

## ONPG

IVD

Discos de ONPG para la prueba de la beta galactosidasa.

### INTRODUCCIÓN

Los Discos Diferenciales ONPG se utilizan para determinar, en forma cualitativa, la presencia o ausencia de la enzima beta galactosidasa, utilizando el reactivo o-nitrofenil-D-galactopiranosido (ONPG); para poder diferenciar, de esta manera, entre los microorganismos con reacción retardada a la lactosa de los lactosa negativos.

### USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Para la prueba de la beta galactosidasa.

### FUNDAMENTO

Algunos microorganismos son fermentadores activos de la lactosa, otros lo son en forma retardada y algunos incapaces de fermentar la lactosa, cualquiera que sean las condiciones.

La fermentación de la lactosa depende de 2 enzimas (11), una beta galactosido-permeasa y una beta galactosidasa. Los microorganismos que fermentan la lactosa en forma lenta, lo hacen por una deficiencia de permeasa (12). Es posible una prueba rápida de galactosidasa, utilizando ONPG, debido a que ésta entra rápidamente en las células. La beta galactosidasa hidroliza al reactivo ONPG (incoloro), liberando o-nitrofenol que en medio alcalino produce una coloración amarilla. Le Minor y col (13-14) estudiaron las reacciones ONPG de las enterobacterias y encontraron que los fermentadores lentos de la lactosa como: *E. coli*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *E. cloacae*, *Serratia* y *Shigella dysenteriae*, daban todas pruebas de ONPG positivas.

### ELEMENTOS DEL SISTEMA

#### Provisto

50 discos de papel impregnados en una solución de O-nitrofenil-D-galactopiranosido. Listo para su uso. El envase contiene sílica gel como desecante.

#### No provisto

- Agar Tripto Soya.
- Agua destilada estéril.
- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Escherichia coli* ATCC 35218.
- *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

### MATERIAL REQUERIDO

#### No provisto

- Tubos de hemólisis estériles.
- Material volumétrico adecuado.
- Ansa.
- Cronómetro.
- Baño María.

### ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los discos Diferenciales ONPG son estables hasta la fecha que indica el envase, mantenidos refrigerados entre 2-10°C.

### MUESTRA

No se deben utilizar cultivos mezclados o especímenes clínicos directos, para la realización de la prueba de ONPG.



La muestra biológica se deberá sembrar por diseminación, en placa de agar Tripto Soya e incubarla a 37°C durante 18-24 horas, a fin de obtener colonias puras. En caso de no poder sembrar de inmediato el espécimen, puede conservarse 4 horas refrigerado entre 2-10°C.

Si la cantidad de colonias puras fuera escasa, se podrá realizar un subcultivo, de colonia pura, a fin de aumentar la concentración del inóculo.

Una vez obtenido el cultivo puro realizar la prueba antes de las 48 horas, manteniendo la placa refrigerada entre 2-10°C.

### PROCEDIMIENTO

Dejar que los discos tomen temperatura ambiente. Tomar un tubo de hemólisis estéril, agregar 0,2 ml de agua destilada estéril y realizar una suspensión bien densa, tomando 3 ó más colonias provenientes de cultivo puro. Colocar en baño María a 37°C y agregar 1 disco de ONPG. Agitar el tubo teniendo la precaución de que el disco quede sumergido en la suspensión. Observar el cambio de color de la suspensión al cabo de 4 horas.

### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Un color de amarillo suave al amarillo intenso indica una reacción positiva de ONPG. Si la suspensión no varió de color se considera una reacción negativa de ONPG.

### CONTROL DE CALIDAD

Seguir los pasos como se indica en el Procedimiento.

Las cepas utilizadas para el Control de Calidad son las siguientes:

CEPAS DE CONTROL	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	POSITIVA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	POSITIVA
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	NEGATIVA

### LIMITACIONES Y CUIDADOS

- Dejar que el envase tome temperatura ambiente antes de su uso, para evitar condensación de humedad dentro del mismo.
- Después de su uso tapar bien y colocar el envase dentro del refrigerador.
- No utilizar discos cuyo vencimiento haya expirado.
- Utilizar una suspensión bien densa para evitar resultados falsos negativos.
- Utilizar suspensiones de cultivos puros. No utilizar cultivos de más de 48 hs, para realizar las suspensiones.

### BIBLIOGRAFÍA

- Publ. Hith. Lab., 22:83, 1964.
- Acta. Pathol. Microbiol. Scand., 60:387, 1964.
- Annal. Inst. Pasteur, 102:267, 1962.
- Appl. Microbiol., 14:178, 1966.

### PRESENTACIÓN

Envase por 50 discos.

COD B01315.

Producto Elaborado Por Laboratorios W. Brizuela S.A.

Falucho 59 (X5002HMA) - Córdoba, Argentina.

info@brizuela-lab.com.ar

Autorizado por ANMAT N° 4529.

Director Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela.

