



SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN PARA ORGANISMOS
GRAM-NEGATIVOS **MICROBACT™**

12A (12E)
(para *Enterobacteriaceae*)

24E (12A (12E) + 12B)
(para *Enterobacteriaceae* y diversos bacilos gram-negativos)

FICHA TÉCNICA

SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN PARA ORGANISMOS GRAM-NEGATIVOS MICROBACT™ 12A (12E) Y 24E (12A (12E) + 12B)

INDICACIONES

El sistema **Microbact™ Gram-negativo** se halla indicado para la identificación de especies de bacilos aerobios y anaerobios facultativos gram-negativos (*Enterobacteriaceae* y diversas bacterias gram-negativas).^{2, 3, 5, 6, 7}

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema **Microbact™ Gram-negativo** se basa en la utilización de un microsustrato estandarizado, diseñado para simular los sustratos bioquímicos convencionales utilizados para la identificación de *Enterobacteriaceae* y diversas bacterias gram-negativas (DBGN) comunes. La identificación del microorganismo se basa en los cambios de pH y en la utilización de sustratos, en base a lo estipulado en las publicaciones de referencia.^{4, 6, 8, 9} Consultar la **tabla de reacciones** a continuación, para conocer los sustratos en cada pocillo, el principio específico de reacción y los cambios de color.

El sistema **Microbact™ Gram-negativo** se compone de dos tiras de sustratos, 12A y 12B. A su vez, cada tira contiene 12 sustratos bioquímicos diferentes. La tira 12A a solas puede utilizarse para identificar especies oxidasa-negativas, nitrato-positivas que fermentan glucosa y que abarcan 15 géneros, siendo de utilidad para el "screening" de *Enterobacteriaceae* patogénicos provenientes de muestras entéricas o de orina, o para la identificación de otros aislados comunes. A su vez, la tira 12B puede emplearse en combinación con la tira 12A para la identificación de especies oxidasa-positivas, nitrato-negativas que no fermentan glucosa (DBGN), así como de *Enterobacteriaceae*.

Nota: Los 12 sustratos de la tira 12ª se hallan disponibles en formato de microplaca sólida, con la referencia 12E. La tira 12B puede utilizarse junto con la tira 12E, aunque en una bandeja separada. El formato de microplaca sólida 24E contiene los 24 sustratos de la combinación de tiras 12A y 12B.

LAS SIGUIENTES ESPECIES DE **BACILOS OXIDASA-NEGATIVOS Y GRAM-NEGATIVOS** PUEDEN IDENTIFICARSE MEDIANTE EL **SISTEMA 12A (12E) AISLADAMENTE:**

Enterobacteriaceae

Acinetobacter spp.

A. baumannii

A. lwoffii

A. haemolyticus

Citrobacter spp.

C. freundii

C. diversus

Enterobacter spp.

E. aerogenes

E. cloacae

E. agglomerans

E. gergoviae

E. sakazakii

Escherichia spp.

E. coli

E. coli-inactive

E. vulneris

Shigella spp.

Shigella serogp. AB&C

S. sonnei

Hafnia sp.

H. alvei

Klebsiella spp.

K. pneumoniae

K. oxytoca

K. ozaenae

K. rhinoscleromatis

Morganella sp.

M. morganii

Proteus spp.

P. mirabilis

P. vulgaris

Providencia spp.

P. rettgeri

P. stuartii

P. alcalifaciens

Salmonella spp.

Salmonella sp.

S. typhi

S. cholerae-suis

S. paratyphi A

S. arizonae

Serratia spp.

S. marcescens

S. liquefaciens

S. rubidaea

Tatumella sp.

T. ptyseos

Yersinia spp.

Y. enterocolitica

Y. pseudotuberculosis

OTROS BACILOS OXIDASA-NEGATIVOS Y GRAM-NEGATIVOS QUE PUEDEN IDENTIFICARSE MEDIANTE LOS SISTEMAS 12A (12E) + 12B EN COMBINACIÓN, O UTILIZANDO EL SISTEMA 24E:

Acinetobacter spp.

A. baumannii
A. lwoffii
A. haemolyticus

Budvicia sp.

B. aquatica

Buttiauxella sp.

B. agrestis

Cedecea spp.

C. davisae
C. lapagei
C. neteri
Cedecea sp 3
Cedecea sp 5

Citrobacter spp.

C. freundii
C. diversus
C. amalonaticus
C. amalonaticus biogp 1
C. farmeri
C. youngae
C. braakii
C. werkmanii
C. sedlakii
Citrobacter sp 9
Citrobacter sp 10
Citrobacter sp 11

Edwardsiella spp.

E. tarda
E. tarda biogp 1
E. hoshinae
E. ictaluri

Enterobacter spp.

E. aerogenes
E. cloacae
E. agglomerans
E. gergoviae
E. sakazakii
E. taylorae
E. amnigenus biogp 1
E. amnigenus biogp 2
E. asburiae
E. hormaechei
E. intermedium
E. cancerogenus
E. dissolvens
E. nimipressuralis

Escherichia spp.

E. coli
E. coli-inactive
E. fergusonii
E. hermannii
E. vulneris
E. blattae

Ewingella sp.

E. americana

Hafnia sp.

H. alvei
H. alvei biogp 1

Klebsiella spp.

K. pneumoniae
K. oxytoca
K. ornithinolytica
K. planticola
K. ozaenae
K. rhinoscleromatis
K. terrigena
Klebsiella gp 47
K. ascorbata
K. cryocrescens

Leclercia sp.

L. adecarboxylata

Leminorella spp.

L. grimontii
L. richardii

Moellerella sp.

M. wisconsensis

Morganella sp.

M. morganii
M. morganii ssp. *morganii*
M. morganii biogp 1
M. morganii ssp. *Siboni* 1

Obesumbacterium sp.

O. proteus biogp 2

Pragia sp.

P. fontium

Proteus spp.

P. mirabilis
P. vulgaris
P. penneri
P. myxofaciens

Providencia spp.

P. rettgeri
P. stuartii
P. alcalifaciens
P. rustigianii
P. heimbachae

Rahnella sp.

R. aquatilis

Salmonella spp.

Salmonella subsp. 1
S. typhi
S. cholerae-suis
S. paratyphi A
S. gallinarum
S. pullorum
Salmonella subsp. 2

S. arizonae subsp. 3A

Salmonella subsp. 3B

Salmonella subsp. 4

Salmonella subsp. 5

Salmonella subsp. 6

Serratia spp.

S. marcescens
S. marcescens biogp 1
S. liquefaciens
S. rubidaea
S. odorifera biogp 1
S. odorifera biogp 2
S. plymuthica
S. ficaria
S. entomophila
S. fonticola

Shigella spp.

Shigella serogp. AB&C
S. sonnei

Trabulsiella sp.

T. guamensis

Xenorhabdus spp.

X. luminescens (25C)
X. luminescens gp 5
X. nematophilis (25C)

Xanthomonas sp.

X. (S.) maltophilia

Yersinia spp.

Y. enterocolitica
Y. frederiksenii
Y. intermedia
Y. kristensenii
Y. rohdei
Y. aldovae
Y. bercovieri
Y. mollaretii
Y. pestis
Y. pseudotuberculosis
Y. ruckeri

Yokenella sp.

Y. regensburgi

Entérico Gp17

Entérico Gp41

Entérico Gp45

Entérico Gp58

Entérico Gp59

Entérico Gp60

Entérico Gp63

Entérico Gp64

Entérico Gp68

Entérico Gp69

Y LAS SIGUIENTES **BACTERIAS OXIDASA-POSITIVAS** PUEDEN IDENTIFICARSE MEDIANTE EL SISTEMA **12A** (12E) + **12B** EN COMBINACIÓN, O UTILIZANDO EL SISTEMA **24E**:

Pseudomonas spp.

Ps. aeruginosa
Ps. fluorescens-25
Ps. fluorescens-35
Ps. putida
Ps. stutzeri
Ps. diminuta

Burkholderia spp.

B. cepacia
B. pseudomallei

Shewanella sp.

S. putrefaciens

Alcaligenes spp.

A. faecalis type 11
A. faecalis
A. xylosoxidans spp. *xylos*
{Achromobacter xylosoxidans}

Flavobacterium spp.

F. meningosepticum
(Chryseobacterium meningosepticum)
F. odoratum
(Myroides odoratus)
F. breve
(Empedobacter brevis)
F. indologenes
(Chryseobacterium indologenes)

Vibrio spp.

V. fluvialis
V. furnissii
V. mimicus
V. vulnificus
V. hollisae
V. cholerae
V. parahaemolyticus
V. alginolyticus

Moraxella spp.

Moraxella spp.
Plesiomonas sp.
P. shigelloides
Aeromonas spp.
A. hydrophila
A. veronii bio sobria
A. veronii bio veronii
A. caviae

Weeksella spp.

W. virosa
W. zoohelcum

Pasteurella spp.

P. multocida
P. haemolytica

Actinobacillus spp.

Actinobacillus sp.

Consultar el Archivo de Ayuda del Software de Identificación Informatizado Microbact™ para más información.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Estas tiras sólo deben utilizarse *in vitro*, por personal de laboratorio cualificado y empleando técnicas asépticas con la debida precaución contra riesgos microbiológicos.
2. Los materiales utilizados deberán pasar por autoclave, ser incinerados o inmersos en germicida, antes de desecharlos.
3. **NO** incubar las tiras en una incubadora CO₂, ya que podrían perjudicarse los sustratos y/o reacciones enzimáticas, con la generación de reacciones falsas.

ALMACENAMIENTO

Las tiras reactivas son estables hasta la fecha de caducidad especificada, a condición de que permanezcan selladas en el interior de los sobres de aluminio a una temperatura de 2-8°C. Una vez abierto el sobre, las tiras no utilizadas deberán ser devueltas al sobre, sellando éste con cinta adhesiva. Las tiras que se almacenan de esta manera deberán ser utilizadas en un plazo de 7 días.

PRESENTACIÓN

Cada kit contiene:

- 1 bandeja de sujeción
- Ficha técnica
- Formulario de resultados de ID (identificación) del organismo, incluyendo un esquema de interpretación de color

KITS PEQUEÑOS:

MB1130A	Microbact 12E	(10 sobres, 80 identificaciones)
MB1131A	Microbact 24E	(10 sobres, 40 identificaciones)
MB1132A	Microbact 12A	(10 sobres, 60 identificaciones)
MB1133A	Microbact 12B	(10 sobres, 60 identificaciones)

KITS GRANDES:

MB1073A	Microbact 12E	(20 sobres, 160 identificaciones)
---------	---------------	-----------------------------------

MB1074A	Microbact 24E	(20 sobres, 80 identificaciones)
MB1076A	Microbact 12A	(20 sobres, 120 identificaciones)
MB1077A	Microbact 12B	(20 sobres, 120 identificaciones)

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

El siguiente material puede resultar necesario, si bien no se suministra con el kit:

Código de pedido	Nombre de producto
MB0209A	Indol
MB0181A	VP I
MB0184A	VP II
MB0180A	TDA
MB0186A	NIT A
MB0187A	NIT B
MB1093A	Aceite mineral
MB0266A	Tiras oxidasa

Este material puede adquirirse individualmente o en formato kit, pidiendo el código de producto MB1082A:

Kit Reactivo D (Indol, VPI, VPII, TDA, NIT A/B)

- MB1244A Paquete de Identificación Informatizado **Microbact™**
- MB0266A reactivo oxidasa
- Medio de motilidad
- 2,5/5,0 ml suero fisiológico apropiado, 0,85%
- 5,0 ml agua peptonada (para utilizar con medios selectivos)
- SR0035 suero estéril
- Polvo de zinc
- Asa de inoculación
- Pipetas estériles
- Incubadora sin ventilador (o bien utilizar contenedor en una incubadora con ventilador)(35° ± 2°C), ausencia de CO₂

MONTAJE

AISLAMIENTO

Deberá obtenerse un cultivo puro de 18-24 horas del organismo a identificar. Se pueden emplear medios agar adecuados, como por ejemplo MacConkey (CM0007), eosina azul metileno (CM0069), sangre o chocolate (CM0331 y SR0050), para el crecimiento de organismos.

Los especímenes deberán ser obtenidos por personal cualificado, utilizando los procedimientos estándar habituales para el manejo de muestras.¹⁰

Antes de usar, deberá realizarse un test de oxidasa del organismo a identificar.

Nota: Los organismos oxidasa-positivos no pueden identificarse mediante el sistema **Microbact™** 12A (12E) a solas, y deberán examinarse con el **Microbact™** 24E (12A (12E) + 12B).

El esquema de procedimiento proporciona una versión resumida de los siguientes procedimientos.

ESQUEMA DE PROCEDIMIENTO:

	12A (ó 12E) <i>Enterobacteriaceae</i>	24E (12A (o 12E) + 12B) <i>Enterobacteriaceae</i>	24E (12A (o 12E) + 12B) Diversas bacterias gram-negativas
Oxidasa	Negativo	Negativo	Positivo
Preparación de inóculo	1-2 colonias 2,5 ml fisiológico	2-3 colonias 5,0 ml fisiológico	2-3 colonias 5,0 ml fisiológico Cuando se sospecha de <i>Actinobacillus</i> o <i>Pasteurella</i> spp., añadir 1 gota de suero estéril por ml de suspensión fisiológica
Inoculación tira	4 gotas a cada pocillo	4 gotas a cada pocillo	4 gotas a cada pocillo
Aplicación aceite	Pocillo 1 (lisina) Pocillo 2 (ornitina) Pocillo 3 (H ₂ S)	12B pocillo 8 (arabinosa) 24E pocillo 20 (arabinosa) 12B pocillo 12 (arginina) 24E pocillo 24 (arginina)	12B pocillo 12 (arginina) 24E pocillo 24 (arginina)
Temperatura incubación	35° ± 2°C	35° ± 2°C	35° ± 2°C (25°C para <i>Ps. fluorescens</i>)
Lectura test: Leer y registrar todos los resultados positivos	<u>Añadir reactivo:</u> Pocillo 8 – Indol = 2 gotas Kovacs, leer en 2 minutos Pocillo 10 – VP = 1 gota de cada, VPI y VPII, leer a los 15 – 30 minutos Pocillo 12 – TDA = 1 gota TDA, leer inmediatamente	<u>Añadir reactivo:</u> Ver 12A/12E Pocillo 1 (12B) Pocillo 13 (24E) Interpretar gelatina a las 24-48 horas Pocillo 12 (12B) Pocillo 24 (24E) Arginina Amarillo - Negativo Verde-azul - Positivo	<u>Añadir reactivo:</u> Ver 12A/12E Pocillo 1 (12B) Pocillo 13 (24E) Interpretar gelatina a las 48 horas Pocillo 12 (12B) Pocillo 24 (24E) Arginina Amarillo-verde - Negativo Azul - Positivo

PREPARACIÓN DEL INOCULO

Seleccionar 1-3 colonias aisladas a partir de un cultivo, de 18–24 horas y emulsionar en 2,5 ml de fisiológico estéril en caso de utilizar el sistema 12^a/E a solas, o bien 0.5 ml de fisiológico estéril en caso de utilizar 24E (12A/E y 12B). Mezclar bien para producir una suspensión homogénea.

Si el organismo se ha cultivado en medio selectivo y la colonia resultante es pequeña o se encuentra inhibida, podría ser necesario emulsionar la colonia en 0,5 ml de agua peptonada e incubar a 35° ± 2°C durante 4 horas. Empleando una pipeta Pasteur estéril, trasladar una gota del cultivo en agua peptonada al volumen apropiado (ver el esquema de procedimiento) de fisiológico estéril (0,85%).

INOCULACIÓN

Los pocillos de los kits de sustrato individuales pueden exponerse cortando la etiqueta terminal de la tira de sellado y retirándola lentamente.

Colocar la tira o placa en la bandeja de sujeción. Con una pipeta Pasteur estéril, colocar 4 gotas (aprox. 100 µl) de la suspensión bacteriana, o rellenar hasta la mitad, en cada pocillo del kit. Cuando se sospecha la presencia de *Actinobacillus* o *Pasteurella* sp. (ausencia de crecimiento en medios que contengan sales biliares o medios deficientes en sangre o suero), añadir una gota de suero estéril (SR0035) por ml de fisiológico.

Con una pipeta estéril o cuentagotas, cubrir los sustratos subrayados en la bandeja de sujeción con aceite mineral estéril, es decir, pocillos 1, 2 y 3 para 12A (12E) o 24E y pocillos 8 y 12 para 12B o pocillos 20 y 24 para 24E. (Los pocillos 8 para 12B y 20 para 24E no se cubren de aceite para bacilos gram-negativos, oxidasa-positivos diversos.)

INCUBACIÓN

Volver a sellar las hileras inoculadas con adhesivo y anotar el número de identificación de espécimen sobre la etiqueta terminal utilizando un rotulador. Incubar a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18-24 horas. Cuando *Ps. fluorescens* aparece como el organismo de elección, el test deberá repetirse a una temperatura de incubación de $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Para determinar la pureza del inóculo, se recomienda inocular un medio sólido no selectivo con la suspensión de prueba, a modo de ensayo de comprobación de pureza del cultivo.

LECTURA DE LA TIRA REACTIVA

1. La tira 12A (12E) deberá leerse a las 18-24 horas. La tira 12B/24E se lee a las 24 horas en el caso de evaluar *Enterobacteriaceae*. Todos los sistemas deben leerse después de 48 horas para la identificación de bacterias gram-negativas diversas.
2. Extraer las tiras o la bandeja de la incubadora, y retirar la cinta adhesiva sellante. Registrar todos los resultados positivos. Los resultados se definen como positivos o negativos estableciendo comparaciones con el esquema de color. Los resultados deben registrarse debajo del encabezamiento apropiado del formulario de resultados. La tabla de reacciones proporciona datos para facilitar la interpretación.

1. 12A (12E) o 24E

Añadir los siguientes reactivos:

Pocillo 8 (producción de indol) - añadir 2 gotas de reactivo indol (Kovacs). Evaluar a los 2 minutos de añadir el reactivo.

Pocillo 10 (reacción Voges-Proskauer) - añadir 1 gota de reactivo VPI y otra de VP II. Evaluar a los 15-30 minutos de añadir los reactivos.

Pocillo 12 (triptófano desaminasa) - añadir 1 gota de reactivo TDA. El resultado podrá evaluarse inmediatamente después de añadir el reactivo.

2. 12B/24E

El pocillo de gelatina (pocillo 1 para 12B y pocillo 13 para 24E) deberá leerse a las 24-48 horas para *Enterobacteriaceae* y a las 48 horas para diversas bacterias gram-negativas (DBGN). La hidrólisis de la gelatina viene indicada por la dispersión de las partículas negras por todo el pocillo.

La reacción de arginina (pocillo 12 para 12B y pocillo 24 de 24E) se interpreta de forma diferente a las 24 horas y 48 horas de incubación.

24 HORAS DE INCUBACIÓN (*Enterobacteriaceae*):

Amarillo - Negativo

Verde-azul - Positivo

48 HORAS DE INCUBACIÓN (DBGN):

Amarillo-verde - Negativo

Azul - Positivo

Prueba adicional

Test de reducción de nitrato (*o*-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG))

Esta prueba se realiza en el pocillo 7 (ONPG) **DESPUÉS** de leer la reacción ONPG. Se añade 1 gota de reactivo nitrato A y 1 gota de reactivo nitrato B al pocillo. La generación de un color rojo unos pocos minutos después de añadirse el reactivo indica la reducción de nitrato a nitrito (NO_2). Deberá añadirse una pequeña cantidad de polvo de zinc a los pocillos que presentan un color amarillo tras añadir los reactivos nitrato. Esto servirá para determinar si el nitrato se ha reducido completamente a gas nitrógeno (N_2). Los resultados deberán interpretarse de la siguiente manera:

Tras añadir los reactivos nitrato A y B:

Color rojo	Positivo	NO_2^+
Color amarillo	Negativo	NO_2^-

Al añadir polvo de zinc:

Color amarillo	Positivo	(N_2^+)
Color rojo	Negativo	(N_2^-)

Todos los organismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* reducen nitratos a nitritos, y dan una reacción positiva.

NOTA: Los bacilos gram-negativos que no reducen nitratos sólo pueden identificarse utilizando el sistema 24E (12A (12E) + 12B).

TABLA DE SUSTRATOS Y REACCIONES (12A/12E/24E):

No. pocillo	Designación	Principio reactivo	Colores reacción Negativo	Positivo	Comentarios
1	Lisina	Lisina descarboxilasa	Amarillo	Azul-verde	Verde o azul es una reacción positiva. El azul de bromotimol indica formación de la amina específica cadaverina.
2	Ornitina	Ornitina descarboxilasa	Amarillo-verde	Azul	Verde deberá considerarse una reacción negativa. El cambio de pH indicado por el azul de bromotimol producido por la formación de la amina específica putrescina es mayor que el cambio producido por descarboxilación de la lisina.
3	H ₂ S	Producción H ₂ S	Color paja	Negro	H ₂ S se produce a partir de tiosulfato. H ₂ S reacciona con sales férricas en el medio, para producir un precipitado negro.
4	Glucosa	Fermentación glucosa	Azul-verde	Amarillo	El indicador azul de bromotimol cambia de azul a amarillo cuando se utiliza el hidrato de carbono para generar ácido.
5	Manitol	Fermentación manitol	Azul-verde	Amarillo	
6	Xilosa	Fermentación xilosa	Azul-verde	Amarillo	
7	ONPG	Hidrólisis de <i>o</i> -nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG) por acción de β -galactosidasa	Incoloro	Amarillo	La hidrólisis por β -galactosidasa del ONPG incoloro libera <i>orto</i> -nitrofenol de color amarillo.
8	Indol	Producción indol a partir de triptófano	Incoloro	Rosa-rojo	Indol se forma a partir del metabolismo de triptófano. El reactivo indol Kovacs genera un complejo rosa-rojo con el indol.
9	Ureasa	Hidrólisis urea	Color paja	Rosa-rojo	El amoníaco liberado por la escisión de la urea induce un incremento del pH, reflejado por un viraje de rojo fenol de amarillo a rosa-rojo.
10	VP	Producción acetoina (reacción Voges-	Color paja	Rosa-rojo	La acetoina es producida por glucosa, indicada por la formación de un complejo rosa-rojo tras añadir α -naftol

		Proskauer)			y creatina.
11	Citrato	Utilización citrato (citrato es la única fuente de carbono)	Verde	Azul	El citrato es la única fuente de carbono; en caso de utilizarse, eleva el pH, indicado por el azul de bromotimol, con un viraje de verde a azul.
12	TDA	Producción de indolpiruvato por desaminación de triptófano	Color paja	Rojo cereza	La triptófano desaminasa forma ácido indolpirúvico a partir de triptófano, que genera un color marrón en presencia de iones férricos. Los organismos indol-positivos pueden producir un color marrón. Esto representa una reacción negativa.

TABLA DE SUSTRATOS Y REACCIONES (12B/24E):

No. pocillo 12B/24E.	Designación	Principio reactivo	Colores reacción Negativo	Positivo	Comentarios
1/13	Gelatina	Licuefacción gelatina	Incoloro	Negro	La licuefacción de la gelatina por enzimas proteolíticas difunde el pigmento negro. Partículas sólidas de gelatina que pueden difundirse por el pocillo tras la rehidratación deberán considerarse como una reacción negativa.
2/14	Malonato	Inhibición malonato	Verde	Azul	El malonato sódico es la única fuente de carbono y esto inhibe la conversión de ácido succínico a ácido fumárico. Un organismo incapaz de utilizar este sustrato da lugar a la acumulación de ácido succínico y el organismo no podrá crecer. El azul de bromotimol es el indicador. Un color amarillo-verde indica un resultado negativo. La utilización de malonato sódico a la vez que se utiliza el sulfato de amoníaco como fuente de nitrógeno genera hidróxido sódico, dando lugar a un aumento de la alcalinidad con la producción de un color azul.
3/15	Inositol	Fermentación inositol	Azul-verde	Amarillo	El indicador azul de bromotimol vira de azul a amarillo cuando se fermenta el hidrato de carbono.
4/16	Sorbitol	Fermentación sorbitol	Azul-verde	Amarillo	
5/17	Ramnosa	Fermentación ramnosa	Azul-verde	Amarillo	
6/18	Sacarosa	Fermentación sacarosa	Azul-verde	Amarillo	
7/19	Lactosa	Fermentación lactosa	Azul-verde	Amarillo	
8/20	Arabinosa	Fermentación arabinosa	Azul-verde	Amarillo	
9/21	Adonitol	Fermentación adonitol	Azul-verde	Amarillo	
10/22	Rafinosa	Fermentación rafinosa	Azul-verde	Amarillo	
11/23	Salicina	Fermentación salicina	Azul-verde	Amarillo	
12/24	Arginina	Arginina dihidrolasa 24 horas 48 horas	Amarillo Amarillo-verde	Verde-azul Azul	La arginina dihidrolasa convierte arginina en ornitina, amoníaco y dióxido de carbono. Esto a su vez eleva el pH, indicado por el azul de bromotimol. Una reacción verde a las 48 horas deberá interpretarse como un resultado negativo.

INTERPRETACIÓN

Se ha aplicado un sistema de codificación octal para el sistema **Microbact™**.¹ Cada grupo de 3 reacciones genera un único dígito del código. En base a los resultados obtenidos, se marca con un círculo los índices de reacciones positivas. La suma de estos índices en cada grupo de tres reacciones proporciona el número de código, que a su vez es introducido en el paquete informatizado.

PAQUETE DE IDENTIFICACIÓN INFORMATIZADO

El Paquete de Identificación Informatizado **Microbact™** deberá consultarse para comprobar las opciones de identificación. La cifra porcentual indicada frente al nombre del organismo representa la proporción de probabilidad para dicho organismo, como parte del total de probabilidades para todas las opciones posibles.

Nota: En el caso de bacilos gram-negativos diversos, las reacciones débilmente positivas se registran como resultados negativos. Los resultados de las pruebas de oxidasa, reducción de nitrato y motilidad se incluyen como parte del patrón de reacción. A partir de los resultados obtenidos, se produce un número código de 9 (nueve) dígitos de cada grupo de tres reacciones.

CONTROL DE CALIDAD

Las prestaciones globales del sistema deberán controlarse mediante el ensayo de cepas control apropiadas. Se recomiendan los siguientes organismos para la evaluación por un laboratorio independiente.

Proteus mirabilis ATCC 12453

Escherichia coli ATCC 25922

Klebsiella pneumoniae ATCC 13883

Acinetobacter baumannii ATCC 19606

El esquema siguiente proporciona los resultados esperados con el sistema Microbact tras 18-24 horas de incubación:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	12E/A/24E												24E/12B													
	L	O	H	G	M	X	O	I	U	V	C	T	N	G	M	I	S	R	S	L	A	A	R	S	A	
	Y	R	2	L	A	Y	N	N	R	P	I	D	I	E	A	N	O	H	U	A	R	D	A	A	R	
	S	N	S	U	N	L	P	D	E			T	A	T	L	L	O	R	A	C	C	A	O	F	L	G
<i>Esch. coli</i> ATCC 25922	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	
<i>Kleb. pneumo</i> ATCC 13883	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
<i>Prot. mirabilis</i> ATCC 12453	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Acineto. baumannii</i> ATCC 19606	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	

Nota 1: *Serratia marcescens* (ATCC 43861) puede emplearse como control de calidad suplementaria para comprobar la sensibilidad de la reacción GEL. El resultado esperado es positivo.

Nota 2: *Flavobacterium multivorum* (ATCC 35656) puede emplearse para mostrar un resultado negativo para la glucosa.

LIMITACIONES

1. Algunas cepas bacterianas pueden mostrar reacciones bioquímicas atípicas debido a requerimientos nutricionales inusuales o mutaciones, y pueden ser difíciles de identificar.
2. Las reacciones obtenidas con el sistema **Microbact™** pueden diferir de los resultados publicados empleando otras formulaciones de sustrato. Una incubación prolongada, incubación insuficiente, el llenado deficiente de pocillos, o un inóculo indebido pueden general resultados falsos.
3. Las especies con una baja frecuencia de presentación pueden necesitar de otras pruebas adicionales.
4. *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus* incluirán aquellas cepas que han sido designadas como *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, y genoespecie 3 sin nombre; la mayoría de los aislados clínicos que resultan glucosa-positivos y no hemolíticos corresponden a *A. baumannii*.
5. La interpretación de resultados de identificación calculados matemáticamente requiere la intervención de personas cualificadas, que deberán utilizar su juicio y conocimiento en conjunto con la siguiente información, antes de aceptar la identificación de un organismo: tinción gram, morfología de colonias, fuente del aislado, probabilidad porcentual (grado de separación), pruebas en contra, indicaciones de prueba y resultados adicionales, frecuencia de elección ID y antibiograma.
6. Deberá realizarse una prueba de tinción gram y de oxidasa antes del montaje de los tests. Además, los ensayos de motilidad y nitrato deberán realizarse en el caso de bacterias gram-negativas diversas.
7. Al utilizar solamente la tira 12E/A, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. y *Serratia* sp. deberán ser informados como grupo *Klebsiella/Enterobacter/Serratia*. Doce sustratos aportan datos insuficientes para concretar especies dentro de este grupo, debido a que una sola reacción aberrante puede dar pie a una identificación errónea. Las reacciones de lisina y ornitina descarboxilasa deberán interpretarse con cuidado. Se recomiendan pruebas de motilidad y de DNasa para definir mejor la especie en este grupo. La inclusión de una tira 12B resulta muy recomendable.
8. En caso de necesitar una mayor especificación de *Yersinia* sp. (es decir, correspondiente a especies aparte de *Yersinia enterocolitica* y *Yersinia pseudotuberculosis*), deberán realizarse pruebas adicionales.

Prestaciones

Se han identificado un total de 352 aislados de Enterobacteriaceae mediante una gama de metodologías convencionales compuestas por distintas pruebas bioquímicas (Cowan & Steel, 1977). Estos organismos se aislaron a partir de muestras de laboratorio clínico rutinarias.

Estos aislados también se identificaron mediante el Microbact 12E, 24E y otro sistema de identificación comercial, con comparación de los resultados (1).

BIBLIOGRAFÍA

1. Identification of Bacteria by Computer: General Aspects and Perspectives. Lapage, S.P., et al (1973) J. Gen. Microbiology. **77**, 273.
2. Comparison of Microbact 12E, API 20E and Conventional Media Systems for the Identification of *Enterobacteriaceae*. Mugg, P.A., (1979) The Australian Journal of Med. Tech. **10**, 37-41.

3. Comparison of Microbact 12E and 24E systems and the API 20E systems for the Identification of *Enterobacteriaceae*. Mugg, P.A. and Hill, A., (1981) *J. Hyg. Camb.* **87**, 287.
4. Biochemical Identification of New Species and Biogroups of *Enterobacteriaceae* Isolated from Clinical Specimens. Farmer, J.J., et al, (Jan. 1985) *J. Clin. Micro.*, **21** No. 1, 46-76.
5. Evaluation of the API20E and Microbact 24E Systems for the Evaluation of *Pseudomonas pseudomallei*. A.D. Thomas, (1983) *Veterinary Microbiology.* **8**, 611-615.
6. Biochemical Characteristics of Enterotoxigenic *Aeromonas* sp. V. Burke, J. Robinson, H.M. Atkinson, and M. Gracey, (Jan. 1982) *Journal of Clinical Microbiology.* **48**-52.
7. Comparison of five commercial methods for the Identification of Non-fermentative and Oxidase Positive Fermentative Gram-Negative Bacilli. Bilkey, Mary K., et al., (1988) *N.Z.J. Med. Lab Technol.*, 8-12,
8. S.T. Cowen, K.J. Steel (1977) *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, 2nd Edition Cambridge University Press.
9. A. Balows, W.J. Hausler, K.L. Herrmann, J.D. Isengerg, H. Jean Shadomy (eds). (1991) *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Edition, American Society of Microbiology, Washington, D.C.