



BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine
BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine
L007470 • Rev. 10 • Enero 2015



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Moeller Decarboxylase Broth Base (caldo de base descarboxilasa Moeller), suplementado con lisina u ornitina, facilita la diferenciación de bacilos entéricos mediante las reacciones de descarboxilasa.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Inocular ligeramente los tubos de caldo con asas calibradas de 0,01 mL con crecimiento de cultivos de agares inclinados de agar de soja **Trypticase** de 18 – 24 h. Incluir los tubos de Moeller Decarboxylase Broth Base sin un aminoácido como controles de crecimiento para todos los organismos.
 - b. Cubrir todos los tubos con 2 mL de aceite mineral estéril.
 - c. Incubar los tubos con las tapas ajustadas a 35 ± 2 °C.
2. Examinar si se producen reacciones en los tubos después de 24, 48, 72 y 96 h.
3. Resultados previstos

	Lisina	Ornitina
* <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> ATCC 33495	+	-
* <i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	+

Nota: + = reacción positiva (alcalina, morado o rojo)
- = reacción negativa (ácida, amarillo)

El medio basal da resultado negativo con todos los organismos.

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del producto".
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso. Es posible observar leves variaciones de color en el mismo lote. Dicha variación de color no afecta el rendimiento.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de $6,0 \pm 0,2$.
4. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Moeller Decarboxylase media se utilizan para la diferenciación bioquímica de los bacilos entéricos gram negativos con respecto a la producción de lisina y ornitina descarboxilasa.

V RESUMEN Y EXPLICACION

En 1955, Moeller introdujo los medios de descarboxilasa para detectar la producción de lisina y ornitina descarboxilasa¹. Dichos medios son un complemento útil para otras pruebas bioquímicas para la determinación de especies e identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gram negativos^{2,4}. La producción de ornitina descarboxilasa es particularmente útil para la diferenciación de las especies *Klebsiella* y *Enterobacter*. Los organismos de la especie *Klebsiella* son no móviles y, excepto *K. ornithinolytica*, no producen ornitina descarboxilasa, mientras que la mayoría de los miembros de la especie *Enterobacter* son móviles y, excepto *E. agglomerans*, por lo general producen esta enzima⁴.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Moeller Decarboxylase basal medium está formado por peptona y extracto de carne bovina para suministrar los nutrientes nitrogenados necesarios para favorecer el crecimiento bacteriano. Piridoxal es una enzima-cofactor para el aminoácido descarboxilasa. Dextrosa es un carbohidrato fermentable. Púrpura de bromocresol y rojo cresol son indicadores de pH. Los aminoácidos lisina y

ornitina se añaden al medio basal para detectar la producción de la enzima específica para estos sustratos.

Cuando el medio se inocula con una bacteria capaz de fermentar dextrosa, se producen ácidos que reducen el pH del medio y cambian el color del indicador de morado a amarillo. La acidez también estimula la actividad de la descarboxilasa. Si el organismo produce la enzima apropiada, el aminoácido del medio se degrada, lo que produce la amina correspondiente. La descarboxilación de la lisina produce cadaverina, mientras que la descarboxilación de la ornitina produce putrescina. La producción de estas aminas eleva el pH del medio, lo que cambia de color el indicador de amarillo a morado o violeta. Si el organismo no produce la enzima apropiada, el medio permanece ácido (amarillo). Consultar la referencia para obtener más información⁵.

Cada aislado de prueba debe inocularse en un tubo del medio basal, que no contiene el aminoácido. Si este tubo presenta una reacción alcalina, la prueba no es válida.

Para obtener las reacciones adecuadas, los tubos inoculados deben protegerse del aire con una capa de aceite mineral estéril. La exposición al aire causa la alcalinización de la superficie del medio, que podría hacer que un organismo descarboxilasa negativo aparezca como positivo.

VII REACTIVOS

Moeller Decarboxylase Broth Base

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido péptico de tejido animal	5,0	g
Extracto de carne bovina	5,0	g
Púrpura de bromocresol	0,01	g
Rojo cresol	0,005	g
Dextrosa	0,5	g
Piridoxal	0,005	g

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Moeller Decarboxylase Broth with Lysine y Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine están formados por una base de caldo descarboxilasa Moeller con 10,0 g/L del aminoácido especificado.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{3,6}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Moeller Decarboxylase Broth with Lysine o
Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Subcultivar el aislado de prueba en un medio adecuado, mediante extensión de la muestra para obtener colonias aisladas, e incubar a 35 ± 2 °C durante 18 – 24 h.

Inocular el medio de caldo transfiriendo una o dos colonias de la superficie de un cultivo reciente con un asa o aguja de inoculación y mezclar para distribuir el cultivo por todo el medio. Cubrir el medio de cada tubo con 1 mL de aceite mineral estéril.

Incubar los tubos con las tapas ajustadas a 35 ± 2 °C. Examinar para determinar crecimiento y reacciones de descarboxilación después de 18 – 24, 48, 72 y 96 h antes de informar un resultado como negativo. El medio se teñirá de amarillo inicialmente si se produce fermentación de dextrosa, y luego presentará un progresivo color morado si se produce la reacción de descarboxilasa y se eleva el pH.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Se debería utilizar un electrodo suficientemente pequeño como para entrar en los tubos para determinar el pH potenciométricamente de los medios en tubos. La punta del electrodo se debe introducir en los caldos de cultivo.

X RESULTADOS

Comparar el color de los tubos de medios que contienen aminoácidos específicos con el color de los tubos de control de medios basales (sin aminoácidos) inoculados con el mismo aislado. Si los tubos de control inoculados muestran una reacción alcalina, la prueba no es válida; es decir, la prueba se ha realizado incorrectamente o los organismos pueden degradar la peptona lo suficiente como para producir una reacción alcalina en ausencia de un aminoácido específico.

El medio presenta un color de morado a violeta si la reacción es positiva (alcalina). Un color amarillo indica un resultado negativo; es decir, el organismo no produce la enzima adecuada.

Consultar los textos correspondientes para obtener la información necesaria para interpretar los resultados³⁻⁶.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{3,4,6,7}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

En un estudio realizado por Yabuuchi, Yamanaka y Ohyama, con el fin de desarrollar un nuevo sistema de determinación de perfil para la identificación de los organismos no fermentadores en conjunto con el sistema **Minitek**, se utilizaron como controles medios descarboxilasa Moeller. Se analizaron 625 cepas de organismos no fermentadores. La concordancia de Moeller Decarboxylase with Lysine y el sistema **Minitek** fue del 95,4%. La concordancia de Moeller Decarboxylase with Ornithine con el sistema **Minitek** fue del 90,9%⁸.

En otro estudio, Westbrook et al. utilizaron Moeller Decarboxylase with Ornithine como parte de un esquema de identificación para determinar la incidencia de *Klebsiella planticola* y *K. oxytoca* en 352 aislados de referencia y 84 muestras clínicas recientes de *Klebsiella* sp⁹.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

- | | |
|--------|--|
| 221661 | BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, pqt. de 10 tubos de tamaño K |
| 221662 | BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, caja de 100 tubos de tamaño K |

- 221663 **BD BBL** Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, pqt. de 10 tubos de tamaño K
221664 **BD BBL** Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Moeller, V. 1955. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 36:158-172.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Tenover, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Yabuuchi, E., K. Yamanaka, and A. Ohya. 1981. Evaluation of 36 Minitest tests and a new approach for identification of nonfermenters. *J. Clin. Microbiol.* 13:572-587.
9. Westbrook, G.L., C.M. O'Hara, S.B. Roman, and J.M. Miller. 2000. Incidence and identification of *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. *J. Clin. Microbiol.* 38:1495-1497.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD