

INTEGRAL SISTEM ENTEROBACTERIA

Sistem colorimetric de identificarea biochimică și testarea sensibilității enterobacteriaceelor

DESCRIERE

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA este un sistem de 24 de godeuri ce contin substraturi biochimice si antibiotice deshidratate pentru identificarea biochimica si testarea sensibilitatii la antibiotice a enterobacteriaceelor. Sistemul este inoculat cu o suspensie bacteriana continand microorganismul cercetat si apoi incubat timp de 18-24 de ore la temperatura de 36 °C ± 1°C. Testele de identificare biochimica si testarea sensibilitatii la antibiotice sunt interpretate prin citirea culorilor diferitelor godeuri.

CONTINUT KIT

Un kit contine:

- 20 de sisteme INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA
- 20 de discuri de oxidaza
- 20 de fiole de mediu pentru suspensie (7.0 ml/fiola)
- 1 foaie cu instructiuni

ELEMENTE NECESARE DAR NEINCLUSE IN KIT

- Ulei de vaselină
- Ser fiziologic
- Reactiv Kovacs

CONFIGURARE

Configurația sistemului este prezentată în tabelul 1.

Tabelul 1

Godeul	Identificarea biochimică
1-LDC	Decarboxilarea lizinei
2-ODC	Decarboxilarea ornitinei
3-H ₂ S	Producerea hidrogenului sulfurat
4-IND	Testul indol
5-ALC	Fermentarea lactozei
6-DUL	Fermentarea dulcitolului
7-PA	Dezaminarea fenilalaninei
8-UR	Hidroliza ureei
9-CIT	Utilizarea citratului
10-OX	Testul oxidazei

Godeul	Testarea sensibilității (*)
11-AK	Amikacin - 32 µg/ml
12-CN	Gentamicin - 8 µg/ml
13-TOB	Tobramycin - 8 µg/ml
14-TZP	Piperacillin+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Fosfomicin - 200 µg/ml
16-CFP	Cefoperazone - 64 µg/ml
17-CTX	Cefotaxime - 64 µg/ml
18-CAZ	Ceftazidime - 32 µg/ml
19-AMS	Ampicillin + Sulbactam - 32/16 µg/ml
20-NA	Nalidixic acid - 32 µg/ml
21-CIP	Ciprofloxacin - 4 µg/ml
22-LEV	Levofloxacin - 8 µg/ml
23-SXT	Co-Trimoxazole - 8 µg/ml
24-C	Controlul cresterii pentru testarea sensibilitatii

(*): Concentrația fiecarui antibiotic este în conformitate cu NCCLS-ianuarie 2004, Vol. 24 N ° 1.

PRINCIPIUL METODEI

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA permite simultan atât identificarea biochimică cât și testarea sensibilității la antibiotice a enterobacteriaceelor izolate din probe clinice.

- Identificarea se bazează pe teste biochimice efectuate pe medii de cultură care conțin substraturi specifice în godeurile de la 1-LDC la 10-OX.
- Testarea sensibilității la antibiotice este evaluată pe baza creșterii sau inhibării microorganismelor în mediile care conțin atât antibiotice cât și un indicator de creștere, în godeurile de la 11-AK la 23-SXT. Godeul 24-C nu conține antibiotice, ci numai mediul de cultură și indicatorul de creștere; el se folosește drept control de creștere a microorganismelor pentru evaluarea testelor de sensibilitate la antibiotice.

COMPOZIȚIA

Tabelul 2

Godeul	Conținut
1-LDC	mediu de cultura pentru a evidenția decarboxilarea lizinei
2-ODC	mediu de cultura pentru a evidenția decarboxilarea ornitinei
3-H ₂ S	mediu de cultura pentru a evidenția producerea de hidrogen sulfurat
4-IND	mediu de cultura pentru a evidenția producerea de indol
5-ALC	mediu de cultura pentru a evidenția fermentarea lactozei
6-DUL	mediu de cultura pentru a evidenția fermentarea dulcitolului
7-PA	mediu de cultura pentru a evidenția dezaminarea fenilalaninei
8-UR	mediu de cultura pentru a evidenția hidroliza ureei
9-CIT	mediu de cultura pentru a evidenția utilizarea citratului
10-OX	mediu de cultura pentru a evidenția enzima citocrom-oxidază
11-AK	mediul de cultura cu Amikacina - 32 μg/ml
12-NC	mediul de cultura cu Gentamicina - 8 μg/ml
13-TOB	mediul de cultura cu Tobramicina - 8 μg/ml
14-TZP	mediul de cultura cu Piperacilină + Tazobactam - 128/4 μg/ml
15-FOS	mediul de cultura cu Fosfomicin - 200 μg/ml
16-CFP	mediul de cultura cu Cefoperazone - 64 μg/ml
17-CTX	mediul de cultura cu Cefotaxime - 64 μg/ml
18-CAZ	mediul de cultura cu Ceftazidime - 32 μg/ml
19-AMS	mediul de cultura cu Ampicilin + Sulbactam - 32/16 μg/ml
20-NA	mediu de cultură care conține Nalidixic acid - 32 μg/ml
21-CIP	mediul de cultura cu Ciprofloxacina - 4 μg/ml
22-LEV	mediul de cultura cu Levofloxacina - 8 μg/ml
23-SXT	mediul de cultura cu Co-Trimoxazole - 8 μg/ml
24-C	mediu de cultura fără antibiotice

Mediul pentru suspensie (g/l):

Extract de drojdie 5 g; Peptonă din carne de vită 3 g; Glucoză 2 g; Apă distilată 1000.0 ml;
pH 6,8 ± 0,2

COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR

Coloniile care urmează să fie supuse testelor de identificare biochimică și evaluare a sensibilității la antibiotice cu INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA trebuie să fie luate de pe un mediu de cultură - selectiv sau neselectiv - utilizat pentru izolarea enterobacteriaceelor.

PROCEDURA

1. Se ia un sistem din kit.
2. După verificarea probabilității ca respectivele colonii dezvoltate pe un mediu de cultură să aparțină grupului Enterobacteriaceelor, se iau una sau mai multe colonii similare din punct de vedere morfologic, bine izolate, de pe un mediu de cultură solid și se suspendă în 5 ml de ser fiziologic de uz microbiologic, în așa fel încât să se obțină o turbiditate echivalentă cu 0.5 McFarland (**suspensie bacteriană**).
3. Se transferă:
 - 0,2 ml de **suspensie bacteriană** în fiecare din primele 10 godeuri, iar în godeurile 1-LDC, 2-ODC, 3-H₂S și

- 8-UR se adauga 2 picaturi de ulei de vaselina pentru uz microbiologic (IDENTIFICAREA BIOCHIMICĂ).
- 0,01 ml de **suspensie bacteriană** în flaconul cu mediu pentru suspensie cuprins în kit, apoi se distribuie 0,2 ml în godeurile de la 11-AK la 24-C (TESTAREA SENSIBILITĂȚII).
4. Se acopera sistemul cu capacul prevăzut și se incubează la $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 18-24 de ore.
5. După incubare, se adaugă:
- 2 picături de reactiv Kovacs in godeul 4-IND (testul indol).
 - 1 disc de oxidază in godeul 10-OX (testul oxidazei).

INTERPRETAREA REZULTATELOR

IDENTIFICAREA BIOCHIMICĂ

Se interpreteaza rezultatele primelor 10 godeuri utilizând Tabelul 3 și se formează codul de 4 cifre urmând instrucțiunile date la paragraful „Formarea codului numeric”. Apoi utilizați codul in Tabelul 5 pentru a identifica bacteria.

TESTAREA SENSIBILITĂȚII

Se observa schimbările de culoare din godeurile de la 11-AK pana la 23-SXT și se interpreteaza rezultatele folosind tabelul 3. Godeul de control al creșterii (24-C) trebuie să fie pozitiv (galben). În cazul în care este negativ (albastru sau gri), este necesar să se verifice vitalitatea inoculului și dacă aceasta a fost corect pregătit, apoi să se repete testele utilizand un sistem nou.

Tabelul 3

Godeul	IDENTIFICAREA BIOCHIMICA	Culoarea godeului	
		Reactie pozitiva	Reactie negativa
1-LDC	Decarboxilarea lizinei	Violet	Galben-Marou
2-ODC	Decarboxilarea ornitinei	Violet	Galben-Marou
3-H ₂ S	Producerea de hidrogen sulfurat	Negru	Galben
4-IND	Testul indol	Inel roz-roșu	Galben
5-ALC	Fermentarea lactozei	Galben	Albastru-verde
6-DUL	Fermentarea dulcitolului	Galben	Albastru-verde
7-PA	Dezaminarea fenilalaninei	Negru-Marou	Galben
8-UR	Hidroliza ureei	Roșu-Fuchsia	Galben-portocaliu
9-CIT	Utilizarea citratului	Albastru-verde închis	Verde
10-OX	Testul oxidazei	Albastru-violet (reacție imediată)	Incolor

TESTELE DE SENSIBILITATE LA ANTIBIOTICE

Culoarea godeului	Cresterea bacteriana	Interpretare
Albastru	Inhibată	S = Sensibil
Gri	Intermediară	I = Intermediar
Galben	Bună	R = Rezistent

FORMAREA CODULUI NUMERIC

1) Cele 10 teste biochimice sunt împărțite în 3 grupe, fiecare conținând 3 teste și un grup care conține 1 test, fiecare este indicat cu o valoare de pozitivitate de 1,2,4.

- Valoarea 1: primul test pozitiv în fiecare grup
(LDC, IND, PA, OX)
- Valoarea 2: al doilea test pozitiv în fiecare grup
(ODC, LAC, UR)
- Valoarea 4: al treilea test pozitiv în fiecare grup
(H₂S, DUL, CIT)
- Valoarea zero: reacție negativă în fiecare grup

2) Însușind numărul de reacții pozitive din fiecare grupă, se obține un cod de 4 cifre, care este utilizat pentru a identifica micro-organisme din tabelul de coduri numerice, ca în exemplul de mai jos:

Well	Group I			Group II			Group III			Group IV
	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
Positiveness code	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
Results	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Codes addition	3			3			0			0
NUMERICAL CODE: 3300				IDENTIFICATION: <i>E.coli</i>						

TABELUL CU REACTII BIOCHIMICE

Tabelul 4

Micro-organisms	Group I			Group II			Group III			Group IV
	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
<i>E.coli</i>	V	V	-	+	+	V	-	-	-	-
<i>E.coli inactive</i>	V	V	-	+	-	V	-	-	-	-
<i>Shigella spp.</i>	-	V	-	V	-	-	-	-	-	-
<i>Edwardsiella spp.</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter spp.</i>	-	V	+	V	V	V	-	V	V	-
<i>Salmonella spp.</i>	+	+	V	-	-	+*	-	-	V	-
<i>Arizona spp.</i>	+	+	+	V	V	-	-	-	+	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	-	-	-	+	V	-	V	V	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	-	+	+	V	-	+	V	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	V	+	-	-	V	-	-	V	+	-
<i>E. aerogenes</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>Enterobacter hafnia</i>	+	+	-	-	V	-	-	-	+	-
<i>Serratia spp.</i>	+	+	-	-	-	-	-	V	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	V	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	V	+	-	-	+	+	V	-
<i>Morganella morganii</i>	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-
<i>Providencia stuartii</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
<i>Providencia rettgeri</i>	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>Pseudomonas spp.</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Reacție pozitivă

-: Reacție negativă

V: Reacție variabilă

*Dulcitol: Unele tulpini de *Salmonella* fermentează lent dulcitolul; ele pot fi, prin urmare, identificate inițial ca *Arizona spp.* În aceste cazuri este necesar un test de confirmare cu ajutorul unui antiser polivalent pentru *Salmonella*.

TABELUL CU CODURI NUMERICE

Tabelul 5

Code	Micro-organism	Code	Micro-organism	Code	Micro-organism	Code	Micro-organism
0000	<i>Shigella</i> spp.	2240	<i>Enterobacter cloacae</i>	4220	<i>Citrobacter</i> spp.	6160	<i>Citrobacter</i> spp.
0100	<i>E. coli</i> inactive 45%	2260	<i>Enterobacter cloacae</i>	4240	<i>Citrobacter</i> spp.	6200	<i>Citrobacter</i> spp.
	<i>Shigella</i> spp. 55%	2300	<i>E. coli</i>	4260	<i>Citrobacter</i> spp.	6220	<i>Citrobacter</i> spp.
0130	<i>Proteus vulgaris</i>	2500	<i>E. coli</i> inactive	4300	<i>Citrobacter</i> spp.	6240	<i>Citrobacter</i> spp.
0150	<i>Providencia stuartii</i>	2700	<i>E. coli</i>	4320	<i>Citrobacter</i> spp.	6260	<i>Citrobacter</i> spp.
0170	<i>Proteus vulgaris</i> 0.5%	3040	<i>Enterobacter hafniae</i> 60%	4340	<i>Citrobacter</i> spp.	6300	<i>Citrobacter</i> spp.
	<i>Providencia rettgeri</i> 99.5%		<i>Serratia</i> spp. 37%	4360	<i>Citrobacter freundii</i>	6320	<i>Citrobacter</i> spp.
	<i>E. coli</i>		<i>Enterobacter cloacae</i> 3%	4400	<i>Citrobacter</i> spp.	6340	<i>Citrobacter</i> spp.
0500	<i>E. coli</i> inactive	3041	<i>Pseudomonas</i> spp.	4420	<i>Citrobacter</i> spp.	6360	<i>Citrobacter</i> spp.
0700	<i>E. coli</i>	3060	<i>Serratia</i> spp. 98.9 %	4440	<i>Citrobacter</i> spp.	6400	<i>Citrobacter</i> spp.
1100	<i>E. coli</i> inactive		<i>Enterobacter cloacae</i> 1.1%	4460	<i>Citrobacter</i> spp.	6420	<i>Citrobacter</i> spp.
1200	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>E. coli</i> inactive	4500	<i>Citrobacter</i> spp.	6440	<i>Citrobacter</i> spp.
1220	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3240	<i>Enterobacter cloacae</i> 7.7%	4520	<i>Citrobacter</i> spp.	6460	<i>Citrobacter</i> spp.
1240	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Enterobacter aerogenes</i> 75%	4540	<i>Citrobacter</i> spp.	6500	<i>Citrobacter</i> spp.
1260	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Enterobacter hafniae</i> 17.3%	4560	<i>Citrobacter</i> spp.	6520	<i>Citrobacter</i> spp.
1300	<i>E. coli</i>	3260	<i>Enterobacter cloacae</i>	4600	<i>Citrobacter</i> spp.	6540	<i>Citrobacter</i> spp.
1320	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3300	<i>E. coli</i>	4620	<i>Citrobacter</i> spp.	6560	<i>Citrobacter</i> spp.
1360	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3400	<i>Salmonella</i> spp.	4640	<i>Citrobacter</i> spp.	6600	<i>Citrobacter</i> spp.
1500	<i>E. coli</i> inactive	3440	<i>Salmonella</i> spp.	4660	<i>Citrobacter</i> spp.	6620	<i>Citrobacter</i> spp.
1600	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3500	<i>E. coli</i> inactive	4700	<i>Citrobacter</i> spp.	6640	<i>Citrobacter</i> spp.
1620	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3700	<i>E. coli</i>	4720	<i>Citrobacter</i> spp.	6660	<i>Citrobacter</i> spp.
1640	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4000	<i>Citrobacter</i> spp.	4740	<i>Citrobacter</i> spp.	6700	<i>Citrobacter</i> spp.
1660	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4020	<i>Citrobacter</i> spp.	4760	<i>Citrobacter</i> spp.	6720	<i>Citrobacter</i> spp.
1700	<i>E. coli</i>	4040	<i>Citrobacter</i> spp.	6000	<i>Citrobacter</i> spp.	6740	<i>Citrobacter</i> spp.
1720	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4060	<i>Citrobacter</i> spp.	6020	<i>Citrobacter</i> spp.	6760	<i>Citrobacter</i> spp.
1760	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4100	<i>Citrobacter</i> spp.	6030	<i>Proteus mirabilis</i>	7040	<i>Arizona</i> spp.
2000	<i>Shigella</i> spp.	4120	<i>Citrobacter</i> spp.	6040	<i>Citrobacter</i> spp.	7100	<i>Edwardsiella</i> spp.
2040	<i>Enterobacter cloacae</i>	4130	<i>Proteus vulgaris</i>	6060	<i>Citrobacter</i> spp.	7140	<i>Arizona</i> spp.
2060	<i>Enterobacter cloacae</i>	4140	<i>Citrobacter</i> spp.	6070	<i>Proteus mirabilis</i>	7240	<i>Arizona</i> spp.
2100	<i>E. coli</i> inactive 44.6%	4160	<i>Citrobacter</i> spp.	6100	<i>Citrobacter</i> spp.	7340	<i>Arizona</i> spp.
	<i>Shigella</i> spp. 55.4%	4170	<i>Proteus vulgaris</i>	6120	<i>Citrobacter</i> spp.	7400	<i>Salmonella</i> spp.
2130	<i>Morganella morganii</i>	4200	<i>Citrobacter</i> spp.	6140	<i>Citrobacter</i> spp.	7440	<i>Salmonella</i> spp.

CONTROLUL CALITĂȚII

Fiecare lot de INTEGRAL SISTEM ENTEROBACTERI este supus unui control de calitate folosind următoarele tulpini de referință (ATCC):

Enterobacter cloacae..... ATCC 13047 *Proteus mirabilis*..... ATCC 25933
Escherichia coli..... ATCC 25922 *Pseudomonas aeruginosa*..... ATCC 27853
Klebsiella pneumoniae..... ATCC 13883 *Salmonella typhimurium*..... ATCC 14028

FACTORI CARE POT INVALIDA REZULTATELE

Standardizarea slabă a inoculului; aplicarea metodei la microorganismele ce nu aparțin grupului Enterobacteriaceelor; culturi amestecate sau contaminate; utilizarea sistemelor expirate sau a reactivilor expirati; aplicarea incorectă a tehnicii.

LIMITE ȘI AVERTISMENTE

Identificarea *Salmonella* spp. și *Shigella* spp. trebuie confirmată cu ajutorul antiserurilor. În unele cazuri pot fi necesare teste de confirmare suplimentare pentru identificarea definitivă a microorganismelor.

PERFORMANȚĂ

Rezultatele identificării bacteriene obținute cu INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA sunt în concordanță cu cele obținute prin utilizarea metodelor tradiționale, așa cum este indicat de către Piccolomini și colab.

Rezultatele antibiogramei obținute cu INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA sunt în concordanță cu cele obținute utilizând metoda difuziei radiale, în conformitate cu Bauer și colab, recomandată de Food and Drug Administration (FDA) și de către NCCLS, SUA.

DEPOZITARE

A se păstra la temperatura de 2-8°C în pachetul original. A se feri de surse de căldură și a se evita schimbările excesive de temperatură. În aceste condiții, produsul va rămâne valid până la data de expirare indicată pe etichetă. Nu utilizați după această dată. Nu utilizați dacă există semne de deteriorare.

ELIMINAREA MATERIALELOR FOLOSITE

După utilizare, INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERIA și toate materialele care au intrat în contact cu probele trebuie decontaminate și eliminate în conformitate cu tehnicile folosite în laborator pentru decontaminarea și eliminarea materialelor posibil infectate.