

BD BBL Enterotube II

USO PREVISTO

BBL Enterotube II es un sistema de identificación listo para usar que se emplea en la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gram negativos con resultado negativo a la oxidasa.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

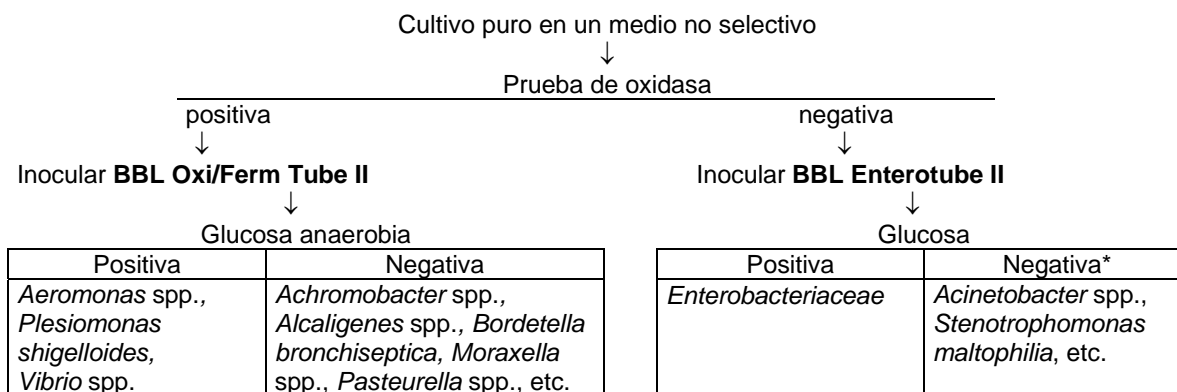
Método microbiológico.

Enterobacteriaceae desempeñan un papel muy importante como agentes infecciosos. Este grupo de bacterias utiliza los carbohidratos principalmente por fermentación y oxidación. Presentan resultado positivo a la catalasa y casi todos son negativos a la oxidasa [se ha propuesto recientemente incluir *Plesiomonas shigelloides* en el grupo *Enterobacteriaceae* basándose en la secuencia 16S rRNA y porque contiene el antígeno común enterobacteriano^{1,2}. Anteriormente, este organismo que es positivo a la oxidasa, se incluía en la familia *Vibrionaceae*]. La identificación de *Enterobacteriaceae* se basa en las reacciones bioquímicas según lo descrito por Ewing y Farmer. Consultar las referencias para obtener los detalles¹⁻¹¹.

Si bien se ha descrito durante años una amplia variedad de géneros y especies, los organismos aislados de muestras clínicas pertenecen a 20 – 25 especies muy conocidas desde hace muchos años¹.

BBL Enterotube II es un tubo de plástico integrado con compartimientos formado por 12 medios diferentes que permiten la determinación de 15 reacciones bioquímicas (glucosa, producción de gas a partir de glucosa, descarboxilasa de lisina, descarboxilasa de ornitina, H₂S, indol, adonitol, lactosa, arabinosa, sorbitol, Voges-Proskauer (VP), dulcitol, desaminasa de fenilalanina (PA), urea y citrato). La guía de inoculación adjunta permite la inoculación de todos los compartimientos en un solo paso desde una a varias colonias individuales de un aislado. La combinación de reacciones resultante, junto con la guía de interpretación (libro de códigos), permite la identificación de la *Enterobacteriaceae* con importancia clínica.

La guía de interpretación (libro de códigos) para **BBL Enterotube II** fue creada con los datos de porcentajes incluidos en las referencias para las pruebas bioquímicas realizadas con **BBL Enterotube II**³⁻¹¹. El bloc de resultados y el gráfico de reacciones de colores permiten una identificación rápida de las reacciones obtenidas con **BBL Enterotube II**. Se obtiene un total de los números positivos comprobados y luego se sitúa el número compuesto en la guía de interpretación. Donde se enumeren dos o más organismos, también se indican las pruebas de confirmación necesarias para su identificación adicional. En el siguiente diagrama de flujo se demuestra cómo puede utilizarse la prueba de oxidasa para discriminar los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* de las bacterias gram negativas no fermentadoras, con resultado positivo o negativo a la oxidasa, y fermentadoras positivas a la oxidasa y cuándo debe utilizarse **BBL Enterotube II** o **BBL Oxi/Ferm Tube II**:



* Estas especies pueden ser identificadas con el sistema **BBL Enterotube II**, pero puede ser necesario el uso de **BBL Oxi/Ferm Tube II** para su confirmación.

REACTIVOS

BBL Enterotube II

Sustratos, otros ingredientes activos y coloración de medios sin inocular:

- **Medio 1 (Gucosa):** Glucosa (20,0 g/L) contenida en un medio base apropiado, con rojo cresol como indicador de pH. El medio está cubierto con cera para proporcionar condiciones anaerobias y permitir la detección de la formación de gas. Sin inocular: red.
- **Medio 2 (Lisina):** Lisina (10,0 g/L) contenida en un medio de base apropiado, con púrpura de bromocresol como indicador de pH. El medio está cubierto con cera para proporcionar condiciones anaerobias. Sin inocular: amarillo
- **Medio 3 (Ornitina):** Ornitina (10,0 g/L) contenida en un medio de base apropiado, con púrpura de bromocresol como indicador de pH. El medio está cubierto con cera para proporcionar condiciones anaerobias. Sin inocular: amarillo
- **Medio 4 (H₂S/indol):** Tiosulfato de sodio (4,7 g/L), citrato férrico amónico (0,6 g/L), y triptófano (1,2 g/L) en un medio de base apropiado. Sin inocular: De beige a ámbar claro.
- **Medio 5 (Adonitol):** Adonitol (20,0 g/L) contenido en un medio de base apropiado, con rojo cresol como indicador de pH. Sin inocular: rojo.
- **Medio 6 (Lactosa):** Lactosa (20,0 g/L) contenida en un medio de base apropiado, con rojo cresol como indicador de pH. Sin inocular: rojo.
- **Medio 7 (Arabinosa):** Arabinosa (20,0 g/L) contenida en un medio de base apropiado, con rojo cresol como indicador de pH. Sin inocular: rojo.
- **Medio 8 (Sorbitol):** Sorbitol (20,0 g/L) contenido en un medio de base apropiado, con rojo cresol como indicador de pH. Sin inocular: rojo.
- **Medio 9 (Voges-Proskauer):** Glucosa (20,0 g/L) contenida en un medio de base apropiado. Sin inocular: de incoloro a ámbar claro.
- **Medio 10 (Dulcitol/PA):** Dulcitol (20,0 g/L), fenilalanina (7,0 g/L) y citrato férrico amónico (0,5 g/L) contenidos en un medio de base apropiado, como azul de bromotimol como indicador de pH. Sin inocular: verde.
- **Medio 11 (Urea):** Urea (20,0 g/L) contenida en un medio de base apropiado, con rojo fenol como indicador de pH. Sin inocular: de incoloro a ámbar claro.
- **Medio 12 (Citrato):** Citrato de sodio (2,0 g/L) contenido en un medio de base apropiado, con azul de bromotimol como indicador de pH. Sin inocular: verde.

PRECAUCIONES

IVD. Solamente para uso profesional.

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, desprendimiento de cera de los medios respectivos, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Cualquiera de las siguientes condiciones puede interferir con la exactitud de **BBL Enterotube II**: deshidratación o licuación, desprendimiento de la cera de las superficies de los medios, cualquier cambio de los colores de los medios con respecto a los indicados en "Sin inocular" en la sección **REACTIVOS**, y cualquier indicación de crecimiento en las superficies de los medios.

Las siguientes precauciones conciernen a los procedimientos individuales indicados:

- **Glucosa:** La capa de glucosa en este compartimiento produce un nivel de anaerobiosis necesario para permitir solamente la reacción de fermentación verdadera que es característica de todas las *Enterobacteriaceae*. Si este medio permanece de color rojo después de la inoculación e incubación, la cepa no pertenece a *Enterobacteriaceae*. Un ejemplo de organismos diferentes de *Enterobacteriaceae* con resultado negativo a la oxidasa que no fermentan glucosa en condiciones anaerobias **BBL Enterotube II** son las especies de *Acinetobacter* negativas a la glucosa. Aunque estos organismos pueden diferenciarse de *Enterobacteriaceae* mediante **BBL Enterotube II** (en la guía de interpretación, utilizar la base de datos para los no fermentadores negativos a la oxidasa), puede ser necesario el uso de **BBL Oxi/Ferm Tube II** para una identificación adicional.
- **Fenilalanina (PA):** El medio puede adquirir un tono más intenso de verde después de la incubación. Esto demuestra un resultado negativo.

Advertencia: Observar las instrucciones de manipulación y las indicaciones sobre seguridad y riesgo, al preparar y manipular los reactivos de indol y VP.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir **BBL Enterotube II**, almacenarlo en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Los tubos pueden inocularse hasta la fecha de caducidad e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Los tubos de envases abiertos pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad. Los tubos abiertos deben utilizarse inmediatamente.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular **BBL Enterotube II** con las cepas mencionadas a continuación. Para inoculación, incubación y lectura, seguir los pasos descritos en **Procedimiento de análisis**.

ORGANISMOS	Glucosa	Gas	Lisina	Ornitina	H ₂ S	Indol	Adonitol	Lactosa	Arabinosa	Sorbitol	VP	Dulcitol	Fenilalanina	Urea	Citrato	Biocódigos aceptables
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	+	+/-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+/-	66007 / 66006 / 46007
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6380	+/(+)	+/-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	63007 / 43007
<i>Providencia alcalifaciens</i> ATCC 9886	+	+/-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-/+	61404 / 41405 / 41404 / 61405
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	+	+/-	+	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-	-	-	+	74461 / 54461 / 74061 / 54061
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+/-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	75340 / 55340
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 27736	+	+/-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-/+	+	50771 / 70771 / 70773 / 50773
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	-/(+)	+	*

* *P. aeruginosa* es positiva a la oxidasa y por lo tanto no se incluye en la base de datos **BBL Enterotube II**. Sin embargo, esta cepa es útil como organismo de control para detectar las reacciones negativas en los compartimientos de glucosa y de gas.

+ = positivo; - = negativo; (+) débilmente positivo; +/- = positivo o (raramente) negativo; +/(+) = positivo o (raramente) débilmente positivo; -/+ = negativo o (raramente) positivo.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BBL Enterotube II. Con control microbiológico.

Bloc de resultados y gráfico de reacciones de colores para **BBL Enterotube II**.

Materiales no suministrados

BBL Enterotube II Interpretation Guide (codebook), N° de documento CM-273176.CE, dividido en tres bases de datos: (1) Organismos no fermentadores negativos a la oxidasa, (2) *Enterobacteriaceae* – método sin VP, y (3) *Enterobacteriaceae* – método sin VP.

Reactivo de Kovacs para indol (Indole Dropper Reagent, 50 ampollas, n° de cat. 261185) y reactivos de Voges-Proskauer (Voges-Proskauer A Dropper Reagent, 50 ampollas, n° de cat. 261192; Voges-Proskauer B Dropper Reagent, n° de cat. 261193). Dichos reactivos están disponibles de BD.

Materiales y reactivos para realizar las pruebas complementarias según lo mencionado en la guía de interpretación de **BBL Enterotube II**.

BBL Oxi/Ferm II identification system (N° de cat. 212116) para la identificación de organismos diferentes de *Enterobacteriaceae*.

Medios de cultivo auxiliares, reactivos y equipo de laboratorio que se requiera.

El reactivo Kovacs puede prepararse en el laboratorio de la manera siguiente.

Alcohol amil o isoamil	75 mL
p-Dimetilaminobenzaldehído	5 g
Acido clorhídrico, concentrado	25 mL

Disolver p- dimetilaminobenzaldehído (el reactivo debe ser de color amarillo claro) en alcohol y luego añadir lentamente el ácido. El reactivo preparado debe tener un color amarillo paja y se debe almacenar

en un frasco de color marrón y refrigerarse para mantener una máxima estabilidad. Cualquier reactivo con color marrón oscuro no debe utilizarse.

Los reactivos Voges-Proskauer pueden ser preparados de la manera siguiente:

Solución alfa-naftol al 5%

Alfa-naftol	5 g
Etanol (alcohol etílico), puro	100 mL

Solución de hidróxido de potasio al 20%

Agua	100 mL
Hidróxido de potasio (sedimento)	20 g
Creatina	300 mg

Después de la preparación, los reactivos Voges-Proskauer son estables en frascos cerrados herméticamente durante dos semanas a una temperatura de 2 – 8 °C en un lugar oscuro.

Tipos de muestras

BBL Enterotube II es un sistema de identificación bioquímica y **no** debe utilizarse directamente con muestras clínicas. Utilizar aislados a partir de los medios apropiados (véase **Procedimiento de análisis**).

BBL Enterotube II puede ser utilizado para identificar bacilos gram negativos anaerobios facultativos y anaerobios (*Enterobacteriaceae*) aislados de cualquier muestra.

Procedimiento de análisis

Para la inoculación de **BBL Enterotube II**, se puede utilizar crecimiento de agar MacConkey (MAC), agar Eosina Azul de Metileno (EMB), agar Salmonella Shigella (SS) o agar Hektoen Entérico (HE), o medios de agar sangre no selectivos. El cultivo utilizado para la inoculación debe tener por lo menos 18 h, pero en general no más de 48 h. Es necesario asegurarse de que la cepa aislada que debe identificarse con **BBL Enterotube II** proceda de un cultivo puro de un bacilo gram negativo. **BBL Enterotube II** se puede utilizar sólo en colonias con resultados negativos a la oxidasa, ya que los organismos positivos a la oxidasa (diferentes de *Enterobacteriaceae*) requieren el uso de **BBL Oxi/Ferm Tube II** para su identificación.

1. Preparar una hoja del bloc de códigos para el aislado con el nombre del paciente, el número de muestra y la fecha.
Nota: El usuario puede decidir si desea utilizar la base de datos con o sin VP. Según esta decisión, utilizar el anverso o el reverso del bloc de códigos. Si se selecciona la base de datos sin VP, tal vez sea necesario realizar la reacción de VP como prueba complementaria para los organismos seleccionados.
2. Tomar un tubo **BBL Enterotube II** y escribir en la etiqueta el nombre del paciente, el número de muestra y la fecha.
3. Retirar las dos tapas. La punta de la guía de inoculación se encuentra debajo de la tapa blanca. No someter al calor la guía.
4. Seleccionar una colonia bien aislada directamente de la punta de la guía de inoculación **BBL Enterotube II (Figura 1)**. Se debe observar una cantidad visible de inóculo en la punta y en el costado de la guía. No tocar el agar con la guía. Utilizar uno o más **BBL Enterotube II** para seleccionar colonias adicionales según lo que se requiera en la práctica.
5. Inocular **BBL Enterotube II** primero retorciendo la guía y luego retirando la guía por todos los compartimientos y aplicando un movimiento giratorio (**Figura 2**).
6. Volver a insertar la guía (sin esterilizar) en **BBL Enterotube II**, utilizando un movimiento giratorio en todos los compartimientos, hasta que la muesca de la guía se alinee con la abertura del tubo (**Figura 3**). La punta de la guía debe estar visible en el compartimiento de citrato. Cortar la guía en la muesca mediante torsión. La parte de la guía restante en el tubo mantiene las condiciones anaerobias necesarias para una verdadera fermentación de la glucosa, la producción de gas y la descarboxilación de lisina y ornitina.
7. Con la parte restante de la guía, hacer orificios a través del papel metalizado que cubre las entradas de aire de los últimos ocho compartimientos (adonitol, lactosa, arabinosa, sorbitol, Voges-Proskauer, dulcitol/PA, urea y citrato) para favorecer el crecimiento aerobio en estos compartimientos (**Figura 4**). Volver a colocar las tapas.
8. Incubar a 35 o 37 °C durante 18 - 24 h con **BBL Enterotube II** sobre una superficie plana o en posición vertical. Permitir la circulación de aire entre los tubos incubados.
9. Efectuar la interpretación y registrar todas las reacciones con excepción de indol y Voges-Proskauer (consultar la sección **Resultados** para obtener las instrucciones completas acerca de cómo efectuar la lectura de resultados de **BBL Enterotube II**). Se debe efectuar la lectura de todas las demás

pruebas antes de realizar las pruebas de indol y Voges-Proskauer, puesto que los reactivos añadidos a estas pruebas pueden alterar las demás reacciones de **BBL Enterotube II**.

Adición de los reactivos **indol y Voges-Proskauer**:

1. Coloque **BBL Enterotube II** de forma horizontal en el banco de trabajo o vertical en una gradilla con el compartimiento de glucosa hacia abajo. Mediante una aguja o el extremo cortado de una guía de inoculación **BBL Enterotube II**, o derritiendo con una guía de inoculación caliente, perforo o derrita un orificio de aproximadamente 3–4 mm de diámetro en la película de plástico por encima de los compartimentos de indol/H₂S y VP.

2. Para realizar la prueba de indol: Añada 3-4 gotas de reactivo de Kovacs (nº de cat. 261185 o preparado en laboratorio; consultar la sección **Materiales no suministrados**) al compartimento H₂S/indol y añada reactivo al compartimento. Permita que el reactivo contacte con la superficie del medio. Una prueba positiva se indica por la aparición de color rojo en el reactivo añadido al cabo de 10 segundos.

3. Para realizar la prueba de Voges-Proskauer: Esta prueba es obligatoria si se selecciona la base de datos con VP. También puede ser necesario realizar esta prueba si se requiere como prueba de confirmación al utilizar la base de datos sin VP.

Al utilizar los reactivos preparados en laboratorio (consultar la sección **Materiales no suministrados**), añadir dos gotas de solución de hidróxido de potasio al 20% con 0,3% de creatina y tres gotas de alfa-naftol al 5% en alcohol etílico puro. Una prueba positiva se indica por la aparición de un color rojo a los 20 min. No espere más de 20 minutos para leer los resultados.

Al utilizar reactivos Dropper, añadir 3 a 5 gotas de reactivo A de Voges-Proskauer (nº de cat. 261192) y de 1 a 2 gotas de reactivo B de Voges-Proskauer (nº de cat. 261193). Una reacción positiva se indica por el cambio del color a un rojo cereza en 5–15 minutos. Una decoloración de color cobre o marrón se interpreta como reacción negativa. No espere más de 15 minutos para leer los resultados.

Resultados

Seguir las instrucciones suministradas a continuación para identificar el aislado. En la Tabla 1 se suministra información acerca del aspecto de las reacciones positivas y negativas.

Nota: Si no se registra cambio de color o se observa un color naranja en el compartimento de glucosa y el crecimiento es evidente por los cambios de color en otros compartimentos, el organismo no es miembro de la familia *Enterobacteriaceae*. (Véase la sección **PRECAUCIONES**).

1. Después de 18 – 24 h de incubación, efectuar la interpretación de todas las reacciones. Con excepción de indol y VP, efectuar la lectura de las reacciones de manera secuencial, comparando los colores de los medios en el tubo después de la incubación con aquellos que se suministran en el esquema de colores en la cubierta del bloc de códigos y (finalmente) con un **BBL Enterotube II** sin inocular que debe encontrarse primero a temperatura ambiente (**Figura 5**). Todas las reacciones que deben ser positivas pueden ser de igual, mayor o menor intensidad que los colores indicados en el gráfico de reacciones de colores.
2. Indicar cada resultado de prueba positivo marcando con un círculo el número que aparece debajo del compartimento apropiado en el bloc de resultados (**Figura 6**).
3. Finalmente, realizar las pruebas de indol y VP. En caso de resultado positivo, marcar con un círculo los números apropiados en la hoja preparada. Las pruebas de VP son obligatorias sólo si se utiliza la base de datos con VP.
4. Sumar los números marcados con un círculo en la sección entre corchetes e ingresar la suma en el espacio suministrado debajo de las flecha (**Figura 6**).
5. Buscar el número de cinco dígitos en la guía de interpretación (libro de códigos) y encontrar la o las mejores respuestas en la columna denominada "ID Value" (valor de ID). Asegurarse de utilizar la base de datos correcta [(1) No fermentadores negativos a la oxidasa (2) *Enterobacteriaceae* – método sin VP y (3) *Enterobacteriaceae* – método con VP]. En el ejemplo mostrado en la Figura 6, se obtiene la identificación de *Klebsiella pneumoniae*.

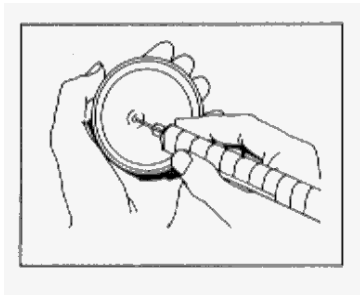


Figura 1

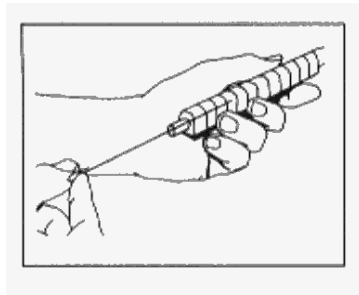


Figura 2

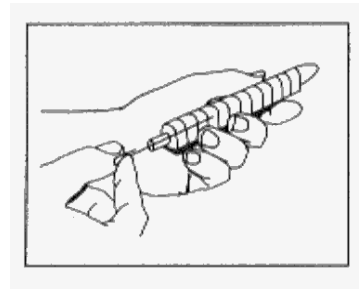


Figura 3

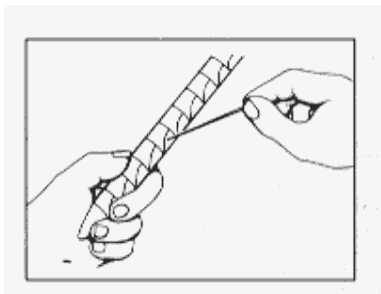


Figura 4

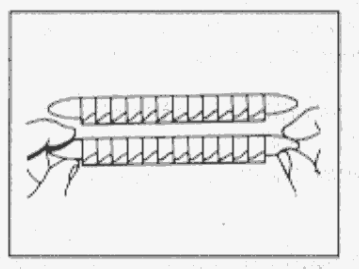
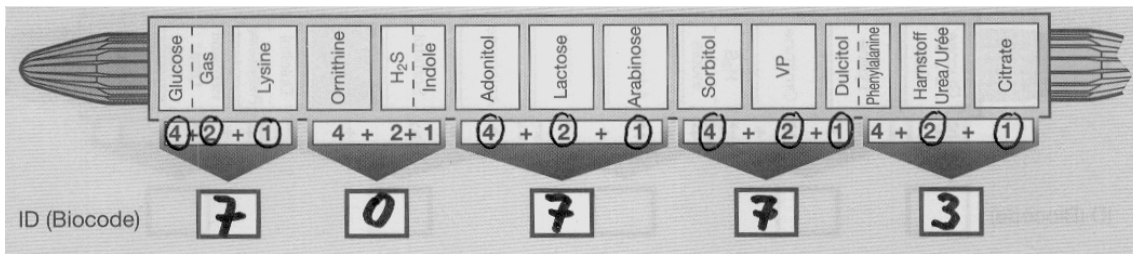
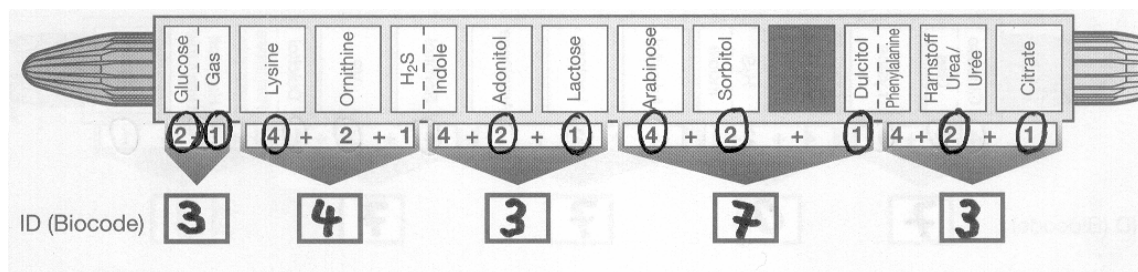


Figura 5



(A)



(B)

Figura 6: BBL Enterotube Bloc de resultados (A= base de datos con VP; B= base de datos sin VP)

Tabla 1: Aspecto de las reacciones negativas y positivos en BBL Enterotube II

REACCIONES			COMENTARIOS
Reactivos	Negativa	Positiva	
COMPARTIMIENTO 1			
Glucosa	rojo (a naranja)	amarillo (a dorado)	Glucosa (GLU): Los productos finales de la fermentación bacteriana de la glucosa son ácido o ácido y gas. La variación de pH debida a la producción de ácido se indica por el cambio en el color del indicador en el medio de rojo (alcalino) a amarillo (ácido). Cualquier tono de amarillo debe interpretarse como reacción positiva; el color naranja debe considerarse negativa.
Producción de gas	sin desprendimiento de cera	con desprendimiento de cera	Producción de gas (GAS): Se demuestra por la separación definida y completa de la capa de cera de la superficie del medio de glucosa, pero no mediante burbujas en el medio. Dado que la cantidad de gas producida por las diferentes bacterias es variable, la separación entre el medio y la capa también puede variar con la cepa que se analice.
COMPARTIMIENTO 2			
Lisina	amarillo	morado	Descarboxilasa de lisina (LYS): La descarboxilación bacteriana de la lisina, que da como resultado la formación de cadaverina, producto final alcalino, se indica mediante el cambio de color del indicador en el medio de amarillo pálido (ácido) a morado (alcalina). El medio permanece de color amarillo si no se produce la descarboxilación de la lisina.
COMPARTIMIENTO 3			
Ornitina	amarillo	morado	Descarboxilasa de ornitina (ORN): La descarboxilación de ornitina, que da como resultado la formación de putrecina, producto final alcalino, se indica mediante el cambio del color del indicador en el medio de amarillo pálido (ácido) a morado (alcalino). El medio permanece amarillo si no se produce la descarboxilación de la ornitina.
COMPARTIMIENTO 4			
H ₂ S	de beige a ámbar claro.	negro	Producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S): El sulfuro de hidrógeno lo producen las bacterias capaces de reducir los compuestos con azufre, como las peptonas y el tiosulfato de sodio presentes en el medio. El sulfuro de hidrógeno reacciona con las sales férricas también presentes en el medio para formar un precipitado negro de sulfuro férrico generalmente a lo largo de la línea de inoculación. Algunas cepas de <i>Providencia</i> pueden producir una coloración marrón difusa en este medio, sin embargo, esto no debe confundirse con la verdadera producción de H ₂ S, es decir la presencia de color negro. Nota: El precipitado negro se puede difuminar o volverse negativo si se efectúa la lectura de BBL Enterotube II después de 24 h de incubación.
Formación de indol	incolore	rojo rosa	Formación de indol (IND): La producción de indol mediante el metabolismo de triptófano, por parte de la enzima bacteriana triptofanasa, se detecta por la aparición de un color entre rosa y rojo después de añadir el reactivo de indol Kovacs, que se inyecta en el compartimiento después de 18–24 h de incubación del tubo (consultar Procedimiento de análisis)
COMPARTIMIENTOS 5,6,7,8			
Adonitol Lactosa Arabinosa Sorbitol	rojo (a naranja)	amarillo (a dorado)	Adonitol (ADON), Lactosa (LAC), Arabinosa (ARAB), Sorbitol (SORB): La fermentación bacteriana de adonitol, lactosa, arabinosa y sorbitol da como resultado la formación de productos finales ácidos y se indica mediante el cambio de color del indicador presente en el medio de rojo (alcalino) a amarillo (ácido). Cualquier tono de amarillo debe interpretarse como reacción positiva, el color naranja debe interpretarse como resultado negativo.
COMPARTIMIENTO 9			
Voges-Proskauer	de incolore a ámbar claro	rojo	Voges-Proskauer (VP): El acetilmetilcarbinol (acetoína) es un producto intermedio en la producción de butilenglicol a partir de la fermentación de glucosa. La producción de acetoína se detecta tras la adición de reactivos VP después de la incubación (consultar la sección Procedimiento de análisis). La presencia de acetoína se indica mediante el desarrollo de color rojo al cabo de 5 a 20 minutos.

REACCIONES			COMENTARIOS
Reactivos	Negativa	Positiva	
COMPARTIMIENTO 10			
Dulcitol	verde	amarillo (a dorado)	Dulcitol (DUL): La fermentación bacteriana de dulcitol, que da como resultado la formación de productos finales ácidos, se indica por el cambio de color del indicador presente en el medio de verde (alcalino) a amarillo (ácido).
PA	cualquier tono de verde	de negro a gris oscuro	Fenilalanina desaminasa (PA): Esta prueba detecta la formación de ácido pirúvico a partir de la desaminación de fenilalanina. El ácido pirúvico formado reacciona con una sal férrica presente en el medio para producir un color negro a gris oscuro característico. No es necesario agregar cloruro férrico, dado que el medio ya contiene una sal férrica.
COMPARTIMIENTO 11			
Urea	de incoloro a ámbar claro.	rosa claro a rosa	Urea (UREA): La ureasa, una enzima presente en numerosos microorganismos, hidroliza la urea en amoníaco, lo que causa el cambio de color del indicador en el medio de amarillo (ácido) a morado (alcalino). La prueba de ureasa es fuertemente positiva para las especies de <i>Proteus</i> y puede ser evidente ya a las 4 – 6 h después de la incubación; es débilmente positiva (color rosa claro) después de 18 – 24 h de incubación para las especies <i>Klebsiellas</i> y <i>Enterobacter</i> .
COMPARTIMIENTO 12			
Citrato	verde.	azul	Citrato (CIT): Esta prueba detecta los organismos capaces de utilizar citrato, en forma de sal sódica, como la única fuente de carbono. Los organismos capaces de utilizar el citrato producen metabolitos alcalinos que cambian de color el indicador de verde (ácido) a azul intenso (alcalino). Cualquier tono de azul debe considerarse como reacción positiva. NOTA: Determinados microorganismos no siempre producen el cambio de color positivo "intenso" ideal. Los tonos más claros del mismo color básico deben considerarse positivos.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BBL Enterotube II está diseñado específicamente para identificar bacilos gram negativos con resultado negativo a la oxidasa y deben utilizarse solamente para identificar los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Un número limitado de organismos no fermentadores negativos a la oxidasa también pueden ser identificados con el sistema, pero se recomienda el uso de **BBL Oxi/Ferm Tube II** para dichos organismos.

Características de rendimiento

BBL Enterotube II se ha evaluado en varios estudios externos. Los datos publicados indican una exactitud de identificación de 87 – 99%¹²⁻¹⁴.

Reproducibilidad: Se analizó un total de diez organismos, en duplicado, durante tres días en tres laboratorios independientes con **BBL Enterotube II**. Tres de los organismos (30%) mostraron biocódigos idénticos con cada duplicado en cada laboratorio de análisis. Cinco de los organismos (50%) mostraron variaciones leves en los biocódigos pero dieron identificación idéntica de organismos con cada duplicado. Dos de los organismos (20%) mostraron leves variaciones en los biocódigos con identificación idéntica con 2 de los 18 duplicados para dichos organismos con biocódigos no identificables. De todos los duplicados, la concordancia en la identificación fue del 98,9%.

Un estudio de 247 cepas previamente identificadas (incluidos los cultivos ATCC conocidos) fueron analizadas con el sistema de identificación **BBL Enterotube II**. En la inoculación inicial, nueve organismos mostraron discrepancias bioquímicas. En la nueva inoculación, ocho de estas cepas discrepantes se resolvieron. En cinco casos el resultado resuelto fue equivalente al resultado inicial del método de referencia. En tres casos la prueba resuelta fue equivalente al resultado inicial de **BBL Enterotube II**. En un caso, el resultado resuelto fue diferente de los resultados iniciales. La prueba bioquímica discrepante se resolvió por medio del tercer método que dio un resultado similar que el **BBL Enterotube II**.

Las muestras del estudio se resumen en la Tabla 2. Se suministra una lista de géneros, especies, número de cepas analizadas y el porcentaje de organismos con reacciones bioquímicas positivas.

Limitaciones del Procedimiento

BBL Enterotube II está diseñado para los taxones suministrados. Los taxones diferentes de los enumerados en la Tabla 3 no deben ser utilizados con este sistema.

Los biocódigos de **BBL Enterotube II** no pueden ser utilizados para establecer la identidad del fenotipo entre los aislados de una misma muestra o muestras diferentes.

Los resultados bioquímicos obtenidos con **BBL Enterotube II** pueden ser diferentes de los obtenidos con otros métodos y publicados en otros materiales.

Se requieren pruebas serológicas para confirmar las especies de *Salmonella* y *Shigella* spp. Los aislados de dichos organismos deben ser enviados a los laboratorios de referencia apropiados para completar la determinación de serotipos y el control epidemiológico.

La identificación de las bacterias gram negativas debe ser realizada teniendo en cuenta características adicionales tales como origen de la muestra, historial del paciente, morfología microscópica, serología y patrones antimicrobianos.

La identificación de los aislados raros debe repetirse o se deben realizar pruebas adicionales para verificar la identificación de dichos organismos.

Algunas cepas de organismos pueden mostrar reacciones bioquímicas atípicas debido a requisitos nutritivos infrecuentes o mutaciones, lo que puede presentar dificultades para la identificación.

Algunos organismos pueden requerir más de 24 h de incubación para una identificación apropiada.

Aunque se ha propuesto recientemente incluir *Plesiomonas shigelloides* en la familia *Enterobacteriaceae*, esta especie no se incluye en las bases de datos **BBL Enterotube II**^{1,2}. En cambio, este organismo debe analizarse con el sistema y la base de datos de **BBL Oxi/Ferm Tube II**.

Tabla 2: Resultados de la evaluación de rendimiento

Organismos	Cant. analizada	GLU	GAS	LYS	ORN	H ₂ S	IND	ADO	LAC	ARA	SOR	DUL	PA	URE	CIT
ACINETOBACTER															
<i>A. anitratus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
<i>A. lwoffii</i> *	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BURKHOLDERIA															
<i>B. cepacia</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
CEDECEA															
<i>C. davisae</i>	1	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>C. lapagei</i> *	1	100	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100
CITROBACTER															
<i>C. amalonaticus</i>	1	100	100	0	100	0	100	0	0	100	100	0	0	100	100
<i>C. freundii</i>	4	100	100	0	0	100	0	0	50	100	100	0	0	50	50
ESCHERICHIA															
<i>E. coli</i>	83	100	92	100	78	0	99	0	88	99	100	1	0	0	0
GRUPOS ENTERICOS															
Enteric Group 60*	2	100	100	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
ENTEROBACTER															
<i>E. aerogenes</i>	5	100	100	100	100	0	0	100	80	100	100	0	0	0	100
<i>E. amnigenus</i> bio 1	2	100	0	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	100
<i>E. cloacae</i>	10	100	100	10	90	0	0	10	100	100	100	20	0	10	80
EWINGELLA															
<i>E. americana</i>	1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
HAFNIA															
<i>H. alvei</i> *	3	100	100	100	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
KLEBSIELLA															
<i>K. oxytoca</i> *	8	100	0	100	0	0	100	100	100	100	100	38	0	100	100
<i>K. ozaenae</i>	4	100	100	100	0	0	100	100	100	100	100	50	0	50	100
<i>K. pneumoniae</i>	20	100	100	100	0	0	0	65	100	100	100	30	0	100	100
KLUYVERA															
<i>K. ascorbata</i> *	1	100	100	100	100	0	100	0	100	100	0	0	0	0	100
MORGANELLA															
<i>M. morgani</i>	2	100	100	0	100	0	100	0	0	0	0	0	100	100	50
PROTEUS															
<i>P. mirabilis</i> *	4	100	75	0	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	100
PROVIDENCIA															
<i>P. rettgeri</i> *	2	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	100	100	100
<i>P. stuartii</i> *	1	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100	0	100
SALMONELLA															
Especies de <i>Salmonella</i>	41	100	100	100	98	100	0	0	0	100	100	100	0	0	100
<i>Salmonella (ariz)</i> IIIa	5	100	100	100	100	100	0	0	0	100	100	0	0	0	80

Tabla 2: Resultados de la evaluación de rendimiento (cont.)

Organismos	Cant. analizada	GLU	GAS	LYS	ORN	H ₂ S	IND	ADO	LAC	ARA	SOR	DUL	PA	URE	CIT
SERRATIA															
<i>S. liquefaciens</i>	3	100	100	100	100	0	0	0	67	100	100	0	100	100	67
<i>S. marcescens</i> *	5	100	20	100	100	80	0	0	0	0	80	0	0	0	100
<i>S. plymuthica</i>	1	100	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0	0
SHIGELLA															
<i>Shigella</i> srgps A,B,C	10	100	0	0	0	0	20	0	0	20	0	0	0	0	0
<i>S. sonnei</i>	17	100	0	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
YERSINIA															
<i>Y. enterocolitica</i>	1	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0
<i>Y. frederiksenii</i>	2	100	100	0	100	0	100	0	100	100	100	0	0	0	0
<i>Y. ruckeri</i>	2	100	0	50	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0

* Un organismo de este grupo obtenido de American Type Culture Collection.

Tabla 3: Taxones de *Enterobacteriaceae* incluidos en las bases de datos de BBL Enterotube II

<i>Buttiauxella agrestis</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Salmonella</i> serotype Pullorum
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Hafnia alvei</i> biogroup 1	<i>Salmonella (arizonae)</i> IIIa
<i>Cedecea lapagei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella (diazonae)</i> IIIb
<i>Cedecea neteri</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Cedecea species 3</i>	<i>Raoultella (Klebsiella) ornithinolytica</i> (group 47)	<i>Serratia marcescens</i> biogroup 1
<i>Cedecea species 5</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Serratia rubidaea</i>
<i>Citrobacter koseri (diversus)</i>	<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>Serratia odorifera</i> biogroup 1
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	<i>Serratia odorifera</i> biogroup 2
<i>Citrobacter farmeri</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Serratia plymuthica</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Leminorella</i> sp.	<i>Serratia ficaria</i>
<i>Edwardsiella tarda</i> biogroup 1	<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Serratia fonticola</i>
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	<i>Morganella morgani</i>	<i>Shigella</i> serogroups A, B, C
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	<i>Morganella morgani</i> biogroup 1	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Obesumbacterium proteus</i> biogroup 2	<i>Tatumella ptyseos</i>
<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Pantoea agglomerans (Enterobacter agglomerans complex)</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>
<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Yersinia intermedia</i>
<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Yersinia kristensenii</i>
<i>Enterobacter cancerogenus (taylorae)</i>	<i>Proteus myxofaciens</i>	<i>Yersinia pestis</i>
<i>Enterobacter amnigenus</i> biogroup 1	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
<i>Enterobacter amnigenus</i> biogroup 2	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Yersinia ruckeri</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Yokenella regensburgeri</i>
<i>Escherichia coli</i> (AD), inactive	<i>Providencia rustigani</i>	Enteric group 58
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Salmonella species</i>	Enteric group 59
<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Salmonella</i> serotype Typhi	Enteric group 60
<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Salmonella</i> serotype Choleraesuis	
<i>Escherichia blattae</i>	<i>Salmonella</i> serotype Paratyphi A	
<i>Ewingella americana</i>	<i>Salmonella</i> serotype Gallinarum	

REFERENCIAS

- Farmer, J.J. III. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Abbott, S.L. 2003. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Farmer, J.J. III., et al. 1985. Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 21:46-76.
- Ewing, W.H. 1973. Differentiation of Enterobacteriaceae by biochemical reactions, U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
- Ewing, W.H. 1972. Biochemical characterization of Citrobacter freundii and Citrobacter diversus. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
- Ewing, W.H., and M.A. Fife. 1971. Enterobacter agglomerans and the Herbicola-Lathyri bacteria. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.

16. Darland, G., and B.R. Davis. 1973. Biochemical and serological characterization of hydrogen sulfide producing variants of *Escherichia coli*. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
17. Ewing, W.H. 1974. Isolation and identification of *Salmonella* and *Shigella*. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
18. Ewing, W.H., B.R. Davis, and M.A. Five. 1972. Biochemical characterization of *Serratia liquefaciens* and *Serratia rubidaea*. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control.
19. Brenner, D.J., et al. 1977. Taxonomic and nomenclature changes in Enterobacteriaceae. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Disease Control., Oct. 1977.
20. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. Elsevier Science Publishing Co., New York, N.Y.
21. Holmes, B. 1989. Comparative evaluation of the Roche Cobas IDA and Enterotube II systems for identifying members of the family Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* 27: 1027-1030.
22. Mastroeni, P. et al. 1983. Comparison of six systems for the identification of Enterobacteriaceae. *G. Bacteriol. Virol. Immunol.* 76: 3-19.
23. Chiaradia, V. et al. 1983. Comparative evaluation of 3 miniaturized systems (API 20E, Enterotube II, Sensititre AP60) commonly used in clinical microbiology laboratories. *Quad. Sclavo Diagn.* 19: 159-175 [in Italian].

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BBL Enterotube II

N° de cat. 273176 25 tubos

INFORMACION ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



Becton Dickinson GmbH

BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636

Fax: +33-476 68 3292

<http://www.bd.com>

BD, BD logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

Enterotube and Oxi/Ferm are trademarks of Becton Dickinson GmbH.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2007 Becton, Dickinson and Company