



INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI REF. 71714

- *Sistema colorimetrico per l'identificazione biochimica e l'antibiogramma degli enterobatteri*
- *Colorimetric system for biochemical identification and susceptibility testing of enterobacteria*
- *Système colorimétrique pour l'identification biochimique et l'antibiogramme des entérobactéries*
- *Sistema colorimétrico para la identificación bioquímica y el antibiograma de las enterobacterias*
- *Sistema colorimétrico para a identificação bioquímica e o antibiograma das enterobactérias*
- *Χρωματικό σύστημα για τον βιοχημικό προσδιορισμό και το αντιβιόγραμμα των εντεροβακτηριδίων*

Code *F00113*
Rev. 2 / 15.05.2006

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI

Sistema colorimetrico per l'identificazione biochimica e l'antibiogramma degli enterobatteri

DESCRIZIONE

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI è un sistema a 24 pozzetti contenenti substrati biochimici ed antibiotici essiccati per l'identificazione biochimica e l'antibiogramma degli enterobatteri.

Il sistema viene inoculato con la sospensione batterica del microrganismo in esame ed incubato a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 18-24 ore. I test per l'identificazione e per l'antibiogramma vengono interpretati valutando il viraggio di colore dei vari pozzetti del sistema.

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

La confezione contiene:

- 20 Sistemi INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI
- 20 Fiale di Suspension Medium (7.0 ml/fiala)
- 20 Oxidase Disc
- 1 Foglio istruzioni

PRODOTTI NECESSARI NON CONTENUTI

- Olio di vaselina per uso microbiologico (Vaseline oil 2 flaconi da 50 ml).....cod. 80278
- Physiological Solution (20 fiale da 7.0 ml/fiala)cod. 20095
- Kovac's Reagent (2 flaconi da 25 ml)cod. 80270
- Materiale vario per laboratorio di microbiologia

CONFIGURAZIONE

Il sistema presenta la configurazione indicata in tabella n°1.

Tabella n°1

Pozzetto	IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA
1-LDC	Decarbossilazione della lisina
2-ODC	Decarbossilazione dell'ornitina
3-H₂S	Produzione di idrogeno solforato
4-IND	Test dell'indolo
5-LAC	Fermentazione del lattosio
6-DUL	Fermentazione del dulcitol
7-PA	Deaminazione della fenilalanina
8-UR	Idrolisi dell'urea
9-CIT	Utilizzazione del citrato
10-OX	Test dell'ossidasi
Pozzetto	ANTIBIOGRAMMA (*)
11-AK	Amikacina - 32 µg/ml
12-CN	Gentamicina - 8 µg/ml
13-TOB	Tobramicina - 8 µg/ml
14-TZP	Piperacillina+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Fosfomicina - 200 µg/ml
16-CFP	Cefoperazone - 64 µg/ml
17-CTX	Cefotaxime - 64 µg/ml
18-CAZ	Ceftazidime - 32 µg/ml
19-AMS	Ampicillina + Sulbactam - 32/16 µg/ml
20-NA	Acido Nalidixico - 32 µg/ml
21-CIP	Ciprofloxacina - 4 µg/ml
22-LEV	Levofloxacina - 8 µg/ml
23-SXT	Co-Trimossazolo - 8 µg/ml
24-C	Controllo di crescita per l'antibiogramma

(*):La concentrazione di ogni antibiotico è conforme alle norme aggiornate NCCLS-January 2004, Vol 24 N°1.⁽¹⁾

PRINCIPIO DEL METODO

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI permette di eseguire simultaneamente l'identificazione biochimica e l'antibiogramma degli Enterobatteri isolati da campioni clinici.

- L'identificazione si basa su prove biochimiche eseguite su terreni colturali contenenti substrati specifici nei pozzetti da **1-LDC** a **10-OX**.
- L'antibiogramma viene valutato in base alla crescita o all'inibizione dei microrganismi in terreni contenenti l'antibiotico ed un indicatore di crescita nei pozzetti da **11-AK** a **23-SXT**. Il pozzetto **24-C** non contiene antibiotici, ma solo il terreno colturale e l'indicatore e serve come controllo della crescita microbica per l'antibiogramma.

COMPOSIZIONE

Tabella n°2

Pozzetto	Contenuto
1-LDC	Terreno per evidenziare la decarbossilazione della lisina
2-ODC	Terreno per evidenziare la decarbossilazione dell'ornitina
3-H₂S	Terreno per evidenziare la produzione di idrogeno solforato
4-IND	Terreno per evidenziare la produzione dell'indolo
5-LAC	Terreno per evidenziare la fermentazione del lattosio
6-DUL	Terreno per evidenziare la fermentazione del dulcitolio
7-PA	Terreno per evidenziare la deaminazione della fenilalanina
8-UR	Terreno per evidenziare l'idrolisi dell'urea
9-CIT	Terreno per evidenziare l'utilizzazione del citrato
10-OX	Terreno per evidenziare l'enzima citocromo-ossidasi
11-AK	Terreno contenente Amikacina - 32 µg/ml
12-CN	Terreno contenente Gentamicina - 8 µg/ml
13-TOB	Terreno contenente Tobramicina - 8 µg/ml
14-TZP	Terreno contenente Piperacillina+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Terreno contenente Fosfomicina - 200 µg/ml
16-CFP	Terreno contenente Cefoperazone - 64 µg/ml
17-CTX	Terreno contenente Cefotaxime - 64 µg/ml
18-CAZ	Terreno contenente Ceftazidime - 32 µg/ml
19-AMS	Terreno contenente Ampicillina + Sulbactam - 32/16 µg/ml
2-NA	Terreno contenente Acido Nalidixico - 32 µg/ml
21-CIP	Terreno contenente Ciprofloxacina - 4 µg/ml
22-LEV	Terreno contenente Levofloxacin - 8 µg/ml
23-SXT	Terreno contenente Co-Trimossazolo - 8 µg/ml
24-C	Terreno senza antibiotici

Suspension Medium(g/l): Estratto di lievito **5 g**; Peptone di carne **3 g**; Glucosio **2 g**; Acqua distillata **1000.0 ml**
pH 6.8±0.2

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Le colonie da sottoporre al test di identificazione biochimica ed all'antibiogramma con INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI devono essere riprese da un terreno colturale, selettivo o non selettivo, utilizzato per l'isolamento degli enterobatteri.

PROCEDURA DEL TEST

1. Prelevare un sistema dal kit.
2. Dopo essersi accertati con opportune indagini che le colonie sviluppate sui terreni colturali appartengono presuntivamente al gruppo degli Enterobatteri, prelevare una o più colonie morfologicamente simili, ben isolate, da un terreno di coltura solido e sospenderle in 5 ml di fisiologica per uso microbiologico in modo da ottenere una torbidità equivalente a 0,5 McFarland (**Sospensione batterica**).
3. Trasferire:
 - 0.2 ml di **Sospensione batterica** nei primi 10 pozzetti ed aggiungere ai pozzetti **1-LDC**, **2-ODC**, **3-H₂S** ed **8-UR** 2 gocce di olio di vaselina per uso microbiologico (IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA).
 - 0.01 ml di **Sospensione batterica** nella fiala di **Suspension Medium** contenuta nel kit e distribuire 0.2 ml nei pozzetti da **11-AK** a **24-C** (ANTIBIOGRAMMA).
4. Coprire il sistema con l'apposito coperchio ed incubare a 36 °C ± 1°C per 18-24 ore.
5. Dopo l'incubazione, aggiungere:
 - 2 gocce di Kovac's Reagent al pozzetto **4-IND** (TEST DELL' INDOLO).
 - 1 disco di OXIDASE DISC al pozzetto **10-OX** (TEST DELL' OSSIDASI).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA

Interpretare i risultati dei primi 10 pozzetti utilizzando la tabella n°3 e formare il codice numerico di 4 cifre seguendo le istruzioni riportate al paragrafo **FORMAZIONE DEL CODICE NUMERICO**. Risalire quindi all'identificazione batterica servendosi del tabulato dei codici numerici (tabella n°5).

ANTIBIOGRAMMA

Osservare il viraggio di colore dei pozzetti da **11-AK** a **23-SXT** ed interpretare i risultati servendosi della tabella n°3. Il pozzetto di controllo (**24-C**) deve risultare positivo (giallo). Nel caso in cui risultasse negativo (blu oppure grigio), è necessario verificare la vitalità dell'inoculo, la sua corretta preparazione e procedere alla ripetizione del test utilizzando un nuovo sistema.

Tabella n°3

Pozzetto	IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
1-LDC	Decarbossilazione della lisina	Viola	Giallo-Marrone
2-ODC	Decarbossilazione dell' ornitina	Viola	Giallo-Marrone
3-H₂S	Produzione di Idrogeno solforato	Nero	Giallo
4-IND	Test dell'indolo	Anello rosa-rosso	Giallo
5-LAC	Fermentazione del lattosio	Giallo	Blu-Verde
6-DUL	Fermentazione del dulcitolio	Giallo	Blu-Verde
7-PA	Deaminazione della fenilalanina	Nero-Marrone	Giallo
8-UR	Idrolisi dell'urea	Rosso-Fucsia	Giallo-Arancio
9-CIT	Utilizzazione del citrato	Blu-Verde scuro	Verde
10-OX	Test dell'ossidasi	Blu-Porpora (reazione immediata)	Incolore

ANTIBIOGRAMMA		
COLORE POZZETTO	CRESCITA BATTERICA	INTERPRETAZIONE
Blu	Inibita	S = Sensibile
Grigio	Intermedia	I = Sensibilità intermedia
Giallo	Buona	R = Resistente

FORMAZIONE DEL CODICE NUMERICO

1) I 10 test biochimici sono divisi in 3 gruppi contenenti 3 test ed un gruppo contenente 1 test, ed ognuno viene indicato con un valore di positività di 1,2,4.

- Valore 1 : primo test positivo di ogni gruppo
- (LDC, IND, PA,OX)
- Valore 2 : secondo test positivo di ogni gruppo
- (ODC,LAC,UR)
- Valore 4 : terzo test positivo di ogni gruppo
- (H₂S, DUL,CIT)
- Valore zero: reazioni negative di ogni gruppo

2) Addizionando in ogni gruppo i numeri delle reazioni positive, si ottiene un codice a 4 cifre che, servendosi del tabulato dei codici numerici, permette di identificare il microrganismo in esame come da esempio.

	Gruppo I			Gruppo II			Gruppo III			Gruppo IV
Pozzetto	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
Codice di positività	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
Risultati	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Somma dei codici	3			3			0			0
CODICE NUMERICO: 3300				IDENTIFICAZIONE: E.coli						

SCHEMA DELLE REAZIONI BIOCHIMICHE

Tabella n°4

Microrganismi	Gruppo I			Gruppo II			Gruppo III			Gruppo 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>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Reazione Positiva

- : Reazione Negativa

V: Reazione Variabile

*Dulcitol: Alcuni ceppi di *Salmonella* fermentano lentamente il dulcitol, pertanto possono essere inizialmente identificati come *Arizona spp.* E' necessario quindi eseguire una prova di conferma usando un antisiero polivalente per *Salmonella*.

TABULATO DEI CODICI NUMERICI

Tabella n°5

Codice	Microrganismo	Codice	Microrganismo	Codice	Microrganismo	Codice	Microrganismo
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.
0300	<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>	3100	<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.

CONTROLLO QUALITA'

Ogni lotto di INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI viene sottoposto al controllo qualità utilizzando microrganismi ATCC di riferimento.

Enterobacter cloacae..... ATCC 13047
Escherichia coli..... ATCC 25922
Klebsiella pneumoniae..... ATCC 13883

Proteus mirabilis..... ATCC 25933
Pseudomonas aeruginosa..... ATCC 27853
Salmonella typhimurium..... ATCC 14028

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

Non corretta standardizzazione dell'inoculo; applicazione del metodo a microrganismi non appartenenti al gruppo degli Enterobatteri; colture miste o inquinate; uso di sistemi o di reagenti scaduti; non corretta applicazione della tecnica d'uso.

LIMITI ED AVVERTENZE

L'identificazione di *Salmonella spp.* e di *Shigella spp.* deve essere confermata utilizzando antisieri adatti. Per l'identificazione definitiva dei microrganismi in alcuni casi può essere necessario ricorrere a test supplementari di conferma.

PERFORMANCE

I risultati dell'identificazione batterica ottenuti con il sistema INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI concordano con quelli dei metodi di identificazione tradizionali come riportato da Piccolomini et al. ⁽⁴⁾

I risultati dell'antibiogramma ottenuti con il sistema INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI concordano con quelli ottenuti con il metodo di diffusione radiale secondo Bauer et al. ⁽⁵⁾ raccomandato dalla Food and Drug Administration (FDA) e dalla National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A ^(1,8).

PRECAUZIONI

Il prodotto, INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI, non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze nocive in concentrazioni $\geq 1\%$, pertanto non richiede la disponibilità della Scheda di Sicurezza. INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI è un dispositivo monouso da usare solo per uso diagnostico *in vitro*, è destinato ad un ambito professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C nella sua confezione originale. Non conservare vicino a fonti di calore ed evitare eccessive variazioni di temperatura. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO

Dopo l'utilizzazione INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio per la decontaminazione e lo smaltimento di materiale potenzialmente infetto.

PRESENTAZIONE

Prodotto	Codice	Confezione
INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI	71714	20 tests

TABELLA DEI SIMBOLI

SIMBOLO	SIGNIFICATO	SIMBOLO	SIGNIFICATO
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>		Non riutilizzare
	Fabbricante		Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Numero di catalogo		Fragile, maneggiare con cura
	Utilizzare entro		Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso
	Limiti di temperatura		Codice del lotto



IVD

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI

Colorimetric system for biochemical identification and susceptibility testing of enterobacteria

DESCRIPTION

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI is a 24-well system containing desiccated biochemical and antibiotic substrates for the biochemical identification and susceptibility testing of enterobacteria.

The system is inoculated with the bacterial suspension of the micro-organism under examination and incubated at 36 °C ± 1°C for 18-24 hours. The tests for identification and for the susceptibility testing are interpreted by assessing the change in colour of the various wells.

KIT CONTENTS

The kit contains:

- 20 systems of INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI
- 20 Vials of Suspension Medium (7.0 ml/vial)
- 20 Oxidase Disc
- 1 Instruction sheet

ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

- Vaseline oil for microbiology use (Vaselin oil 2 bottles of 50 ml)cod. 80278
- Physiological Solution (20 vials of 7.0 ml/vial).....cod. 20095
- Kovac's Reagent (2 bottles of 25 ml).....cod. 80270
- Sundry microbiology laboratory materials

CONFIGURATION

The configuration of the system is shown in Table 1.

Table 1

Well	BIOCHEMICAL IDENTIFICATION
1-LDC	Decarboxylation of lysine
2-ODC	Decarboxylation of ornithine
3-H ₂ S	Production of hydrogen sulphide
4-IND	Indole test
5-LAC	Fermentation of lactose
6-DUL	Fermentation of dulcitol
7-PA	Deamination of phenylalanine
8-UR	Hydrolysis of urea
9-CIT	Utilisation of citrate
10-OX	Oxidase test
Well	SUSCEPTIBILITY TESTING (*)
11-AK	Amikacin - 32 µg/ml
12-CN	Gentamycin - 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	Growth control for the susceptibility testing

(*): The concentration of each antibiotic is according to the updated NCCLS-January 2004, Vol 24 N°1.⁽¹⁾

PRINCIPLE OF THE METHOD

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI makes possible simultaneous biochemical identification and assessment of the susceptibility testing of enterobacteria isolated from clinical samples.

- The identification is based on biochemical tests performed on culture media containing specific substrates in the wells from **1-LDC** to **10-OX**.
- The susceptibility testing is assessed on the basis of the growth or inhibition of the micro-organisms in the media containing the antibiotic and a growth indicator in the wells from **11-AK** to **23-SXT**. Well **24-C** does not contain antibiotics but only the culture medium and the indicator; it serves as a microbe growth control for assessment of the susceptibility testing.

COMPOSITION

Table n°2

<i>Well</i>	<i>Content</i>
1-LDC	Culture medium for showing lysine decarboxylase
2-ODC	Culture medium for showing ornithine decarboxylase
3-H₂S	Culture medium for showing production of hydrogen sulphide
4-IND	Culture medium for showing production of indole
5-LAC	Culture medium for showing fermentation of lactose
6-DUL	Culture medium for showing fermentation of dulcitol
7-PA	Culture medium for showing phenylalanine deamination
8-UR	Culture medium for showing hydrolysis of urea
9-CIT	Culture medium for showing utilisation of citrate
10-OX	Culture medium for showing enzyme cytochrome-oxidase
11-AK	Culture medium containing Amikacin - 32 µg/ml
12-CN	Culture medium containing Gentamycin - 8 µg/ml
13-TOB	Culture medium containing Tobramycin - 8 µg/ml
14-TZP	Culture medium containing Piperacillin+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Culture medium containing Fosfomycin - 200 µg/ml
16-CFP	Culture medium containing Cefoperazone - 64 µg/ml
17-CTX	Culture medium containing Cefotaxime - 64 µg/ml
18-CAZ	Culture medium containing Ceftazidime - 32 µg/ml
19-AMS	Culture medium containing Ampicillin + Sulbactam - 32/16 µg/ml
20-NA	Culture medium containing Nalidixic acid - 32 µg/ml
21-CIP	Culture medium containing Ciprofloxacin - 4 µg/ml
22-LEV	Culture medium containing Levofloxacin - 8 µg/ml
23-SXT	Culture medium containing Co-Trimoxazole - 8 µg/ml
24-C	Medium without antibiotics

Suspension Medium (g/l): Yeast extract **5 g**; Beef peptone **3 g**; Glucose **2 g**; Distilled water **1000.0 ml**;
pH 6.8±0.2

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLES

The colonies to be subjected to the biochemical identification test and susceptibility testing assessment with INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI must be taken from a culture medium – selective or non selective – used for the isolation of enterobacteria.

TEST PROCEDURE

1. Take a system from the kit.
2. After checking that the colonies that have developed on the culture media presumably belong to the enterobacteria group, take one or more morphologically similar, well isolated, colonies from a solid culture medium and suspend them in 5 ml of Physiological Solution for microbiological use in such a way as to obtain a turbidity equivalent to 0.5 McFarland (**Bacterial suspension**).
3. Trasfer
 - 0.2 ml of **Bacterial suspension** into each of the first 10 wells and to wells **1-LDC**, **2-ODC**, **3-H₂S** and **8-UR** add 2 drops of Vaseline Oil for microbiological use (BIOCHEMICAL IDENTIFICATION).
 - 0.01 ml of **Bacterial suspension** to the vial of **Suspension Medium** contained into the kit and distribute 0.2 ml into the wells from **11-AK** to **24-C** (SUSCEPTIBILITY TESTING).
4. Cover the system with the lid provided and incubate at 36 °C ± 1°C for 18-24 hours.
5. After incubation. add:
 - 2 drops of Kovac's Reagent to well **4-IND** (INDOLE TEST).
 - 1 OXIDASE DISC to well **10-OX** (OXIDASE TEST).

INTERPRETATION OF THE RESULTS

BIOCHEMICAL IDENTIFICATION

Interpret the results of the first 10 wells using Table n° 3 and form the 4-digit code following the instructions given to the paragraph **FORMATION OF NUMERICAL CODE**. Then use the code and Table n°5 to identify the bacteria.

SUSCEPTIBILITY TESTING

Observe the changes of colour of the wells from **11-AK** to **23-SXT** and interpret the results using Table n°3. The control well (**24-C**) must be positive (yellow). If it is negative (blue or grey), it is necessary to check the vitality of the inoculum and whether it has been correctly prepared; then to repeat the tests using a new system.

Table n°3

Well	BIOCHEMICAL IDENTIFICATION	Well colour	
		Positive reaction	Negative reaction
1-LDC	Decarboxylation of lysine	Violet	Yellow-Brown
2-ODC	Decarboxylation of ornithine	Violet	Yellow-Brown
3 -H₂S	Production of hydrogen sulphide	Black	Yellow
4-IND	Indole test	Pink-Red ring	Yellow
5-LAC	Fermentation of lactose	Yellow	Blue-Green
6-DUL	Fermentation of dulcitol	Yellow	Blue-Green
7-PA	Deamination of phenylalanine	Black-Brown	Yellow
8-UR	Hydrolysis of urea	Red-Fuchsia	Yellow-Orange
9-CIT	Utilisation of citrate	Blue-Dark Green	Green
10-OX	Oxidase test	Blue-Purple (immediate reaction)	Colourless

SUSCEPTIBILITY TESTING		
WELL COLOUR	BACTERIAL GROWTH	INTERPRETATION
Blue	Inhibited	S = Sensitive
Grey	Intermediate	I = Intermediate sensitivity
Yellow	Good	R = Resistant

FORMATION OF THE NUMERICAL CODE

1) The 10 biochemical tests are divided into 3 groups each containing 3 tests and one group containing 1 test, each one is indicated with a positiveness value of 1,2,4.

- Value 1 : first test positive in each group
- (LDC, IND, PA,OX)
- Value 2 : second test positive in each group
- (ODC,LAC,UR)
- Value 4 : third test positive in each group
- (H₂S, DUL,CIT)
- Value zero: negative reaction in every group

2) Adding the number of positive reactions in each group, one obtains a 4-digit code which is used to identify the micro-organism from the table of numerical codes as in the example.

	Group I			Group II			Group III			Group IV
Well	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>						

TABLE OF BIOCHEMICAL REACTIONS

Table n°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>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Positive Reaction

- : Negative Reaction

V: Variable Reaction

*Dulcitol: Some strains of *Salmonella* ferment dulcitol slowly; they may therefore be identified initially as *Arizona spp.* A confirmation test is thus required using a polyvalent antiserum for *Salmonella*.

TABLE OF NUMERICAL CODES

Table n°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.
0300	<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>	3100	<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.

QUALITY CONTROL

Each batch of INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI is subjected to quality control using the following ATCC reference strains.

<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

Poor standardisation of the inoculum; application of the method to micro-organisms not in the Enterobacteria group; mixed or contaminated cultures; use of expired systems or expired supplementary reagents; incorrect application of the technique.

LIMITS AND WARNINGS

The identification of *Salmonella spp.* and of *Shigella spp.* must be confirmed using appropriate antisera. In some cases, supplementary confirmation tests may be required for definitive identification of the micro-organisms.

PERFORMANCE

The bacterial identification results obtained with the INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI agree with those obtained using traditional methods as indicated by Piccolomini et al.⁽⁴⁾.

The antibiogram results obtained with the INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI agree with those obtained using the radial diffusion methods according to Bauer et al.⁽⁵⁾ recommended by the Food and Drug Administration (FDA) and by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A.^(1,8).

PRECAUTIONS

The product, INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI, cannot be classified as hazardous under current legislation nor does it contain harmful substances in concentrations $\geq 1\%$. It therefore does not require a Safety Data Sheet to be available. INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro*; it is intended for use in a professional environment and must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved asepsis and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store at 2-8°C in the original packaging. Keep away from sources of heat and avoid excessive changes in temperature. In such conditions, the product will remain valid until the expiry date indicated on the label. Do not use beyond that date. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI and material that has come into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with the techniques used in the laboratory for decontamination and disposal of potentially infected material.

PRESENTATION

Product	Code	Kit
INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI	71714	20 tests

TABLE OF SYMBOLS

SYMBOL	MEANING	SYMBOL	MEANING
	In Vitro Diagnostic Medical Device		Do not reuse
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Catalogue number		Fragile, handle with care
	Use by		Caution, consult accompanying documents
	Temperature limitation		Batch code



INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI

Système colorimétrique pour l'identification biochimique et l'antibiogramme des entérobactéries

DESCRIPTION

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI est un système à 24 puits contenant des substrats biochimiques et antibiotiques séchés pour l'identification biochimique et l'antibiogramme des entérobactéries.

Le système est inoculé avec la suspension bactérienne du micro-organisme examiné et incubé à $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 18-24 heures. Les tests pour l'identification et pour l'antibiogramme sont interprétés en évaluant le virage de couleur des différents puits du système.

CONTENU DES EMBALLAGES

Chaque emballage contient:

- 20 Systèmes INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI
- 20 Ampoules de Suspension Medium (7,0 ml/ampoule)
- 20 Oxidase Disc
- 1 Notice

PRODUITS NÉCESSAIRES NON CONTENUS

- Huile de vaseline à usage microbiologique (Vaseline oil 2 flacons de 50 ml).....code 80278
- Physiological Solution (20 ampoules de 7.0 ml/ampoule).....code 20095
- Kovac's Reagent (2 flacons de 25 ml).....code 80270
- Matériel divers pour laboratoire de microbiologie

CONFIGURATION

Le système présente la configuration indiquée au tableau n°1.

Tableau n° 1

Puits	IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE
1-LDC	Décarboxylation de la lysine
2-ODC	Décarboxylation de l'ornithine
3-H₂S	Production d'hydrogène sulfuré
4-IND	Test de l'indole
5-LAC	Fermentation du lactose
6-DUL	Fermentation du dulcitol
7-PA	Désamination de la phénylalanine
8-UR	Hydrolyse de l'urée
9-CIT	Utilisation du citrate
10-OX	Test de l'oxydase
Puits	ANTIBIOGRAMME (*)
11-AK	Amikacine - 32 µg/ml
12-CN	Gentamicine - 8 µg/ml
13-TOB	Tobramicine - 8 µg/ml
14-TZP	Pipéracilline +Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Fosfomycine - 200 µg/ml
16-CFP	Céfopérazone - 64 µg/ml
17-CTX	Céfotaxime - 64 µg/ml
18-CAZ	Ceftazidime - 32 µg/ml
19-AMS	Ampicilline + Sulbactam – 32/16 µg/ml
20-NA	Acide nalidixique - 32 µg/ml
21-CIP	Ciprofloxacine - 4 µg/ml
22-LEV	Lévofloxacine - 8 µg/ml
23-SXT	Cotrimoxazole - 8 µg/ml
24-C	Contrôle de croissance pour l'antibiogramme

(*): La concentration de chaque antibiotique est conforme aux normes actualisées NCCLS-January 2004, Vol 24 N°1.⁽¹⁾

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI permet d'effectuer simultanément l'identification biochimique et l'antibiogramme des Entérobactéries isolées à partir d'échantillons cliniques.

- L'identification se base sur des tests biochimiques effectués sur des milieux de culture contenant des substrats spécifiques dans les puits de **1-LDC** à **10-OX**.
- L'antibiogramme est évalué sur la base de la croissance ou de l'inhibition des micro-organismes dans les milieux contenant l'antibiotique et un indicateur de croissance dans les puits de **11-AK** à **23-SXT**.
Le puits **24-C** ne contient pas d'antibiotiques, mais seulement le milieu de culture et l'indicateur, et il sert au contrôle de la croissance microbienne pour l'antibiogramme.

COMPOSITION

Tableau n° 2

Puits	Contenu
1-LDC	Milieu pour l'identification de la lysine décarboxylase
2-ODC	Milieu pour l'identification de l'ornithine décarboxylase
3-H₂S	Milieu pour l'identification de la production d'hydrogène sulfuré
4-IND	Milieu pour l'identification de la production de l'indole
5-LAC	Milieu pour l'identification de la fermentation du lactose
6-DUL	Milieu pour l'identification de la fermentation du dulcitol
7-PA	Milieu pour l'identification de la phénylalanine désaminase
8-UR	Milieu pour l'identification de l'hydrolyse de l'urée
9-CIT	Milieu pour l'identification de l'utilisation du citrate
10-OX	Milieu pour l'identification de l'enzyme cytochrome - oxydase
11-AK	Milieu contenant Amikacine - 32 µg/ml
12-CN	Milieu contenant Gentamicine - 8 µg/ml
13-TOB	Milieu contenant Tobramicine - 8 µg/ml
14-TZP	Milieu contenant Pipéracilline + Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Milieu contenant Fosfomycine - 200 µg/ml
16-CFP	Milieu contenant Céfopérazone - 64 µg/ml
17-CTX	Milieu contenant Céfotaxime - 64 µg/ml
18-CAZ	Milieu contenant Ceftazidime - 32 µg/ml
19-AMS	Milieu contenant Ampicilline + Sulbactam - 32/16 µg/ml
2-NA	Milieu contenant Acide nalidixique - 32 µg/ml
21-CIP	Milieu contenant Ciprofloxacine - 4 µg/ml
22-LEV	Milieu contenant Lévofloxacine - 8 µg/ml
23-SXT	Milieu contenant Cotrimoxazole - 8 µg/ml
24-C	Milieu sans antibiotiques

Suspension Medium (g/l): Extrait de levure **5g**; Peptone de viande **3g**; Glucose **2g**; Eau distillée **1000.0 ml**;
pH 6.8±0.2

PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Les colonies à soumettre au test d'identification biochimique et à l'antibiogramme avec INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI doivent être prélevées sur un milieu de culture, sélectif ou non sélectif, utilisé pour l'isolement des Entérobactéries.

PROCÉDURE DU TEST

1. Sortir un système du kit.
2. Après s'être assuré, à travers des examens appropriés, que les colonies développées sur les milieux de culture appartiennent présomptivement au groupe des Entérobactéries, prélever une ou plusieurs colonies morphologiquement semblables, bien isolées, sur un milieu de culture solide et les mettre en suspension dans 5 ml de solution physiologique à usage microbiologique afin d'obtenir une turbidité équivalente au standard 0,5 McFarland (**Suspension bactérienne**).
3. Transférer :
 - 0.2 ml de **Suspension bactérienne** dans les 10 premiers puits et ajouter aux puits **1-LDC**, **2-ODC**, **3-H₂S** et **8-UR** 2 gouttes d'huile de vaseline à usage microbiologique (IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE).
 - 0.01 ml de **Suspension bactérienne** dans l'ampoule de **Suspension Medium** contenu dans le kit et distribuer 0,2 ml dans les puits de **11-AK** à **24-C** (ANTIBIOGRAMME).
4. Couvrir le système avec le couvercle et incuber à 36 °C ± 1°C pendant 18-24 heures.
5. Après l'incubation, ajouter :
 - 2 gouttes de Kovac's Reagent dans le puits **4-IND** (TEST DE L'INDOLE).
 - 1 disque de OXIDASE DISC dans le puits **10-OX** (TEST DE L'OXYDASE).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE

Interpréter les résultats des 10 premiers puits en utilisant le tableau n° 3 et former le code numérique à 4 chiffres en suivant les instructions du paragraphe **FORMATION DU CODE NUMÉRIQUE**. Remonter à l'identification bactérienne à l'aide du tableau des codes numériques (tableau n° 5).

ANTIBIOGRAMME

Observer le virage de couleur des puits de **11-AK** à **23-SXT** et interpréter les résultats à l'aide du tableau n° 3. Le puits de contrôle (**24-C**) doit être positif (jaune). S'il est négatif (bleu ou gris), il est nécessaire de vérifier la vitalité de l'inoculum, sa préparation correcte, et de procéder à la répétition du test en utilisant un nouveau système.

Tableau n° 3

Puits	IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE	Couleur du puits	
		Réaction positive	Réaction négative
1-LDC	Décarboxylation de la lysine	Violet	Jaune-Marron
2-ODC	Décarboxylation de l'ornithine	Violet	Jaune-Marron
3-H₂S	Production d'hydrogène sulfuré	Noir	Jaune
4-IND	Test de l'indole	Anneau rose-rouge	Jaune
5-LAC	Fermentation du lactose	Jaune	Bleu-Vert
6-DUL	Fermentation du dulcitol	Jaune	Bleu-Vert
7-PA	Désamination de la phénylalanine	Noir-Marron	Jaune
8-UR	Hydrolyse de l'urée	Rouge-Fuchsia	Jaune-Orange
9-CIT	Utilisation du citrate	Bleu-Vert foncé	Vert
10-OX	Test de l'oxydase	Bleu-Pourpre (réaction immédiate)	Incolore

ANTIBIOGRAMME		
COULEUR DU Puits	CROISSANCE BACTÉRIENNE	INTERPRÉTATION
Bleu	Inhibée	S = Sensible
Gris	Intermédiaire	I = Sensibilité intermédiaire
Jaune	Bonne	R = Résistant

FORMATION DU CODE NUMÉRIQUE

- 1) Les 10 tests biochimiques sont divisés en 3 groupes contenant 3 tests et un groupe contenant 1 test ; chacun est indiqué avec une valeur de positivité de 1, 2, 4.
- Valeur 1 : premier test positif de chaque groupe
(LDC, IND, PA, OX)
 - Valeur 2 : deuxième test positif de chaque groupe
(ODC, LAC, UR)
 - Valeur 4 : troisième test positif de chaque groupe
(H₂S, DUL, CIT)
 - Valeur zéro : réactions négatives de chaque groupe
- 2) Additionner dans chaque groupe les nombres des réactions positives, pour obtenir un code à 4 chiffres qui, à l'aide du tableau des codes numériques, permet d'identifier le micro-organisme examiné comme dans l'exemple.

Exemple:

	Groupe I			Groupe II			Groupe III			Groupe IV
Puits	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
Code of positivité	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
Résultats	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Somme des codes	3			3			0			0
CODE NUMÉRIQUE: 3300 IDENTIFICATION: E.coli										

TABLEAU DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES

Tableau n° 4

Micro-organismes	Groupe I			Groupe II			Groupe III			Groupe 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>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Réaction Positive

- : Réaction Négative

V : Réaction Variable

*Dulcitol : Certaines souches de *Salmonella* fermentent lentement le dulcitol, elles peuvent par conséquent être initialement identifiées comme *Arizona spp.* Il est donc nécessaire d'effectuer un test de confirmation en utilisant un antisérum polyvalent pour *Salmonella*.

TABLEAU DES CODES NUMÉRIQUES

Tableau n° 5

Code	Micro-organisme	Code	Micro-organisme	Code	Micro-organisme	Code	Micro-organisme
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.
0300	<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>	3100	<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.

CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque lot de INTEGRAL SYSTEM ENTÉROBATTÉRI est soumis au contrôle de qualité en utilisant les micro-organismes ATCC de référence .

<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028

FACTEURS POUVANT INVALIDER LES RÉSULTATS

Standardisation incorrecte de l'inoculum ; application de la méthode à des micro-organismes n'appartenant pas au groupe des Entérobactéries ; cultures mixtes ou polluées ; utilisation de systèmes ou de réactifs après leur date limite d'utilisation ; application incorrecte de la technique d'utilisation.

IMITES ET AVERTISSEMENTS

L'identification de *Salmonella spp.* et de *Shigella spp.* doit être confirmée en utilisant les antisérums appropriés. Pour l'identification définitive des micro-organismes, il peut être nécessaire, dans certains cas, de recourir à des tests supplémentaires de confirmation.

PERFORMANCES

Les résultats de l'identification bactérienne obtenus avec le système INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI concordent avec ceux des méthodes d'identification traditionnelles (Piccolomini et al.⁽⁴⁾).

Les résultats de l'antibiogramme obtenus avec le système INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI concordent avec ceux obtenus avec la méthode de diffusion radiale selon Bauer et al.⁽⁵⁾ recommandée par la Food and Drug Administration (FDA) et par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A ^(1,8).

PRÉCAUTIONS

Le produit, INTEGRAL SYSTEM ENTÉROBACTERI, n'est pas classé comme dangereux aux termes de la législation en vigueur, ni ne contient de substances nocives dans des concentrations $\geq 1\%$, il ne requiert donc pas la disponibilité de la Fiche de données de sécurité. INTEGRAL SYSTEM ENTÉROBACTERI est un dispositif à usage unique, il est destiné exclusivement à un usage diagnostique *in vitro* et à un usage professionnel ; il doit être utilisé en laboratoire par des opérateurs correctement formés, avec des méthodes approuvées d'asepsie et de sécurité à l'égard des agents pathogènes.

CONSERVATION

Conserver à 2-8°C dans son emballage d'origine. Ne pas conserver à proximité de sources de chaleur et éviter toute variation excessive de température. Dans ces conditions, le produit est valable jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser au-delà de cette date. Éliminer en présence de signes de détérioration.

ÉLIMINATION DU MATÉRIEL UTILISÉ

Après utilisation, INTEGRAL SYSTEM ENTÉROBACTERI et le matériel ayant été au contact de l'échantillon doivent être décontaminés et éliminés conformément aux techniques utilisées en laboratoire pour la décontamination et l'élimination de matériel potentiellement infecté.

PRÉSENTATION

Produit	Code	Emballage
INTEGRAL SYSTEM ENTÉROBACTERI	71714	20 tests

TABLEAU DES SYMBOLES

<u>SYMBOLE</u>	<u>SIGNIFICATION</u>	<u>SYMBOLE</u>	<u>SIGNIFICATION</u>
	Dispositif médical diagnostic <i>in vitro</i>		Ne pas réutiliser
	Fabricant		Contenu suffisant pour <n> tests
	Numéro de catalogue		Fragile, manipuler avec soin
	Utiliser avant		Attention, voir les instructions pour l'utilisation
	Limites de température		Code du lot



INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI

Sistema colorimétrico para la identificación bioquímica y el antibiograma de las enterobacterias

DESCRIPCIÓN

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI es un sistema de 24 pozos que contienen sustratos bioquímicos y antibióticos desecados para la identificación bioquímica y el antibiograma de las enterobacterias.

El sistema se inocula con la suspensión bacteriana del microorganismo en examen e incubado a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas. Los tests para la identificación y para el antibiograma se interpretan evaluando el viraje de color de los distintos pozos del sistema.

CONTENIDO DE LOS ESTUCHES

El estuche contiene:

- 20 Sistemas INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI
- 20 Ampollas de Suspension Medium (7.0 ml/ampolla)
- 20 Oxidase Disc
- 1 Hoja instrucciones

PRODUCTOS NECESARIOS NO CONTENIDOS

- Aceite de vaselina para uso microbiológico (Vaseline oil 2 frascos de 50 ml).....cód. 80278
- Physiological Solution (20 ampollas de 7.0 ml/ampolla).....cód. 20095
- Kovac's Reagent (2 frascos de 25 ml).....cód. 80270
- Material vario para laboratorio de microbiología

CONFIGURACIÓN

El sistema presenta la configuración indicada en la tabla n°1.

Tabla n°1

Pozo	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA
1-LDC	Descarboxilación de la lisina
2-ODC	Descarboxilación de la ornitina
3-H₂S	Producción de hidrógeno sulfurado
4-IND	Test del indol
5-LAC	Fermentación de la lactosa
6-DUL	Fermentación del dulcitol
7-PA	Desaminación de la fenilalanina
8-UR	Hidrólisis de la urea
9-CIT	Utilización del citrato
10-OX	Test de la oxidasa
Pozo	ANTIBIOGRAMA (*)
11-AK	Amikacina - 32 µg/ml
12-CN	Gentamicina - 8 µg/ml
13-TOB	Tobramicina - 8 µg/ml
14-TZP	Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Fosfomicina - 200 µg/ml
16-CFP	Cefoperazona - 64 µg/ml
17-CTX	Cefotaxima - 64 µg/ml
18-CAZ	Ceftazidima - 32 µg/ml
19-AMS	Ampicilina + Sulbactam - 32/16 µg/ml
20-NA	Ácido Nalidixico - 32 µg/ml
21-CIP	Ciprofloxacina - 4 µg/ml
22-LEV	Levofloxacina - 8 µg/ml
23-SXT	Co-Trimoxazolo - 8 µg/ml
24-C	Control de crecimiento para el antibiograma

(*): La concentración de cada antibiótico es conforme a las normas actualizadas NCCLS-January 2004, Vol 24 N°1.⁽¹⁾

PRINCIPIO DEL MÉTODO

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI permite realizar simultáneamente la identificación bioquímica y el antibiograma de las enterobacterias aisladas de muestras clínicas.

- La identificación se basa en pruebas bioquímicas realizadas en terrenos de cultivo que contienen substratos específicos en los pozos de **1-LDC** a **10-OX**.
- El antibiograma se evalúa en base al crecimiento o a la inhibición de los microorganismos en terrenos que contienen el antibiótico y un indicador de crecimiento en los pozos de **11-AK** a **23-SXT**. El pozo **24-C** no contiene antibióticos, sino solamente el terreno de cultivo y el indicador y sirve como control del crecimiento microbiano para el antibiograma.

COMPOSICIÓN

Tabla n°2

Pozo	Contenido
1-LDC	Terreno para la evidenciación de la lisina descarboxilasa
2-ODC	Terreno para la evidenciación de la ornitina descarboxilasa
3-H₂S	Terreno para la evidenciación de la producción de hidrógeno sulfurado
4-IND	Terreno para la evidenciación del indol
5-LAC	Terreno para la evidenciación de la fermentación de la lactosa
6-DUL	Terreno para la evidenciación de la fermentación del dulcitol
7-PA	Terreno para la evidenciación de la fenilalanina desaminasa
8-UR	Terreno para la evidenciación de la hidrólisis de la urea
9-CIT	Terreno para la evidenciación de la utilización del citrato
10-OX	Terreno para la evidenciación de la oxidasa
11-AK	Terreno que contiene Amikacina - 32 µg/ml
12-CN	Terreno que contiene Gentamicina - 8 µg/ml
13-TOB	Terreno que contiene Tobramicina - 8 µg/ml
14-TZP	Terreno que contiene Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Terreno que contiene Fosfomicina - 200 µg/ml
16-CFP	Terreno que contiene Cefoperazona - 64 µg/ml
17-CTX	Terreno que contiene Cefotaxima - 64 µg/ml
18-CAZ	Terreno que contiene Ceftazidima - 32 µg/ml
19-AMS	Terreno que contiene Ampicilina + Sulbactam - 32/16 µg/ml
2-NA	Terreno que contiene Ácido Nalidixico - 32 µg/ml
21-CIP	Terreno que contiene Ciprofloxacina - 4 µg/ml
22-LEV	Terreno que contiene Levofloxacina - 8 µg/ml
23-SXT	Terreno que contiene Co-Trimoxazolo - 8 µg/ml
24-C	Terreno sin antibióticos

Suspension Medium(g/l): Extracto de levadura **5g**; Peptona de carne **3g**; Glucosa **2g**; Agua destilada **1000,0 ml**
pH 6.8±0.2

RECOLECCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las colonias a someter al test de identificación bioquímica y al antibiograma con INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI se tienen que tomar de un terreno de cultivo, selectivo o no selectivo, utilizado para el aislamiento de las Enterobacterias.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Tomar un sistema del kit.
2. Tras asegurarse, con oportunas investigaciones, que las colonias desarrolladas en terrenos de cultivo pertenecen presuntivamente al grupo de los Enterobacterias, tomar una o más colonias morfológicamente similares, bien aisladas, de un terreno de cultivo sólido y ponerlas en suspensión en 5 ml de solución fisiológica para uso microbiológico a fin de obtener una turbidez equivalente a 0,5 McFarland (**Suspensión bacteriana**).
3. Transferir:
 - 0,2 ml de **Suspensión bacteriana** en los primeros 10 pozos y añadir a los pozos **1-LDC**, **2-ODC**, **3-H₂S** y **8-UR** 2 gotas de aceite de vaselina para uso microbiológico (IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA).
 - 0,01 ml de **Suspensión bacteriana** en la ampolla de **Suspension Medium** contenido en el kit y distribuir 0,2 ml en los pozos de **11-AK** a **24-C**. (ANTIBIOGRAMA).
4. Cubrir el sistema con la tapa al efecto e incubar a 36 °C ± 1°C por 18-24 horas.
5. Después de la incubación, añadir:
 - 2 gotas de Kovac's Reagent al pozo **4-IND** (TEST DEL INDOL).
 - 1 disco de OXIDASE DISC al pozo **10-OX** (TEST DE LA OXIDASA).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA

Interpretar los resultados de los primeros 10 pozos utilizando la tabla nº3 y formar el código numérico de 4 cifras siguiendo las instrucciones indicadas en el párrafo **FORMACIÓN DEL CÓDIGO NUMÉRICO**. Luego remontar a la identificación bacteriana sirviéndose del tabulado de los códigos numéricos (tabla nº5).

ANTIBIOGRAMA

Observar el viraje de color de los pozos de **11-AK** a **23-SXT** e interpretar los resultados sirviéndose de la tabla nº3. El pozo de control (**24-C**) tiene que resultar positivo (amarillo). En caso de que resultara negativo (azul o gris), es necesario verificar la vitalidad de la inoculación, su correcta preparación y proceder a la repetición del test utilizando un nuevo sistema.

Tabla nº3

Pozo	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA	Color pozo	
		Reacción positiva	Reacción negativa
1-LDC	Descarboxilación de la lisina	Violeta	Amarillo-Marrón
2-ODC	Descarboxilación de la ornitina	Violeta	Amarillo-Marrón
3 -H₂S	Producción de hidrógeno sulfurado	Negro	Amarillo
4-IND	Test del indol	Anillo rosa-rojo	Amarillo
5-LAC	Fermentación de la lactosa	Amarillo	Azul-Verde
6-DUL	Fermentación del dulcitol	Amarillo	Azul-Verde
7-PA	Desaminación de la fenilalanina	Negro-Marrón	Amarillo
8-UR	Hidrólisis de la urea	Rojo-Fucsia	Amarillo-Anaranjado
9-CIT	Utilización del citrato	Azul-Verde oscuro	Verde
10-OX	Test de la oxidasa	Azul-Púrpura (reacción inmediata)	Incoloro

ANTIBIOGRAMA		
COLOR POZO	CRECIMIENTO BACTERIANO	INTERPRETACIÓN
Azul	Inhibida	S = Sensible
Gris	Intermedia	I = Sensibilidad intermedia
Amarillo	Buena	R = Resistente

FORMACIÓN DEL CÓDIGO NUMÉRICO

1) Los 10 tests bioquímicos están divididos en 3 grupos que contienen 3 tests y un grupo que contiene 1 test, y cada uno es indicado por un valor de resultado positivo de 1,2,4.

- Valor 1: primer test positivo de cada grupo
- (LDC, IND, PA,OX)
- Valor 2: segundo test positivo de cada grupo
- (ODC,LAC,UR)
- Valor 4: tercer test positivo de cada grupo
- (H₂S, DUL,CIT)
- Valor cero: reacciones negativas de cada grupo

2) Añadiendo en cada grupo los números de las reacciones positivas, se obtiene un código de 4 cifras que, sirviéndose del tabulado de los códigos numéricos, permite identificar el microorganismo en examen, como en el ejemplo.

	Grupo I			Grupo II			Grupo III			Grupo IV
	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
Codigo de resultado positivo	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
Resultados	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Suma de los códigos	3			3			0			0
CÓDIGO NUMÉRICO: 3300 IDENTIFICACIÓN: E.coli										

ESQUEMA DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS

Tabla nº4

Microorganismos	Grupo I			Grupo II			Grupo III			Grupo 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>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Reacción Positiva

- : Reacción Negativa

V: Reacción Variable

*Dulcitol: Algunas cepas de *Salmonella* fermentan lentamente el dulcitol, por lo tanto inicialmente se pueden identificar como *Arizona spp.* Es necesario, pues, realizar una prueba de confirmación usando un antisuero polivalente para *Salmonella*.

TABULADO DE LOS CÓDIGOS NUMÉRICOS

Tabla n°5

Código	Microrganismo	Código	Microrganismo	Código	Microrganismo	Código	Microrganismo
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</i> spp.	6320	<i>Citrobacter</i> spp.
			<i>Enterobacter cloacae</i> 3%	4400	<i>Citrobacter</i> spp.	6340	<i>Citrobacter</i> spp.
0300	<i>E.coli</i>						
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>	3100	<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>Citrobacter</i> spp.	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.
2130	<i>Shigella</i> spp. 55.4%	4170	<i>Proteus vulgaris</i>	6120	<i>Citrobacter</i> spp.	7400	<i>Salmonella</i> spp.
	<i>Morganella morganii</i>	4200	<i>Citrobacter</i> spp.	6140	<i>Citrobacter</i> spp.	7440	<i>Salmonella</i> spp.

CONTROL CALIDAD

Cada lote de INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI se somete al control calidad utilizando los siguientes microorganismos ATCC de referencia.

<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028

FACTORES QUE PUEDEN INVALIDAR LOS RESULTADOS

No correcta estandarización de la inoculación; aplicación del método a microorganismos no pertenecientes al grupo de las Enterobacterias; cultivos mixtos o contaminados; uso de sistemas o de reactivos caducados; no correcta aplicación de la técnica de uso.

LÍMITES Y ADVERTENCIAS

La identificación de *Salmonella spp.* y de *Shigella spp.* se tiene que confirmar utilizando antisueros adecuados. Para la identificación definitiva de los microorganismos en algunos casos puede ser necesario recurrir a tests suplementarios de confirmación.

PERFORMANCE

Los resultados de la identificación bacteriana obtenidos con el sistema INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI concuerdan con los de los métodos de identificación tradicionales (Piccolomini et al.⁽⁴⁾).

Los resultados del antibiograma obtenidos con el sistema INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI concuerdan con los obtenidos con el método de difusión radial según Bauer et al.⁽⁵⁾ recomendado por Food and Drug Administration (FDA) y por National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A ^(1,8).

PRECAUCIONES

El producto, INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI, no se clasifica como peligroso según la legislación vigente ni contiene sustancias nocivas en concentraciones $\geq 1\%$, por lo tanto no requiere la disponibilidad de la Ficha de Seguridad. INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI es un dispositivo desechable a utilizar sólo para uso diagnóstico *in vitro*, está destinado a un ámbito profesional y tiene que ser usado en laboratorio por operadores adecuadamente formados, con métodos aprobados de asepsia y seguridad con respecto a los agentes patógenos.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C en su estuche original. No conservar cerca de fuentes de calor y evitar excesivas variaciones de temperatura. En estas condiciones el producto es válido hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No utilizar después de esta fecha. Eliminar si hay signos de deterioro.

ELIMINACIÓN DEL MATERIAL UTILIZADO

Después de la utilización INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI y el material que ha entrado en contacto con la muestra tienen que ser descontaminados y eliminados de acuerdo con las técnicas en uso en laboratorio para la descontaminación y la eliminación de material potencialmente infecto.

PRESENTACIÓN

Producto	Código	Estuche
INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI	71714	20 tests

TABLA DE LOS SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO	SÍMBOLO	SIGNIFICADO
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		No reutilizar
	Fabricante		Contenido suficiente para <n> ensayos
	Referência de catálogo		Frágil, manipular con precaución
	Fecha de caducidad		Atencion, ver instrucciones de uso
	Limite de temperatura		Código de lote



INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI

Sistema calorimétrico para a identificação bioquímica e o antibiograma das enterobactérias

DESCRIÇÃO

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI é um sistema com 24 cavidades que contêm substratos bioquímicos e antibióticos exsiccados para a identificação bioquímica e o antibiograma das enterobactérias.

O sistema é inoculado com a suspensão bacteriana do microrganismo em exame e incubado a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas. Os testes para a identificação e para o antibiograma são interpretados avaliando a viragem da cor das várias cavidades do sistema.

CONTEÚDO DAS CONFEÇÕES

A confeção contém:

- 20 Sistemas INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI
- 20 Ampolas de Suspension Medium (7.0 ml/ampola)
- 20 Oxidase Disc
- 1 Folha de instruções

PRODUTOS NECESSÁRIOS NÃO CONTIDOS

- Óleo de vaselina para uso microbiológico (Vaseline oil 2 frascos de 50 ml).....cód. 80278
- Physiological Solution (20 ampolas de 7.0 ml/ampola).....cód. 20095
- Kovac's Reagent (2 frascos de 25 ml).....cód. 80270
- Material vário para laboratório de microbiologia

CONFIGURAÇÃO

O sistema apresenta a configuração indicada na tabela nº1.

Tabela nº1

Placa multi-cavidades	IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA
1-LDC	Decarboxilação da lisina
2-ODC	Decarboxilação da ornitina
3-H₂S	Produção de hidrogênio sulfatado
4-IND	Teste indologeno
5-LAC	Fermentação da lactose
6-DUL	Fermentação do dulcitol
7-PA	Desaminação da fenilalanina
8-UR	Hidrólise da ureia
9-CIT	Utilização do citrato
10-OX	Teste da oxidase
Placa multi-cavidades	ANTIBIOGRAMA (*)
11-AK	Amikacina - 32 µg/ml
12-CN	Gentamicina - 8 µg/ml
13-TOB	Tobramicina - 8 µg/ml
14-TZP	Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Fosfomicina - 200 µg/ml
16-CFP	Cefoperazona - 64 µg/ml
17-CTX	Cefotaxima - 64 µg/ml
18-CAZ	Ceftazidima - 32 µg/ml
19-AMS	Ampicilina + Sulbactam - 32/16 µg/ml
20-NA	Ácido Nalidíxico - 32 µg/ml
21-CIP	Ciprofloxacina - 4 µg/ml
22-LEV	Levofloxacina - 8 µg/ml
23-SXT	Cotrimoxazol - 8 µg/ml
24-C	Controle do crescimento por antibiograma

(*): A concentração de cada antibiótico é conforme as normas actualizadas NCCLS-January 2004, Vol 24 N°1.(1)

PRINCÍPIO DO MÉTODO

INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI permite de realizar simultaneamente a identificação bioquímica e o antibiograma das enterobactérias isoladas das amostras clínicas.

- A identificação se baseia em provas bioquímicas realizadas em terrenos culturais que contêm substratos específicos nas cavidades de **1-LDC** a **10-OX**.
- O antibiograma é avaliado em base ao crescimento ou a inibição dos microrganismos em terrenos que contêm o antibiótico e um indicador de crescimento nas cavidades de **11-AK** a **23-SXT**. A cavidade **24-C** não contém antibióticos, mas, somente o terreno cultural e o indicador e serve como controlo do crescimento microbial para o antibiograma.

COMPOSIÇÃO

Tabela nº2

Placa multi-cavidades	Conteúdo
1-LDC	Terreno para a evidencia da lisina decarboxilase
2-ODC	Terreno para a evidencia da ornitina decarboxilase
3-H₂S	Terreno para a evidencia de produção de hidrogeno sulfatado
4-IND	Terreno para a evidencia de indologéneo
5-LAC	Terreno para a evidencia da fermentação da lactose
6-DUL	Terreno para a evidencia da fermentação do dulcitol
7-PA	Terreno para a evidencia da fenilalanina desaminase
8-UR	Terreno para a evidencia da hidrolise da ureia
9-CIT	Terreno para a evidencia da utilização do citrato
10-OX	Terreno para a evidencia da oxidase
11-AK	Terreno que contém Amikacina - 32 µg/ml
12-CN	Terreno que contém Gentamicina - 8 µg/ml
13-TOB	Terreno que contém Tobramicina - 8 µg/ml
14-TZP	Terreno que contém Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Terreno que contém Fosfomicina - 200 µg/ml
16-CFP	Terreno que contém Cefoperazona - 64 µg/ml
17-CTX	Terreno que contém Cefotaxima - 64 µg/ml
18-CAZ	Terreno que contém Ceftazidima - 32 µg/ml
19-AMS	Terreno que contém Ampiciline + Sulbactam - 32/16 µg/ml
2-NA	Terreno que contém Ácido Nalidixico - 32 µg/ml
21-CIP	Terreno que contém Ciprofloxacino - 4 µg/ml
22-LEV	Terreno que contém Levofloxacina - 8 µg/ml
23-SXT	Terreno que contém Cotrimoxazol - 8 µg/ml
24-C	Terreno sem antibióticos

Suspension Medium (g/l): Extracto de fermento **5g**; Peptona de carne **3g**; Glicose **2g**; Água destilada **1000.0 ml**
pH 6.8±0.2

RECOLHIMENTO E CONSERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

As colónias que devem ser submetidas ao teste de identificação bioquímica e ao antibiograma com INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI devem ser retomados de um terreno cultural, selectivo ou não selectivo, utilizado para o isolamento das Enterobactérias.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Pegar um sistema do kit.
2. Depois de ter-se certificado com adequadas pesquisas que as colónias desenvolvidas nos terrenos culturais presumivelmente pertencem ao grupo das Enterobactérias, pegar uma ou mais colónias morfológicamente semelhantes, bem isoladas, de um terreno de cultura sólido e suspende-las em 5 ml de solução fisiológica para uso microbiológico de modo a obter uma aparência túrbida equivalente a 0,5 McFarland (**Suspensão bacterica**).
3. Passar:
 - 0,2 ml de **Suspensão bacterica** nas primeiras 10 cavidades e adicionar nas cavidades **1-LDC**, **2-ODC**, **3-H₂S** e **8-UR** 2 gotas de óleo de vaselina para uso microbiológico (IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA).
 - 0,01 ml de **Suspensão bacterica** na ampola de **Suspension Medium** contido do kit e distribuir 0,2 ml nas cavidades de **11-AK** a **24-C**. (ANTIBIOGRAMA).
4. Cobrir o sistema com a adequada tampa e incubar a 36 °C ± 1°C por 18-24 horas.
5. Depois da incubação, adicionar:
 - 2 gotas de Kovac's Reagent na cavidade **4-IND** (TESTE INDOLOGÉNEO).
 - 1 disco de OXIDASE DISC na cavidade **10-OX** (TESTE DA OXIDASE).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA

Interpretar os resultados das primeiras 10 cavidades utilizando a tabela nº3 e formar o código numérico de 4 dígitos seguindo as instruções indicadas ao parágrafo **FORMAÇÃO DO CÓDIGO NUMÉRICO**. Portanto, efectuar a identificação bacterica servindo-se da tabela dos códigos numéricos (tabela nº 5).

ANTIBIOGRAMA

Observar a viragem da cor das cavidades de **11-AK** a **23-SXT** e interpretar os resultados servindo-se da tabela nº3. A cavidade de controlo (**24-C**) deve resultar positiva (amarelo). No caso em que resultasse negativa (azul ou cinzento), é necessário verificar a vitalidade do inóculo, a sua correcta preparação e proceder com a repetição do teste utilizando um novo sistema.

Tabela nº3

Placa multi-cavidades	IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA	Cor da placa multi-cavidades	
		Reacção positiva	Reacção negativa
1-LDC	Decarboxilação da lisina	Viola	Amarelo-Marrom
2-ODC	Decarboxilação da ornitina	Viola	Amarelo-Marrom
3 -H₂S	Produção de Hidrogeno sulfatado	Preto	Amarelo
4-IND	Teste indologéneo	Anel cor-de-rosa/vermelho	Amarelo
5-LAC	Fermentação da lactose	Amarelo	Azul-Verde
6-DUL	Fermentação do dulcitol	Amarelo	Azul-Verde
7-PA	Desaminação da fenilalanina	Preto-Marrom	Amarelo
8-UR	Hidrolise da ureia	Vermelho-púrpura	Amarelo/Cor-de-laranja
9-CIT	Utilização do citrato	Azul-Verde escuro	Verde
10-OX	Teste da oxidase	Azul-turquesa (reação imediata)	Incolor

ANTIBIOGRAMA		
COR DA PLACA MULTI-CAVIDADES	CRESCIMENTO BACTÉRICO	INTERPRETAÇÃO
Azul	Inibido	S = Sensível
Cinzento	Intermédio	I = Sensibilidade intermédia
Amarelo	Bom	R = Resistente

FORMAÇÃO DO CÓDIGO NUMÉRICO

1) Os 10 testes bioquímicos são divididos em 3 grupos que contêm 3 testes e um grupo que contém 1 teste, cada um é indicado de um valor de positividade de 1,2,4.

- Valor 1: primeiro teste positivo de cada grupo
- (LDC, IND, PA, OX)
- Valor 2: segundo teste positivo de cada grupo
- (ODC, LAC, UR)
- Valor 4: terceiro teste positivo de cada grupo
- (H₂S, DUL, CIT)
- Valor zero: reacções negativas de cada grupo

2) Ao adicionar em cada grupo os números das reacções positivas, se obtém um código com 4 dígitos que, servindo-se da tabela dos códigos numéricos, permite de identificar o microrganismo em exame, como no exemplo.

	Grupo I			Grupo II			Grupo III			Grupo IV
	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
Código de positividade	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
Resultados	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Soma dos códigos	3			3			0			0
CÓDIGO NUMÉRICO: 3300				IDENTIFICAÇÃO: E.coli						

ESQUEMA DAS REACÇÕES BIOQUÍMICAS

Tabela nº 4

Microrganismos	Grupo I			Grupo II			Grupo III			Grupo 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>Salmonela 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>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Reacção Positiva

- : Reacção Negativa

V: Reacção Variável

*Dulcitol: Algumas estirpes de *Salmonela* fermentam lentamente o dulcitol, portanto, podem ser inicialmente identificados como *Arizona spp.* É necessário realizar uma prova de confirmação utilizando um anti-soro polivalente para a *Salmonela*.

TABELA DOS CÓDIGOS NUMÉRICOS

Tabela nº 5

Código	Microorganismo	Código	Microorganismo	Código	Microorganismo	Código	Microorganismo
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</i> spp.	6320	<i>Citrobacter</i> spp.
0300	<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>	3100	<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>Citrobacter</i> spp.	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.
2130	<i>Shigella</i> spp. 55.4%	4170	<i>Proteus vulgaris</i>	6120	<i>Citrobacter</i> spp.	7400	<i>Salmonella</i> spp.
	<i>Morganella morganii</i>	4200	<i>Citrobacter</i> spp.	6140	<i>Citrobacter</i> spp.	7440	<i>Salmonella</i> spp.

CONTROLO DA QUALIDADE

Cada lote de INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTÉRI é submetido ao controlo de qualidade utilizando os microrganismos ATCC de referência.

<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028

FACTORES QUE PODEM INVALIDAR OS RESULTADOS

Não correcta padronização do inóculo; aplicação do método em microrganismos que não pertence ao grupo das Enterobactérias; culturas mistas ou poluídas; uso de sistemas ou de reagentes vencidos; não correcta aplicação da técnica de uso.

LIMITES E ADVERTÊNCIAS

A identificação de *Salmonella spp.* e de *Shigella spp.* deve ser confirmada utilizando anti-soros adequados. Para a identificação definitiva dos microrganismos em alguns casos pode ser necessário recorrer aos testes suplementares de confirmação.

PERFORMANCE

Os resultados da identificação bacteriana obtidos com o sistema INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI concordam com aqueles dos métodos de identificação tradicionais (Piccolomini et al ⁽⁴⁾)

Os resultados do antibiograma obtidos com o sistema INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI concordam com aqueles obtidos com o método de difusão radial conforme Bauer et al.⁽⁵⁾ recomendado pela Food and Drug Administration (FDA) e pela National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A ^(1,8).

PRECAUÇÕES

O produto, INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI, não pode ser classificado como perigoso nos termos da legislação em vigor, nem contém substâncias nocivas em concentrações $\geq 1\%$, portanto, não necessita da disponibilidade da Ficha de Segurança. O INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI é um dispositivo de uso único que deve ser utilizado somente para uso diagnóstico *in vitro*, é destinado a um âmbito profissional e deve ser utilizado em laboratório por operadores adequadamente treinados, com métodos aprovados de assepsia e de segurança nos confrontos dos agentes patogénicos.

CONSERVAÇÃO

Conserve a 2-8°C na sua embalagem original. Não conserve próximo a fontes de calor e evite excessivas variações de temperatura. Nestas condições o produto é válido até a data de vencimento indicada na etiqueta. Não utilize além desta data. Elimine caso sejam presentes sinais de deterioração.

ELIMINAÇÃO DO MATERIAL UTILIZADO

Depois de utilizar o INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI e o material que entrou em contacto com a amostra devem ser descontaminados e eliminados em acordo com as técnicas em uso em laboratório para a descontaminação e a eliminação de material potencialmente infecto.

APRESENTAÇÃO

Produto	Código	Confeção
INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI	71714	20 tests

TABELA DOS SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO	SÍMBOLO	SIGNIFICADO
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Não reutilizar
	Fabricante		Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	Referência de catálogo		Frágil, manusear com cuidado
	Prazo de validade		Atenção, consulte a documentação incluída
	Limites de temperatura		Código do lote



INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI

Χρωματικό σύστημα για τον βιοχημικό προσδιορισμό και το αντιβιογράμμα των εντεροβακτηριδίων

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI είναι ένα σύστημα με 24 υποδοχείς που περιέχουν βιοχημικά υποστρώματα και ξηραμένα αντιβιοτικά για τον βιοχημικό προσδιορισμό και το αντιβιογράμμα των εντεροβακτηριδίων. Το σύστημα εμβολιάζεται με εναιώρημα βακτηριδίων του εξεταζόμενου μικροοργανισμού και επωάζεται στους 36°C. ± 1°C για 18-24 ώρες. Τα τεστ προσδιορισμού και για αντιβιογράμματα ερμηνεύονται αξιολογώντας την μεταβολή χρώματος των διαφόρων υποδοχέων στο σύστημα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Η συσκευασία περιλαμβάνει:

- 20 Συστήματα INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI
- 20 Φιάλη Suspension Medium (7.0 ml/φιάλη)
- 20 Oxidase Disc
- 1 Φύλλο οδηγιών

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΕΡΙΕΧΟΝΤΑΙ

- Λάδι βαζελίνης για μικροβιολογική χρήση (Vaseline oil 2 φιαλίδια των 50 ml).....κωδ. 80278
- Physiological Solution (20 φιάλη 7.0 ml/φιάλη).....κωδ. 20095
- Kovac's Reagent (2 φιάλες των 25 ml).....κωδ. 80270
- Υλικά διάφορα για το μικροβιολογικό εργαστήριο

ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ

Η διαμόρφωση του συστήματος παρουσιάζεται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1

Υποδοχέας	ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ
1-LDC	Αποκαρβοξυλίωση λυσίνης
2-ODC	Αποκαρβοξυλίωση ορνιθίνης
3-H ₂ S	Παραγωγή θειώδους οξέως
4-IND	Τεστ ινδόλου
5-LAC	Ζύμωση λακτόζης
6-DUL	Ζύμωση γλυκίτολης
7-PA	Απαμίνωση φαινυλαλανίνης
8-UR	Υδρόλυση ουρίας
9-CIT	Χρήση κιτρικού
10-OX	Τεστ οξειδάσης
Υποδοχέας	ANTIBIOGRAMMA (*)
11-AK	Αμικασίνη - 32 µg/ml
12-CN	Γενταμικίνη - 8 µg/ml
13-TOB	Τομπραμυκίνη - 8 µg/ml
14-TZP	Piperacillin+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Fosfomicin - 200 µg/ml
16-CFP	Κεφοπεραζόνη - 64 µg/ml
17-CTX	Cefotaxim - 64 µg/ml
18-CAZ	Ceftazidim - 32 µg/ml
19-AMS	Ampicillin + Sulbactam - 32/16 µg/ml
20-NA	Ναλιδιξικό οξύ - 32 µg/ml
21-CIP	Σιπροφλοξακίνη - 4 µg/ml
22-LEV	Levofloxacin - 8 µg/ml
23-SXT	Co-Trimossazolo - 8 µg/ml
24-C	Έλεγχος ανάπτυξης για το αντιβιογράμμα

(*): Η συγκέντρωση κάθε αντιβιοτικού συμμορφώνεται με τα ενημερωμένα πρότυπα NCCLS-Ιανουάριος 2004, Τόμ. 24 N°1.⁽¹⁾

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI επιτρέπει την ταυτόχρονη εκτέλεση βιοχημικού προσδιορισμού και αντιβιογράμματος των εντεροβακτηριδίων που έχουν απομονωθεί από κλινικά δείγματα.

- Ο προσδιορισμός βασίζεται σε βιοχημικές δοκιμές που έγιναν σε υλικά καλλιέργειας που περιείχαν ειδικά υποστρώματα στους υποδοχείς **1-LDC** έως **10-OX**.
- Το αντιβιογράμμα αξιολογείται με βάση την ανάπτυξη ή την αναστολή των μικροοργανισμών σε υλικά που περιέχουν αντιβιοτικό και έναν δείκτη ανάπτυξης στους υποδοχείς **11-AK** έως **23-SXT**. Ο υποδοχέας **24-C** δεν περιέχει αντιβιοτικά, αλλά μόνο υλικό καλλιέργειας και ένα δείκτη ο οποίος χρησιμεύει ως έλεγχος της μικροβιακής ανάπτυξης για το αντιβιογράμμα.

ΣΥΝΘΕΣΗ

Πίνακας 2

Υποδοχέας	Περιεχόμενο
1-LDC	Υπόστρωμα για τον τονισμό της λυσίνης δεκαρβοξυλάση
2-ODC	Υπόστρωμα για τον τονισμό αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης
3-H₂S	Υλικό καλλιέργειας με υπόστρωμα για την παραγωγή και τον τονισμό θειώδους οξέως
4-IND	Υλικό καλλιέργειας με υπόστρωμα για το τεστ ινδόλου
5-LAC	Υλικό καλλιέργειας για τον τονισμό της ζύμωσης λακτόζης
6-DUL	Υλικό καλλιέργειας για τον τονισμό ζύμωσης γλυκίτολης
7-PA	Υλικό καλλιέργειας για τον τονισμό απαμίνωσης φαινυλαλανίνης
8-UR	Υλικό καλλιέργειας για τον τονισμό υδρόλυσης της ουρίας
9-CIT	Υλικό καλλιέργειας για τον τονισμό της χρήσης κιτρικού
10-OX	Υλικό καλλιέργειας για τον τονισμό οξειδάσης
11-AK	Υπόστρωμα που περιέχει Αμικασίνη - 32 µg/ml
12-CN	Υπόστρωμα που περιέχει Γενταμικίνη - 8 µg/ml
13-TOB	Υπόστρωμα που περιέχει Τομπραμυκίνη - 8 µg/ml
14-TZP	Υπόστρωμα που περιέχει Piperacillin+Tazobactam - 128/4 µg/ml
15-FOS	Υπόστρωμα που περιέχει Fosfomicin - 200 µg/ml
16-CFP	Υπόστρωμα που περιέχει Κεφοπεραζόνη - 64 µg/ml
17-CTX	Υπόστρωμα που περιέχει Cefotaxim - 64 µg/ml
18-CAZ	Υπόστρωμα που περιέχει Ceftazidim - 32 µg/ml
19-AMS	Υπόστρωμα που περιέχει Ampicillina + Sulbactam - 32/16 µg/ml
2-NA	Υπόστρωμα που περιέχει Ναλιδιξικό οξύ - 32 µg/ml
21-CIP	Υπόστρωμα που περιέχει Σιπροφλοξακίνη - 4 µg/ml
22-LEV	Υπόστρωμα που περιέχει Levofloxacin - 8 µg/ml
23-SXT	Υπόστρωμα που περιέχει Co-Trimossazol - 8 µg/ml
24-C	Υπόστρωμα χωρίς αντιβιοτικά

Εναιώρημα (g/l): Απόσταγμα ζύμης **5g**, Πεπτόνη κρέατος **3 g**, Γλυκόζη **2 g**, Απεσταγμένο νερό **1000.0 ml**, pH **6.8±0.2**

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Οι αποικίες που θα υποστούν το τεστ βιοχημικού προσδιορισμού και το αντιβιογράμμα με INTEGRAL SYSTEM ENTEROBATTERI πρέπει να παραλαμβάνονται από ένα επιλεκτικό ή μη επιλεκτικό υπόστρωμα καλλιέργειας, που χρησιμοποιείται για την απομόνωση των Εντεροβακτηριδίων.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΕΣΤ

1. Παραλάβετε ένα σύστημα από το κιτ
2. Αφού βεβαιωθείτε με την κατάλληλη έρευνα ότι οι αποικίες που έχουν αναπτυχθεί στα υποστρώματα καλλιέργειας ανήκουν πιθανότατα στην ομάδα εντεροβακτηριδίων, παραλάβετε μία ή περισσότερες αποικίες παρόμοιες από μορφολογικής πλευράς, καλά απομονωμένες, από ένα στερεό υπόστρωμα καλλιέργειας και αραιώστε σε 5 ml φυσιολογικού διαλύματος για μικροβιολογική χρήση με τρόπο ώστε να επιτύχετε θολότητα ισοδύναμη με 0,5 McFarland (**Βακτηριακού εναιωρήματος**).
3. Μεταφέρετε:
 - 0,2 ml **Βακτηριακού εναιωρήματος** στους 10 πρώτους υποδοχείς και προσθέστε στους υποδοχείς **1-LDC, 2-ODC, 3-H₂S** και **8-UR** 2 σταγόνες λαδιού βαζελίνης για μικροβιολογική χρήση (ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ).
 - 0,01 ml **Βακτηριακού εναιωρήματος** στη φιάλη **Suspension Medium** και κατανέμετε 0,2 ml στους υποδοχείς από **11-AK** έως **24-C**. (ANTIBIOGRAMMA).
4. Καλύψτε το σύστημα με το κατάλληλο καπάκι και επωάστε στους 36 °C ± 1°C για 18-24 ώρες.
5. Μετά την επώαση προσθέστε:
 - 2 σταγόνες Kovac's Reagent στον υποδοχέα **4-IND** (ΤΕΣΤ ΙΝΔΟΛΟΥ)
 - 1 δισκίο OXIDASE DISC στον υποδοχέα **10-OX** (ΤΕΣΤ ΟΞΕΙΔΑΣΗΣ)

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

Ερμηνεύστε τα αποτελέσματα των πρώτων 10 υποδοχέων χρησιμοποιώντας τον πίνακα αρ. 3 και σχηματίστε τον αριθμητικό κωδικό 4 ψηφίων ακολουθώντας τις οδηγίες που αναφέρονται εδώ στην παράγραφο **ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΟΥ ΚΩΔΙΚΟΥ**. Κάντε λοιπόν τον βακτηριδιακό προσδιορισμό με τη βοήθεια της λίστας αριθμητικών κωδικών (πίνακας 5).

ANTIBIOGRAMMA

Παρατηρήστε τη μεταβολή χρώματος στους υποδοχείς από **11-AK** έως **23-SXT** και ερμηνεύστε τα αποτελέσματα με τη βοήθεια του πίνακα 3. Ο υποδοχέας ελέγχου (**24-C**) πρέπει να είναι θετικός (κίτρινος). Στην περίπτωση που παρουσιάζεται αρνητικός (μπλε ή γκρι), είναι αναγκαίο να γίνει έλεγχος της ζωτικότητας επώασης, της σωστής προετοιμασίας και να προχωρήσετε στην επανάληψη του τεστ χρησιμοποιώντας ένα καινούργιο σύστημα.

Πίνακας 3

Υποδοχέας	ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ	Χρώμα υποδοχέα	
		Θετική αντίδραση	Αρνητική αντίδραση
1-LDC	Αποκαρβοξυλίωση λυσίνης	Μωβ	Κίτρινο-Καφέ
2-ODC	Αποκαρβοξυλίωση ορνιθίνης	Μωβ	Κίτρινο-Καφέ
3 -H₂S	Παραγωγή θειώδους οξέως	Μαύρο	Κίτρινο
4-IND	Τεστ ινδόλου	Δακτύλιος ροζ-κόκκινος	Κίτρινο
5-LAC	Ζύμωση λακτόζης	Κίτρινο	Μπλε-Πράσινο
6-DUL	Ζύμωση γλυκίτολης	Κίτρινο	Μπλε-Πράσινο
7-PA	Απαμίνωση φαινυλαλανίνης	Μαύρο-Καφέ	Κίτρινο
8-UR	Υδρόλυση ουρίας	Κόκκινο-Φούξια	Κίτρινο-Πορτοκαλί
9-CIT	Χρήση κιτρικού	Μπλε-Πράσινο σκούρο	Πράσινο
10-OX	Τεστ οξειδάσης	Μπλε-Πορφυρό (άμεση αντίδραση)	Άχρωμο

ANTIBIOGRAMMA		
ΧΡΩΜΑ ΥΠΟΔΟΧΕΑ	ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ	ΕΡΜΗΝΕΙΑ
Μπλε	Αναστέλλεται	S = Ευαίσθητο
Γκρι	Ενδιάμεση	I = Ενδιάμεση ευαισθησία
Κίτρινο	καλή	R = Ανθεκτικό

ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΟΥ ΚΩΔΙΚΟΥ

1) Τα 10 βιοχημικά τεστ χωρίζονται σε 3 ομάδες που περιέχουν 3 τεστ και μία ομάδα που περιέχει 1 τεστ, ενώ κάθε ένα από αυτά υποδεικνύονται με έναν αριθμό θετικότητας 1,2,4.

- Αξία 1: πρώτο θετικό τεστ κάθε ομάδας
(LDC, IND, PA,OX)
- Αξία 2: δεύτερο θετικό τεστ κάθε ομάδας
(ODC,LAC,UR)
- Αξία 4: τρίτο θετικό τεστ κάθε ομάδας
(H₂S, DUL,CIT)
- Αξία μηδέν: αρνητικές αντιδράσεις κάθε ομάδας

2) Προσθέτοντας σε κάθε ομάδα τους αριθμούς των θετικών αντιδράσεων, θα έχουμε έναν κωδικό με 4 ψηφία ο οποίος, χρησιμοποιώντας τη λίστα αριθμητικών κωδικών, μας επιτρέπει να προσδιορίσουμε τον υπό εξέταση μικροοργανισμό όπως στο παράδειγμα.

	Ομάδα I			Ομάδα II			Ομάδα III			Ομάδα IV
	LDC	ODC	H ₂ S	IND	LAC	DUL	PA	UR	CIT	OX
Κωδικός θετικότητας	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
Αποτελέσματα	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Άθροισμα κωδικών	3			3			0			0
ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΟΣ ΚΩΔΙΚΟΣ: 3300				ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ: E.coli						

ΣΧΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

Πίνακας 4

Μικροοργανισμοί	Ομάδα I			Ομάδα II			Ομάδα III			Ομάδα 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>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

+ : Θετική αντίδραση

- : Αρνητική αντίδραση

V: Αντίδραση μεταβλητή

*Γλυκιτόλη : Ορισμένοι βρόχοι *Salmonella* ζυμώνουν αργά τη γλυκιτόλη, ως εκ τούτου ενδέχεται αρχικά να προσδιοριστούν ως *Arizona spp.* Είναι λοιπόν αναγκαίο να γίνει μια δοκιμή επιβεβαίωσης χρησιμοποιώντας πολυδύναμο αντιορό για *Salmonella*.

ΛΙΣΤΑ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΩΝ ΚΩΔΙΚΩΝ

Πίνακας 5

Κωδικός	Μικροοργανισμοί	Κωδικός	Μικροοργανισμοί	Κωδικός	Μικροοργανισμοί	Κωδικός	Μικροοργανισμοί
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.
0300	<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>	3100	<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.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Κάθε παρτίδα INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI υπόκειται σε έλεγχο ποιότητας χρησιμοποιώντας τους παρακάτω μικροοργανισμούς αναφοράς.

<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΝΔΕΧΕΤΑΙ ΝΑ ΑΚΥΡΩΣΟΥΝ ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Όχι σωστή τυποποίηση επώασης, εφαρμογή της μέθοδος σε μικροοργανισμούς που δεν ανήκουν στην ομάδα των Εντεροβακτηριδίων, μικτές ή μολυσμένες καλλιέργειες, χρήση συστημάτων ή αντιδραστηρίων που έχουν λήξει, όχι σωστή εφαρμογή της τεχνικής χρήσης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ο προσδιορισμός *Salmonella spp.* και *Shigella spp.* πρέπει να επιβεβαιώνεται χρησιμοποιώντας τους κατάλληλους αντιορούς. Για τον οριστικό προσδιορισμό των μικροοργανισμών σε ορισμένες περιπτώσεις πρέπει να ανατρέξετε σε συμπληρωματικά τεστ επιβεβαίωσης.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα αποτελέσματα βακτηριακού προσδιορισμού που επιτυγχάνονται με το σύστημα INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI συμφωνούν με τα αποτελέσματα των παραδοσιακών μεθόδων προσδιορισμού σε δοκιμαστικό σωλήνα (Piccolomini et al.⁽⁴⁾) Τα αποτελέσματα αντιβιογράμματος που επιτυγχάνονται με το σύστημα INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI συμφωνούν με τα αποτελέσματα της μεθόδου ακτινικής διάχυσης κατά Bauer et al.⁽⁵⁾ που συνιστάται από την Food and Drug Administration (FDA) και από την National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A ^(1,8).

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το προϊόν INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI, δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία ούτε περιέχει βλαβερές ουσίες σε συγκεντρώσεις $\geq 1\%$, γι' αυτό δεν απαιτείται η διαθεσιμότητα της Κάρτας Ασφαλείας. Το INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI είναι μια συσκευή μιας χρήσης που πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*, προορίζεται για επαγγελματική χρήση και πρέπει να χρησιμοποιείται στο εργαστήριο από κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό και με εγκεκριμένες ασηπτικές και ασφαλείς μεθόδους σε σχέση με τις παθογόνες ουσίες.

ΦΥΛΑΞΗ

Φυλάξτε το σε θερμοκρασία 2-8°C στην αρχική του συσκευασία. Δεν πρέπει να φυλάσσεται κοντά σε πηγές θερμότητας και πρέπει να αποφεύγονται οι μεταβολές θερμοκρασίας. Υπό αυτές τις συνθήκες το προϊόν ισχύει μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Μην το χρησιμοποιείτε πέραν αυτής της ημερομηνίας. Μην τα χρησιμοποιείτε εάν παρουσιάζουν σημεία αλλοίωσης.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Μετά τη χρήση το INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI και τα υλικά που ήρθαν σε επαφή με το δείγμα πρέπει να απολυμαίνονται και να απορρίπτονται σύμφωνα με τις συνήθεις τεχνικές εργαστηρίου για την απολύμανση και την απόρριψη πιθανώς μολυσμένου υλικού.

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ

Προϊόν	Κωδικός	Συσκευασία
INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI	71714	20 tests

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

ΣΥΜΒΟΛΟ	ΣΗΜΑΣΙΑ	ΣΥΜΒΟΛΟ	ΣΗΜΑΣΙΑ
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν		Μην κάνετε επαναληπτική χρήση
	Κατασκευαστής		Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις
	Αριθμός καταλόγου		Εύθραυστο, να χρησιμοποιείται με προσοχή
	Ημερομηνία λήξης		Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα
	Περιορισμοί θερμοκρασίας		Αριθμός Παρτίδας



- 1.
2. NCCLS – Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing, eleventh Informational Supplement- January 2004, Vol 24 N°1.
3. Ewing H.E., 1986 Edwards and Ewings “Identification of Enterobacteriaceae”, 4th ed. Burgess Publishing co.Minneapolis
4. Kelly M.T., D.J. Brenne and J.J. Farmer,1985. “Enterobacteriaceae”, p.263-277 E.H.Lennette, A.Balows, W.J. Hauster,Jr.and H.J. Shadomy (ed.) Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology Washington, D.C.
5. Piccolomini R., Di Girolamo A., Catamo G., Cellini L., Allocati N. and Ravagnan G.’ Enterosistem 18-R: description and Comparative Evaluation with Conventional Methods for Identification of Members of the Family *Enterobacteriaceae*. 1991 *J.Clin.Microbiol.* **29**(10), 2300-2304.
6. Baker C. et al. Inoculum Standardization in Antimicrobial susceptibility testing:evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system”. 1983 *J.Clin.Microbiol.* **17**, 450-457.
7. Lampe M/F et al. Relationship of early readings of minimal inhibitory concentrations to the results of overnight tests. 1975. *Ant. Agents Chernoth.* **8**, 429-433.
8. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris and M. Turk. 1966. Antimicrobial susceptibility testing by a standardized single disk method. *AM. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
9. Dati di archivio Liofilchem s.r.l. “Integral System Enterobatteri” (Giugno 2003).



LIOFILCHEM Bacteriology Products

64026 ROSETO D.A. (TE) ITALY- Via Scozia- Zona Ind.le

Tel.+39 085 8930745 - Fax +39 085 8930330

Sito Web: <http://www.liofilchem.net> E-Mail: liofilchem@liofilchem.net