

Enterotest Unitest

IVD

Pruebas bioquímicas para clasificación de enterobacterias.

INTRODUCCIÓN

Enterotest Unitest es un sistema de pruebas bioquímicas para la clasificación de las enterobacterias habitualmente aisladas de distintos materiales como orina, sangre, materia fecal, líquido de punción, exudados, heridas, abscesos, etc.

USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Para la clasificación de Enterobacterias.

FUNDAMENTO

La clasificación de enterobacterias se determina por una serie de pruebas bioquímicas entre ellas:

- Fermentación de la glucosa.
- Fermentación de la lactosa.
- Producción de gas.
- Hidrólisis de la urea.
- Producción de SH₂.
- Utilización del citrato.
- Movilidad.
- Producción de indol.
- Deaminación de fenilalanina.
- Utilización del malonato.
- Descarboxilación de lisina.
- Fermentación de sorbitol.
- Descarboxilación de ornitina.
- Descarboxilación de arginina.

ELEMENTOS DEL SISTEMA

Provisto

De acuerdo a su presentación

- 24 Tubos para 24 Clasificaciones.
- Reactivo de Indol.
- Solución de Cloruro Férrico.

Denominación de los tubos	Cantidad de tubos	Cant. Test Bioq.	Nombre de los Test Bioquímicos
Gluc-Lac-SH ₂ -Gas	24	4	Fermentación de la Glucosa Fermentación de la Lactosa Producción de Gas Producción de SH ₂
IN-MOV	24	2	Producción de Indol Movilidad
Citrato	24	1	Utilización del citrato
Urea	24	1	Hidrolización de la urea
Fenilalanina	24	1	Deaminación de fenilalanina
Malonato	24	1	Utilización de malonato
Lisina	24	1	Descarboxilación de lisina
Sorbitol	24	1	Fermentación de sorbitol
Ornitina	24	1	Descarboxilación de ornitina
Arginina	24	1	Descarboxilación de arginina

No provisto

- Medios de cultivos necesarios para el aislamiento.

MATERIAL REQUERIDO

No provisto

- Placas de petri.
- Ansa.
- Estufa de Cultivo.
- Tubos estériles.
- Mechero.
- Microorganismos para el control de calidad.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los elementos del sistema son estables hasta la fecha de vencimiento, indicada en el envase, conservados entre 2-10°C.

PROCEDIMIENTO

Muestra

El inóculo provendrá de un cultivo puro del microorganismo a ensayar.

Siembra

De acuerdo al medio a sembrar:

- Con un ansa puntiforme, previamente flameada, tocar el centro de la colonia en estudio.
- Medio **Gluc-Lac-SH₂-Gas**: destapar un tubo e introducir el ansa hasta el fondo del mismo y luego estriar en "zigzag" la superficie en pico de flauta, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Indol-Movilidad**: destapar un tubo e introducir el ansa hasta el fondo del mismo, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Urea**: destapar un tubo y sembrar sólo en la superficie del pico de flauta, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Citrato**: destapar un tubo y sembrar sólo en la superficie del pico de flauta, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Fenilalanina**: destapar un tubo y estriar en "zigzag" la superficie en pico de flauta, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Malonato**: destapar un tubo y estriar en "zigzag" la superficie en pico de flauta, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Lisina**: destapar un tubo e introducir el ansa hasta el fondo del mismo, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Sorbitol**: destapar un tubo e introducir el ansa hasta el fondo del mismo, tapar. Flamear nuevamente el ansa y tocar la misma colonia.
- Medio **Ornitina**: destapar un tubo e introducir el ansa hasta el fondo del mismo, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Medio **Arginina**: destapar un tubo e introducir el ansa hasta el fondo del mismo, tapar. Flamear nuevamente el ansa.
- Con el ansa puntiforme, previamente llevada al rojo en la llama, perforar **sólo la tapa plástica de los tubos Gluc-Lac-SH₂-Gas, Indol-Movilidad, Urea, Citrato y Malonato**. No hay peligro de contaminación por el pequeño orificio practicado. Las tapas de los restantes medios, **no hay que perforarlas**.

Incubación

Los tubos se incuban 24 hs a 35-37°C, en aerobiosis.

Tubo Fenilalanina: incubar en aerobiosis durante 18-24 hs, a temperatura ambiente, entre 15-30°C.

EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar los tubos después de las 24 horas de incubación y no antes.

Gluc-Lac-SH₂-Gas

Fermentación de la Lactosa

Positivo: se observa cambio de color, del rojo al amarillo, en la parte superior del tubo.

Negativo: en la parte superior del tubo, no hay cambio de color.

Fermentación de la Glucosa

Positivo: se observa cambio de color, del rojo al amarillo, en la parte inferior del tubo.

Negativo: en la parte inferior del tubo, no hay cambio de color.

Todas las enterobacterias fermentan la glucosa, es decir, si el microorganismo a estudiar no hace virar el color en la parte inferior del medio, en forma bien manifiesta al amarillo, no es una enterobacteria. Cuando un microorganismo fermenta la glucosa y también la Lactosa, todo el medio virará al amarillo.

Producción de gas

La producción de GAS se visualiza en la formación de burbujas tanto en el trayecto de la siembra como alrededor de ésta.

Producción de SH₂

La producción de SH₂ se detecta por el ennegrecimiento del medio.

Las bacterias gram negativas que no fermentan la glucosa son aproximadamente el 8-15% de todos los aislamientos que se realizan en el laboratorio clínico, y de estos las dos terceras partes son

especies de *Pseudomona* (Lennette 4ta. Ed.). El resto puede ser *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, etc.

Todo color anaranjado rojizo debe ser considerado como no fermentador de la glucosa y en todo caso esto se confirma con el test de la oxidasa que es negativo para todas las enterobacterias y positivo para casi todas las especies de *Pseudomona*, *Alcaligenes faecalis*, algunas *Moraxella*, *Flavobacterium*, etc., gérmenes éstos que pueden cambiar ligeramente el color y hacer sospechosa la interpretación de la fermentación de la glucosa.

Urea

Positivo: (Microorganismos que hidrolizan la urea) el medio cambia de color, del amarillo al rosado.

Negativo: (Microorganismos que no hidrolizan la urea) no hay cambio de color en el medio.

Citrato

Positivo: se observa crecimiento en el medio, con un intenso color azul.

Negativo: se observa ausencia o muy poco crecimiento y el medio permanece de color verde.

Indol-Movilidad

Indol

Agregar 3 a 5 gotas del Reactivo de Indol. Observar el cambio de color en la parte superior del tubo.

Positivo: La parte superior del tubo cambia a rojo.

Negativo: No se observa color rojo.

Movilidad

Observar si el crecimiento o turbidez va más allá de la línea de siembra.

Positivo: se observa un crecimiento y turbidez que abarca más allá de la línea de siembra.

Negativo: se observa crecimiento sólo en la línea de siembra, el resto de la superficie se observa límpida.

Fenilalanina

Destapar el tubo y agregar 5 ó 6 gotas del reactivo de Cloruro Férrico. Rotar el tubo y al cabo de 1 minuto observar si se produce cambio de color en la superficie del pico de flauta.

Positivo: el medio cambia a color verde.

Negativo: el medio permanece sin cambio.

Malonato

Observar el color del tubo.

Positivo: el medio de cultivo cambia al azul.

Negativo: el medio de cultivo no experimenta cambio de color.

Lisina

Observar el color del tubo.

Positivo: el medio de cultivo cambia al azul.

Negativo: el medio de cultivo no experimenta cambio de color.

Sorbitol

Observar el color del tubo.

Positivo: el medio de cultivo cambia al amarillo fuerte.

Negativo: el medio de cultivo experimenta un leve cambio de color, con respecto a su color original.

Ornitina

Observar el color del tubo.

Positivo: el medio de cultivo permanece de color púrpura.

Negativo: coloración amarilla en el medio de cultivo, aunque quede un halo azul en la parte superior del tubo.

Arginina

Observar el color del tubo.

Positivo: el medio de cultivo permanece de color púrpura.

Negativo: el medio de cultivo experimenta un leve cambio de color, con respecto a su color original

Observando la GUIA SIMPLIFICADA y de acuerdo a los resultados obtenidos, podrá tipificar la enterobacteria, siempre y cuando haya realizado la cantidad de pruebas de Enterotest Unitest suficientes para tal fin.

CONTROL DE CALIDAD

Se podrá realizar el control de calidad, partiendo de una cepa de enterobacteria conocida. Recomendamos utilizar una cepa certificada de enterobacteria, por ejemplo: *E. coli* ATCC 25922.

LIMITACIONES Y CUIDADOS

- Realizar toda la tipificación de una misma colonia. En caso de colonias muy chicas, podrá utilizar otras., si está completamente seguro de que el cultivo es puro.
- Es importante flamear el ansa cada vez que siembra un medio distinto, a fin de evitar el arrastre de medio de cultivo de un tubo a otro.
- No utilizar los tubos que puedan haber cambiado su color original.
- En la movilidad muchas veces la turbidez es muy ligera y requiere cierta experiencia para apreciarla. Conviene mirarla contra la luz juntamente con un medio no sembrado para notar la pequeña diferencia.
- Si bien Enterotest Unitest no comprende todos los test bioquímicos que pueden ser usados en los centros especializados, se han elegido aquellos con los cuales se puede clasificar las enterobacterias que más frecuentemente se aislan de materiales humanos.

REFERENCIA

- Bergey's manual of systematic bacteriology (vol.1)
- Mac Faddin (Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica).
- Koneman - Allen - Dowel (Diagnóstico Microbiológico 3ra. edición - 1997).
- Lennette - Balows - Hausler (Manual de microbiología clínica - 4ta. Edición 1989).
- Farmer J.J. (Biochemical identification of new species and biogroups of enterobacteriaceae isolated from clinical specimens).

PRESENTACIÓN

Enterotest Unitest Indol-Movilidad	x 24 tubos	COD A10800
Enterotest Unitest Gluc-Lac-SH ₂ -Gas	x 24 tubos	COD A10900
Enterotest Unitest Citrato	x 24 tubos	COD A11000
Enterotest Unitest Urea	x 24 tubos	COD A11100
Enterotest Unitest Fenilalanina	x 24 tubos	COD A11200
Enterotest Unitest Malonato	x 24 tubos	COD A11300
Enterotest Unitest Sorbitol	x 24 tubos	COD A11400
Enterotest Unitest Lisina	x 24 tubos	COD A11500
Enterotest Unitest Ornitina	x 24 tubos	COD A12000
Enterotest Unitest Arginina	x 24 tubos	COD A12110

Producto Elaborado Por Laboratorios W. Brizuela S.A.

Av. Fig. Alcorta 123-139 5000 Córdoba (Argentina)

info@brizuela-lab.com.ar

"Autorizado por ANMAT N° 6675

Dir. Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela