 18 a 24 horas a una temperatura de 35° a 37 °C.

2. Inoculación de agua peptonada alcalina a partir de muestras fecales

El agua peptonada alcalina se puede inocular con heces líquidas, suspensión fecal o hisopado rectal (Figura IV-4). El inóculo de heces no debe exceder del 10% del volumen del caldo. Se incuba el tubo con la tapa sin apretar a una temperatura de 35° a 37 °C durante 6 a 8 horas. Después de este período de incubación, se resiembra en agar TCBS empleando una o dos asadas de agua peptonada alcalina obtenidas de la porción más alta del caldo, incluida la superficie, puesto que los vibriones crecen preferentemente en esta zona. El tubo no se agita ni se mezcla antes de resembrar. Si el caldo no se puede subcultivar después de 6 a 8 horas de incubación, se resiembra a las 18 horas en un tubo nuevo de agua peptonada alcalina. Este segundo tubo debe resembrarse en un medio sólido después de 6 a 8 horas de incubación.

3. Aislamiento de colonias presuntivas a partir de medios en placa

Se seleccionan varias colonias presuntivas de la placa de agar TCBS y se inoculan en agar de infusión de corazón con plano inclinado u otro medio no selectivo. No debe utilizarse agar nutritivo porque no contiene sal ni permite el crecimiento óptimo de *V. cholerae*. Se incuba a una temperatura de 35° a 37 °C.

4. Aglutinación en lámina o portaobjeto

Las colonias sospechosas de *V. cholerae* recién aisladas en un medio de agar no selectivo se pueden someter a la prueba de aglutinación con anti-suero polivalente contra *V. cholerae* O1. Por lo general, después de 5 a 6 horas de incubación, las colonias que crecen en el plano inclinado son suficientes para llevar a cabo pruebas serológicas en lámina con antisueros polivalentes contra *V. cholerae* O1; si no es así, el cultivo se incuba de nuevo de un día para otro. Los aislamientos que aglutinan con el anti-suero poliva-

Aislamiento de Vibrio cholerae a partir de muestras fecales

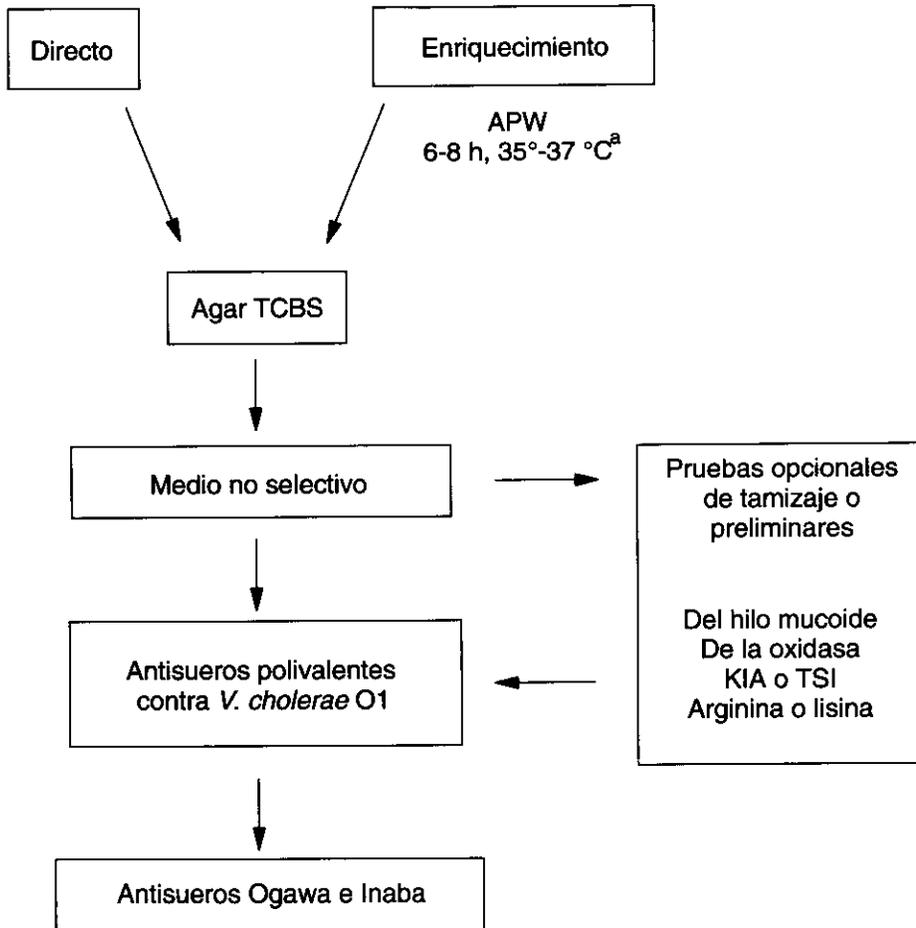


Figura IV-4. Procedimiento para aislar *V. cholerae* a partir de muestras fecales.

^a Si el cultivo en agua peptonada alcalina no se puede sembrar mediante estriación después de 6 a 8 horas de incubación, se resiembró a las 18 horas en un tubo nuevo de agua peptonada alcalina; se incubó durante 6 a 8 horas y entonces se siembra en agar TCBS mediante estriación.

Aislamiento de Vibrio cholerae a partir de muestras fecales

lente contra el serogrupo O1 se identifican como presuntivo *V. cholerae* O1 (véase en el Capítulo VI, "Identificación de *Vibrio cholerae* en el laboratorio", la descripción del método de aglutinación en lámina). El presuntivo *V. cholerae* O1 se puede someter a confirmación mediante aglutinación con antisueros monovalentes o con antisueros Ogawa o Inaba; pero quizá no se necesite la confirmación de todos los aislamientos, en especial cuando el abasto de antisueros es limitado. La identificación mínima de *V. cholerae* O1 requiere solamente la confirmación serológica de la presencia de antígenos del serotipo O1 en los aislamientos presuntivos. Sin embargo, a veces es necesaria la caracterización más completa del microorganismo, lo cual puede incluir pruebas de producción de la toxina, de hemolisinas, así como la de determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos e identificación bioquímica, del biotipo o del subtipo molecular. Estas pruebas solo se deben efectuar en ciertos aislamientos, como los que se han recuperado al principio de un brote o en el curso de la vigilancia epidemiológica en zonas amenazadas por el cólera epidémico. Solamente los aislamientos que se confirman como *V. cholerae* O1 por pruebas serológicas deben caracterizarse aún más. (Véase en el Capítulo II la explicación de cuándo es necesaria la caracterización adicional de los aislamientos, y en los Capítulos VI, VII y IX, la descripción de estas pruebas.)

5. Pruebas bioquímicas de selección

Por lo general no son necesarias las pruebas bioquímicas de selección para los aislamientos de *V. cholerae* sospechosos a partir de muestras fecales, puesto que las pruebas en laminilla con antisueros polivalentes contra O1 bastan para la identificación presuntiva. Sin embargo, si el suministro de antisueros es limitado, pueden ser de utilidad las pruebas del hilo mucoide y de la oxidasa u otras pruebas bioquímicas para lograr la selección más completa de los aislamientos antes de practicar las pruebas con antisueros. No hay un solo procedimiento de selección de *V. cholerae* O1 que resulte ideal para todos los laboratorios y todas las muestras. El laboratorista debe elegir un procedimiento de selección con base en los recursos a su alcance (por ejemplo, las existencias de antisueros), en los tipos y el número de microorganismos competidores que probablemente haya en las muestras que se cultivan, y en la capacidad del medio selectivo de placa para inhibir el crecimiento de esos microorganismos competidores.

La prueba del hilo mucoide, en la que se utiliza un cultivo fresco en agar no selectivo, es útil para descartar los microorganismos distintos de *Vibrio* spp., particularmente *Aeromonas* spp. (Cuadro IV-2). También se puede utilizar la prueba de la oxidasa para seleccionar los microorganismos distintos de *Vibrio* spp., como los de la familia *Enterobacteriaceae*. El agar hierro de Kligler (KIA) o el agar hierro de tres azúcares (TSI) descartan *Pseudomonas* y algunas especies de *Enterobacteriaceae*. Por lo general, la prueba de la arginina es más útil que la de la lisina para seleccionar *Aeromonas* y ciertas especies de *Vibrio*, pero se puede recurrir a cualquiera de

Aislamiento de *Vibrio cholerae* a partir de muestras fecales

Cuadro IV-2. Características diferenciales de determinados miembros de las familias *Vibrionaceae* y *Enterobacteriaceae*

Prueba	Bacteria							
	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio mimicus</i>	Vibriones halófilos	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	
K/A	K/A	K/A	V	V	K/AG	K/A	V	
TSI	A/A	K/A	V	V	A/AG	K/A	V	
Hilo mucoso	+	+	+ ^a	-	-	-	-	
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	-	
Gas	-	-	- ^b	+	+	-	V	
(de glucosa)								
Sacarosa	+	-	V	V	+	-	V	
Lisina	+	+	V	V	+	+	V	
Arginina	-	-	V	+	-	+	V	
Ornitina	+	+	V	-	+	+	V	
VP	V	-	V	V	+	-	V	
Crecimiento en 0% de NaCl ^c	+	+	-	+	+	+	+	
Crecimiento en 1% de NaCl ^c	+	+	+	+	+	+	+	

Nota: KIA = agar hierro de Kligler; K/A = alcalinidad/acidez; V = reacción variable; K/AG = alcalinidad/acidez y gas; TSI = agar hierro de tres azúcares; A/A = acidez/acidez; VP = Voges-Proskauer.

^a *V. parahaemolyticus*, *V. cincinnatiensis* y *V. damsela* dan reacciones variables.

^b *V. furnissii* y *V. damsela* dan reacciones variables.

^c Base de caldo nutritivo (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, Estados Unidos).

Aislamiento de Vibrio cholerae a partir de muestras fecales

estos medios. No hay necesidad de utilizar dos pruebas bioquímicas que excluyan al mismo microorganismo. Por ejemplo, si se utiliza la prueba de la arginina, por lo general no hay ventaja alguna en seleccionar también con la prueba de la lisina, en virtud de que ambos aminoácidos descartan las mismas especies. Las tapas de todos los tubos de las pruebas bioquímicas habrán de mantenerse poco apretadas antes de la incubación. Esto tiene importancia particular para los tubos con medios de KIA o TSI en plano inclinado, puesto que si las tapas están demasiado apretadas y existen condiciones anaerobias, quizá no se produzcan las reacciones características de *V. cholerae*. (En el Capítulo VI, "Identificación de *Vibrio cholerae* en el laboratorio", se puede consultar la descripción de estas pruebas bioquímicas.)

E. Métodos de diagnóstico rápido

El diagnóstico rápido del cólera en el laboratorio suele resultar ventajoso para vigilar la propagación de la enfermedad y para establecer con celeridad las medidas de control. Se han obtenido y utilizado métodos diversos de detección rápida para la identificación de *V. cholerae* O1 directamente en las heces de enfermos en muy mal estado o a partir de caldos de enriquecimiento. En ciertas situaciones, estos métodos rápidos pueden ser prácticos; sin embargo, solo brindan un diagnóstico preliminar. A pesar de sus ventajas en lo que se refiere a rapidez y (en ocasiones) a las necesidades de reactivos más sencillos y de equipo, en general los métodos de diagnóstico rápido no pueden sustituir por completo a los métodos tradicionales de cultivo. Es preciso recurrir a las técnicas rutinarias cuando se necesita un aislamiento para otras pruebas, como son el análisis de la producción de toxina del cólera, la sensibilidad a los antimicrobianos, hemólisis, determinación del biotipo y subtipificación molecular. Los métodos rápidos suelen ser más útiles sobre el terreno, cuando se requiere llevar a cabo el diagnóstico inmediato para vigilar el curso de un brote de cólera.

1. Métodos de microscopia de campo oscuro y de contraste de fases

La microscopia de campo oscuro y de contraste de fases se han utilizado para diagnosticar en muestras fecales en relación con *V. cholerae*. Utilizando estas técnicas, las heces líquidas se examinan con el microscopio para identificar los microorganismos con su típica movilidad de saeta ("estrella fugaz"). La observación de la movilidad característica solo se puede considerar como una prueba de selección preliminar, y la exactitud diagnóstica no es alta si se compara con las técnicas de cultivo ordinarias.

El método de inhibición de la movilidad es aun mejor cuando se usan antisueros específicos contra *V. cholerae* O1; con este método se examinan las heces o los caldos enriquecidos a los que se les han agregado o no antisueros. Si la adición de antisueros polivalentes contra *V. cholerae* O1 suprime la movilidad, a juzgar por lo que se observa en la microscopia de campo oscuro o de contraste de fases, la prueba se considera positiva.

Aislamiento de Vibrio cholerae a partir de muestras fecales

Los diluyentes para los antisueños y las heces se seleccionarán cuidadosamente para evitar la inhibición no específica de la movilidad (por ejemplo, ciertos preservativos utilizados en los antisueños, como la azida de sodio o el mertiolato). El agua destilada, al inhibir la movilidad de *V. cholerae*, no es un diluyente adecuado para las muestras de heces. Otros inconvenientes de estos métodos son los requisitos de contar con microscopía de campo oscuro o de contraste de fases y la necesaria participación de un técnico experto. Esta técnica se ha utilizado ampliamente a pesar de esos inconvenientes.

Procedimiento de campo oscuro

La muestra que se prefiere es la constituida por heces líquidas (“agua de arroz”) recién obtenidas. Si la muestra es líquida pero no tiene aspecto de agua de arroz, debe diluirse en una proporción de 1:1 con solución salina antes de la prueba directa. Si la muestra de heces recién obtenida es negativa, se lleva a cabo un enriquecimiento de 6 a 8 horas en agua peptonada alcalina y se repite la prueba con el caldo enriquecido. Puede ahorrarse antisuero si primero se determina que la muestra de heces o de caldo enriquecido presenta movilidad, y solo entonces se prepara la muestra con antisuero para el examen. Debe usarse como testigo positivo una cepa móvil conocida de *V. cholerae* O1.

Para el procedimiento de campo oscuro se requieren los siguientes materiales:

- Microscopio con condensador de campo oscuro (si se utiliza lente de inmersión en aceite [100×], el objetivo debe tener un diafragma de iris)
- Antisuero polivalente contra *V. cholerae* O1
- Portaobjetos (de tamaño normal) y cubreobjetos limpios
- Solución salina fisiológica estéril o solución salina con amortiguador de fosfato, pH de 7,0 a 8,0

Para realizar la prueba, se coloca una gota del antisuero polivalente contra *V. cholerae* O1 cerca del extremo de un portaobjetos limpio. A continuación, se agrega una gota de heces con aspecto de agua de arroz recién obtenidas o una gota de caldo de enriquecimiento con agua peptonada alcalina incubado durante 6 a 8 horas y se mezcla con la gota de antisuero; se deposita también otra gota de heces o agua peptonada alcalina en el extremo opuesto de la lámina. Se colocan sendos cubreobjetos sobre las gotas en cada extremo. Utilizando el microscopio de campo oscuro, con el objetivo de 40× se examina la gota que contiene las heces o el caldo de enriquecimiento para observar la movilidad de “estrella fugaz”. Si se detecta este tipo de movilidad se examina la mezcla que contiene el antisuero. Si el microorganismo móvil es *V. cholerae* O1, la movilidad cesará por completo. Si los microorganismos que se encuentran bajo ambos cubreobjetos no son

Aislamiento de Vibrio cholerae a partir de muestras fecales

móviles o si no hay diferencia entre la movilidad de una mezcla a otra, el microorganismo no es *V. cholerae* O1.

2. Inmunofluorescencia

Se han utilizado técnicas de inmunofluorescencia que emplean antisueños conjugados con isotiocianato de fluoresceína para observar células de *V. cholerae* O1 en diversos tipos de muestras. A pesar de su utilidad, los métodos de inmunofluorescencia no son de uso general como instrumentos de diagnóstico primario debido a las exigencias de equipo caro, reactivos inmunológicos de alta calidad y la necesaria intervención de técnicos capacitados.

3. Aglutinación en látex

Para la detección del microorganismo directamente en muestras fecales, se ha empleado un estuche comercial de aglutinación en lámina (Denka Seiken, Tokio, Japón), preparado para la serotipificación de los aislamientos de *V. cholerae* O1. El estuche utiliza partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos A, B y C de *V. cholerae* O1. Durante la investigación de una epidemia de cólera, se valoró la capacidad de dicho equipo para confirmar el diagnóstico de cólera al lado del paciente utilizando hisopados rectales. La prueba de aglutinación en látex detectó 63% de los pacientes con cultivo positivo a partir de hisopados rectales, pero dio resultados positivos falsos en 12% de los pacientes con cultivo negativo. No se han determinado la sensibilidad ni la especificidad de esta prueba con muestras de heces líquidas.

4. Coaglutinación

En el método de coaglutinación, los anticuerpos contra *V. cholerae* O1 se ligan a la superficie de células de *Staphylococcus aureus* (Cowan 1) sin perder su capacidad de unión al antígeno ni su especificidad. Cuando la reacción es positiva, las células estafilocócicas se unen entre sí formando una trama reticular debido a la formación de enlaces entre los anticuerpos que se encuentran en su superficie y las células de *V. cholerae*.

Los problemas con el uso de esta técnica se atribuyen a sustancias que se encuentran en las heces y que inhiben, de manera no específica, la aglutinación y la formación de trama o redícula de células estafilocócicas. Recientemente apareció en el comercio una prueba de coaglutinación basada en anticuerpos monoclonales (CholeraScreen, New Horizons Diagnostics, Columbia, Maryland) que al parecer supera los obstáculos mencionados. Son alentadores los informes de las evaluaciones del producto con muestras obtenidas de cultivos en los Estados Unidos y con muestras clínicas en Guatemala y en Bangladesh.

5. Otras técnicas de identificación y aislamiento rápidos

Se han descrito otras técnicas para el diagnóstico rápido de *V. cholerae* O1 que incluyen métodos basados en la multiplicación de bacteriófagos, la adición de antisueros a los medios de crecimiento para precipitar las células de *V. cholerae* en caldo, y el uso de esferas o cuentas magnéticas o papel de nylon o nitrocelulosa cubiertos de anticuerpos para reunir físicamente, a manera de agregado, las células de *V. cholerae*.

Bibliografía

Benenson AS, Islam MR, Greenough WB. Rapid identification of *Vibrio cholerae* by darkfield microscopy. *Bull WHO* 1964; 30:827-831.

Colwell RR, Hansan JAK, Huq A, *et al.* Development and evaluation of a rapid, simple, sensitive, monoclonal antibody-based co-agglutination test for direct detection of *Vibrio cholerae* O1. *FEMS Microbiol Lett* 1992; 97:215-220.

Gustafsson B, Holme T. Rapid detection of *Vibrio cholerae* O:1 by motility inhibition and immunofluorescence with monoclonal antibodies. *Eur J Clin Microbiol* 1985; 4:291-294.

Morris GK, Merson MH, Huq I, Kibrya AKMG, Black R. Comparison of four plating media for isolating *Vibrio cholerae*. *J Clin Microbiol* 1979; 9:79-83.

Shaffer N, Silva do Santos E, Andreason P, Farmer JJ. Rapid laboratory diagnosis of cholera in the field. *Trans Soc Trop Med Hyg* 1989; 83:119-120.

World Health Organization. Manual for the Laboratory Investigations of Acute Enteric Infections. Geneva: World Health Organization, 1987; publication no. WHO/CDD/83.3 rev 1.