## ONPG

IVD

Discos de ONPG para la prueba de la beta galactosidasa.

### INTRODUCCIÓN

Los Discos Diferenciales ONPG se utilizan para determinar, en forma cualitativa, la presencia o ausencia de la enzima beta galactosidasa, utilizando el reactivo o-nitrofenil-D-galactopiranosido (ONPG); para poder diferenciar, de esta manera, entre los microorganismos con reacción retardada a la lactosa de los lactosa negativos.

### USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Para la prueba de la beta galactosidasa.

### FUNDAMENTO

Algunos microorganismos son fermentadores activos de la lactosa, otros lo son en forma retardada y algunos incapaces de fermentar la lactosa, cualquiera que sean las condiciones.

La fermentación de la lactosa depende de 2 enzimas (11), una beta galactosido-permeasa y una beta galactosidasa. Los microorganismos que fermentan la lactosa en forma lenta, lo hacen por una deficiencia de permeasa (12). Es posible una prueba rápida de galactosidasa, utilizando ONPG, debido a que ésta entra rápidamente en las células. La beta galactosidasa hidroliza al reactivo ONPG (incoloro), liberando o-nitrofenol que en medio alcalino produce una coloración amarilla. Le Minor y col (13-14) estudiaron las reacciones ONPG de las enterobacterias y encontraron que los fermentadores lentos de la lactosa como: *E. coli*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *E. cloacae*, *Serratia* y *Shigella dysenteriae*, daban todas pruebas de ONPG positivas.

### ELEMENTOS DEL SISTEMA

#### Provisto

50 discos de papel impregnados en una solución de O-nitrofenil-D-galactopiranosido. Listo para su uso. El envase contiene sílica gel como desecante.

#### No provisto

- Agar Tripto Soya.
- Agua destilada estéril.
- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Escherichia coli* ATCC 35218.
- *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853.

### MATERIAL REQUERIDO

#### No provisto

- Tubos de hemólisis estériles.
- Material volumétrico adecuado.
- Ansa.
- Cronómetro.
- Baño María.

### ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los discos Diferenciales ONPG son estables hasta la fecha que indica el envase, mantenidos refrigerados entre 2-10°C.

### MUESTRA

No se deben utilizar cultivos mezclados o especímenes clínicos directos, para la realización de la prueba de ONPG.



La muestra biológica se deberá sembrar por diseminación, en placa de agar Tripto Soya e incubarla a 37°C durante 18-24 horas, a fin de obtener colonias puras. En caso de no poder sembrar de inmediato el espécimen, puede conservarse 4 horas refrigerado entre 2-10°C.

Si la cantidad de colonias puras fuera escasa, se podrá realizar un subcultivo, de colonia pura, a fin de aumentar la concentración del inóculo.

Una vez obtenido el cultivo puro realizar la prueba antes de las 48 horas, manteniendo la placa refrigerada entre 2-10°C.

### PROCEDIMIENTO

Dejar que los discos tomen temperatura ambiente. Tomar un tubo de hemólisis estéril, agregar 0,2 ml de agua destilada estéril y realizar una suspensión bien densa, tomando 3 ó más colonias provenientes de cultivo puro. Colocar en baño María a 37°C y agregar 1 disco de ONPG. Agitar el tubo teniendo la precaución de que el disco quede sumergido en la suspensión. Observar el cambio de color de la suspensión al cabo de 4 horas.

### EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Un color de amarillo suave al amarillo intenso indica una reacción positiva de ONPG. Si la suspensión no varió de color se considera una reacción negativa de ONPG.

### CONTROL DE CALIDAD

Seguir los pasos como se indica en el Procedimiento.

Las cepas utilizadas para el Control de Calidad son las siguientes:

CEPAS DE CONTROL	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	POSITIVA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	POSITIVA
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	NEGATIVA

### LIMITACIONES Y CUIDADOS

- Dejar que el envase tome temperatura ambiente antes de su uso, para evitar condensación de humedad dentro del mismo.
- Después de su uso tapar bien y colocar el envase dentro del refrigerador.
- No utilizar discos cuyo vencimiento haya expirado.
- Utilizar una suspensión bien densa para evitar resultados falsos negativos.
- Utilizar suspensiones de cultivos puros. No utilizar cultivos de más de 48 hs, para realizar las suspensiones.

### BIBLIOGRAFÍA

- Publ. Hith. Lab., 22:83, 1964.
- Acta. Pathol. Microbiol. Scand., 60:387, 1964.
- Annal. Inst. Pasteur, 102:267, 1962.
- Appl. Microbiol., 14:178, 1966.

### PRESENTACIÓN

Envase por 50 discos.

COD B01315.

Producto elaborado por Laboratorios W. Brizuela S.A.

Falucho 59 (X5002HMA) - Córdoba, Argentina.

info@brizuela-lab.com.ar

Autorizado por ANMAT N° 4529.

Director Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela.