



# **INTEGRAL SYSTEM**

## **ENTEROBATTERI**

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

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

## 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

| <b>Pozzetto</b>         | <b>Contenuto</b>                                            |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <b>1-LDC</b>            | Terreno per evidenziare la decarbossilazione della lisina   |
| <b>2-ODC</b>            | Terreno per evidenziare la decarbossilazione dell'ornitina  |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Terreno per evidenziare la produzione di idrogeno solforato |
| <b>4-IND</b>            | Terreno per evidenziare la produzione dell'indolo           |
| <b>5-LAC</b>            | Terreno per evidenziare la fermentazione del lattosio       |
| <b>6-DUL</b>            | Terreno per evidenziare la fermentazione del dulcitolio     |
| <b>7-PA</b>             | Terreno per evidenziare la deaminazione della fenilalanina  |
| <b>8-UR</b>             | Terreno per evidenziare l'idrolisi dell'urea                |
| <b>9-CIT</b>            | Terreno per evidenziare l'utilizzazione del citrato         |
| <b>10-OX</b>            | Terreno per evidenziare l'enzima citocromo-ossidasi         |
| <b>11-AK</b>            | Terreno contenente Amikacina - 32 µg/ml                     |
| <b>12-CN</b>            | Terreno contenente Gentamicina - 8 µg/ml                    |
| <b>13-TOB</b>           | Terreno contenente Tobramicina - 8 µg/ml                    |
| <b>14-TZP</b>           | Terreno contenente Piperacillina+Tazobactam - 128/4 µg/ml   |
| <b>15-FOS</b>           | Terreno contenente Fosfomicina - 200 µg/ml                  |
| <b>16-CFP</b>           | Terreno contenente Cefoperazone - 64 µg/ml                  |
| <b>17-CTX</b>           | Terreno contenente Cefotaxime - 64 µg/ml                    |
| <b>18-CAZ</b>           | Terreno contenente Ceftazidime - 32 µg/ml                   |
| <b>19-AMS</b>           | Terreno contenente Ampicillina + Sulbactam - 32/16 µg/ml    |
| <b>2-NA</b>             | Terreno contenente Acido Nalidixico - 32 µg/ml              |
| <b>21-CIP</b>           | Terreno contenente Ciprofloxacina - 4 µg/ml                 |
| <b>22-LEV</b>           | Terreno contenente Levofloxacin - 8 µg/ml                   |
| <b>23-SXT</b>           | Terreno contenente Co-Trimossazolo - 8 µg/ml                |
| <b>24-C</b>             | 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-H<sub>2</sub>S** 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 |
| <b>1-LDC</b>            | Decarbossilazione della lisina   | Viola                               | Giallo-Marrone    |
| <b>2-ODC</b>            | Decarbossilazione dell' ornitina | Viola                               | Giallo-Marrone    |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Produzione di Idrogeno solforato | Nero                                | Giallo            |
| <b>4-IND</b>            | Test dell'indolo                 | Anello rosa-rosso                   | Giallo            |
| <b>5-LAC</b>            | Fermentazione del lattosio       | Giallo                              | Blu-Verde         |
| <b>6-DUL</b>            | Fermentazione del dulcitolio     | Giallo                              | Blu-Verde         |
| <b>7-PA</b>             | Deaminazione della fenilalanina  | Nero-Marrone                        | Giallo            |
| <b>8-UR</b>             | Idrolisi dell'urea               | Rosso-Fucsia                        | Giallo-Arancio    |
| <b>9-CIT</b>            | Utilizzazione del citrato        | Blu-Verde scuro                     | Verde             |
| <b>10-OX</b>            | Test dell'ossidasi               | Blu-Porpora<br>(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
- (H<sub>2</sub>S, 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 <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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. <sup>(4)</sup>

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. <sup>(5)</sup> raccomandato dalla Food and Drug Administration (FDA) e dalla National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A <sup>(1,8)</sup>.

## 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  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  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 <sub>2</sub> 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.<sup>(1)</sup>

## 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>                                                  |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>1-LDC</b>            | Culture medium for showing lysine decarboxylase                 |
| <b>2-ODC</b>            | Culture medium for showing ornithine decarboxylase              |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Culture medium for showing production of hydrogen sulphide      |
| <b>4-IND</b>            | Culture medium for showing production of indole                 |
| <b>5-LAC</b>            | Culture medium for showing fermentation of lactose              |
| <b>6-DUL</b>            | Culture medium for showing fermentation of dulcitol             |
| <b>7-PA</b>             | Culture medium for showing phenylalanine deamination            |
| <b>8-UR</b>             | Culture medium for showing hydrolysis of urea                   |
| <b>9-CIT</b>            | Culture medium for showing utilisation of citrate               |
| <b>10-OX</b>            | Culture medium for showing enzyme cytochrome-oxidase            |
| <b>11-AK</b>            | Culture medium containing Amikacin - 32 µg/ml                   |
| <b>12-CN</b>            | Culture medium containing Gentamycin - 8 µg/ml                  |
| <b>13-TOB</b>           | Culture medium containing Tobramycin - 8 µg/ml                  |
| <b>14-TZP</b>           | Culture medium containing Piperacillin+Tazobactam - 128/4 µg/ml |
| <b>15-FOS</b>           | Culture medium containing Fosfomycin - 200 µg/ml                |
| <b>16-CFP</b>           | Culture medium containing Cefoperazone - 64 µg/ml               |
| <b>17-CTX</b>           | Culture medium containing Cefotaxime - 64 µg/ml                 |
| <b>18-CAZ</b>           | Culture medium containing Ceftazidime - 32 µg/ml                |
| <b>19-AMS</b>           | Culture medium containing Ampicillin + Sulbactam - 32/16 µg/ml  |
| <b>20-NA</b>            | Culture medium containing Nalidixic acid - 32 µg/ml             |
| <b>21-CIP</b>           | Culture medium containing Ciprofloxacin - 4 µg/ml               |
| <b>22-LEV</b>           | Culture medium containing Levofloxacin - 8 µg/ml                |
| <b>23-SXT</b>           | Culture medium containing Co-Trimoxazole - 8 µg/ml              |
| <b>24-C</b>             | 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-H<sub>2</sub>S** 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 |
| <b>1-LDC</b>             | Decarboxylation of lysine       | Violet                           | Yellow-Brown      |
| <b>2-ODC</b>             | Decarboxylation of ornithine    | Violet                           | Yellow-Brown      |
| <b>3 -H<sub>2</sub>S</b> | Production of hydrogen sulphide | Black                            | Yellow            |
| <b>4-IND</b>             | Indole test                     | Pink-Red ring                    | Yellow            |
| <b>5-LAC</b>             | Fermentation of lactose         | Yellow                           | Blue-Green        |
| <b>6-DUL</b>             | Fermentation of dulcitol        | Yellow                           | Blue-Green        |
| <b>7-PA</b>              | Deamination of phenylalanine    | Black-Brown                      | Yellow            |
| <b>8-UR</b>              | Hydrolysis of urea              | Red-Fuchsia                      | Yellow-Orange     |
| <b>9-CIT</b>             | Utilisation of citrate          | Blue-Dark Green                  | Green             |
| <b>10-OX</b>             | 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
- (H<sub>2</sub>S, 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 <sub>2</sub> 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: E.coli |     |     |           |    |     |          |

## TABLE OF BIOCHEMICAL REACTIONS

Table n°4

| Micro-organisms             | Group I |     |                  | Group II |     |     | Group III |    |     | Group IV |
|-----------------------------|---------|-----|------------------|----------|-----|-----|-----------|----|-----|----------|
|                             | LDC     | ODC | H <sub>2</sub> 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.<sup>(4)</sup>.

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

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

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

## 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

| <b>Puits</b>            | <b>Contenu</b>                                                    |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>1-LDC</b>            | Milieu pour l'identification de la lysine décarboxylase           |
| <b>2-ODC</b>            | Milieu pour l'identification de l'ornithine décarboxylase         |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Milieu pour l'identification de la production d'hydrogène sulfuré |
| <b>4-IND</b>            | Milieu pour l'identification de la production de l'indole         |
| <b>5-LAC</b>            | Milieu pour l'identification de la fermentation du lactose        |
| <b>6-DUL</b>            | Milieu pour l'identification de la fermentation du dulcitol       |
| <b>7-PA</b>             | Milieu pour l'identification de la phénylalanine désaminase       |
| <b>8-UR</b>             | Milieu pour l'identification de l'hydrolyse de l'urée             |
| <b>9-CIT</b>            | Milieu pour l'identification de l'utilisation du citrate          |
| <b>10-OX</b>            | Milieu pour l'identification de l'enzyme cytochrome - oxydase     |
| <b>11-AK</b>            | Milieu contenant Amikacine - 32 µg/ml                             |
| <b>12-CN</b>            | Milieu contenant Gentamicine - 8 µg/ml                            |
| <b>13-TOB</b>           | Milieu contenant Tobramicine - 8 µg/ml                            |
| <b>14-TZP</b>           | Milieu contenant Pipéracilline + Tazobactam - 128/4 µg/ml         |
| <b>15-FOS</b>           | Milieu contenant Fosfomycine - 200 µg/ml                          |
| <b>16-CFP</b>           | Milieu contenant Céfopérazone - 64 µg/ml                          |
| <b>17-CTX</b>           | Milieu contenant Céfotaxime - 64 µg/ml                            |
| <b>18-CAZ</b>           | Milieu contenant Ceftazidime - 32 µg/ml                           |
| <b>19-AMS</b>           | Milieu contenant Ampicilline + Sulbactam - 32/16 µg/ml            |
| <b>2-NA</b>             | Milieu contenant Acide nalidixique - 32 µg/ml                     |
| <b>21-CIP</b>           | Milieu contenant Ciprofloxacine - 4 µg/ml                         |
| <b>22-LEV</b>           | Milieu contenant Lévofloxacine - 8 µg/ml                          |
| <b>23-SXT</b>           | Milieu contenant Cotrimoxazole - 8 µg/ml                          |
| <b>24-C</b>             | 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-H<sub>2</sub>S** 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 |
| <b>1-LDC</b>            | Décarboxylation de la lysine     | Violet                            | Jaune-Marron      |
| <b>2-ODC</b>            | Décarboxylation de l'ornithine   | Violet                            | Jaune-Marron      |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Production d'hydrogène sulfuré   | Noir                              | Jaune             |
| <b>4-IND</b>            | Test de l'indole                 | Anneau rose-rouge                 | Jaune             |
| <b>5-LAC</b>            | Fermentation du lactose          | Jaune                             | Bleu-Vert         |
| <b>6-DUL</b>            | Fermentation du dulcitol         | Jaune                             | Bleu-Vert         |
| <b>7-PA</b>             | Désamination de la phénylalanine | Noir-Marron                       | Jaune             |
| <b>8-UR</b>             | Hydrolyse de l'urée              | Rouge-Fuchsia                     | Jaune-Orange      |
| <b>9-CIT</b>            | Utilisation du citrate           | Bleu-Vert foncé                   | Vert              |
| <b>10-OX</b>            | 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  
(H<sub>2</sub>S, 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 <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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.<sup>(4)</sup>).

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.<sup>(5)</sup> recommandée par la Food and Drug Administration (FDA) et par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A <sup>(1,8)</sup>.

## 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-H <sub>2</sub> S | 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.<sup>(1)</sup>

## 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

| <b>Pozo</b>             | <b>Contenido</b>                                                      |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <b>1-LDC</b>            | Terreno para la evidenciación de la lisina descarboxilasa             |
| <b>2-ODC</b>            | Terreno para la evidenciación de la ornitina descarboxilasa           |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Terreno para la evidenciación de la producción de hidrógeno sulfurado |
| <b>4-IND</b>            | Terreno para la evidenciación del indol                               |
| <b>5-LAC</b>            | Terreno para la evidenciación de la fermentación de la lactosa        |
| <b>6-DUL</b>            | Terreno para la evidenciación de la fermentación del dulcitol         |
| <b>7-PA</b>             | Terreno para la evidenciación de la fenilalanina desaminasa           |
| <b>8-UR</b>             | Terreno para la evidenciación de la hidrólisis de la urea             |
| <b>9-CIT</b>            | Terreno para la evidenciación de la utilización del citrato           |
| <b>10-OX</b>            | Terreno para la evidenciación de la oxidasa                           |
| <b>11-AK</b>            | Terreno que contiene Amikacina - 32 µg/ml                             |
| <b>12-CN</b>            | Terreno que contiene Gentamicina - 8 µg/ml                            |
| <b>13-TOB</b>           | Terreno que contiene Tobramicina - 8 µg/ml                            |
| <b>14-TZP</b>           | Terreno que contiene Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml            |
| <b>15-FOS</b>           | Terreno que contiene Fosfomicina - 200 µg/ml                          |
| <b>16-CFP</b>           | Terreno que contiene Cefoperazona - 64 µg/ml                          |
| <b>17-CTX</b>           | Terreno que contiene Cefotaxima - 64 µg/ml                            |
| <b>18-CAZ</b>           | Terreno que contiene Ceftazidima - 32 µg/ml                           |
| <b>19-AMS</b>           | Terreno que contiene Ampicilina + Sulbactam - 32/16 µg/ml             |
| <b>2-NA</b>             | Terreno que contiene Ácido Nalidixico - 32 µg/ml                      |
| <b>21-CIP</b>           | Terreno que contiene Ciprofloxacina - 4 µg/ml                         |
| <b>22-LEV</b>           | Terreno que contiene Levofloxacina - 8 µg/ml                          |
| <b>23-SXT</b>           | Terreno que contiene Co-Trimoxazolo - 8 µg/ml                         |
| <b>24-C</b>             | 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-H<sub>2</sub>S** 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   |
| <b>1-LDC</b>             | Descarboxilación de la lisina     | Violeta                           | Amarillo-Marrón     |
| <b>2-ODC</b>             | Descarboxilación de la ornitina   | Violeta                           | Amarillo-Marrón     |
| <b>3 -H<sub>2</sub>S</b> | Producción de hidrógeno sulfurado | Negro                             | Amarillo            |
| <b>4-IND</b>             | Test del indol                    | Anillo rosa-rojo                  | Amarillo            |
| <b>5-LAC</b>             | Fermentación de la lactosa        | Amarillo                          | Azul-Verde          |
| <b>6-DUL</b>             | Fermentación del dulcitol         | Amarillo                          | Azul-Verde          |
| <b>7-PA</b>              | Desaminación de la fenilalanina   | Negro-Marrón                      | Amarillo            |
| <b>8-UR</b>              | Hidrólisis de la urea             | Rojo-Fucsia                       | Amarillo-Anaranjado |
| <b>9-CIT</b>             | Utilización del citrato           | Azul-Verde oscuro                 | Verde               |
| <b>10-OX</b>             | 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
- (H<sub>2</sub>S, 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 <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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.<sup>(4)</sup>).

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.<sup>(5)</sup> recomendado por Food and Drug Administration (FDA) y por National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A <sup>(1,8)</sup>.

## 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                 |
|-------------------------|------------------------------------------|
| <b>1-LDC</b>            | Decarboxilação da lisina                 |
| <b>2-ODC</b>            | Decarboxilação da ornitina               |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b> | Produção de hidrogeno sulfatado          |
| <b>4-IND</b>            | Teste indologenéo                        |
| <b>5-LAC</b>            | Fermentação da lactose                   |
| <b>6-DUL</b>            | Fermentação do dulcitol                  |
| <b>7-PA</b>             | Desaminação da fenilalanina              |
| <b>8-UR</b>             | Hidrólise da ureia                       |
| <b>9-CIT</b>            | Utilização do citrato                    |
| <b>10-OX</b>            | Teste da oxidase                         |
| Placa multi-cavidades   | ANTIBIOGRAMA (*)                         |
| <b>11-AK</b>            | Amikacina - 32 µg/ml                     |
| <b>12-CN</b>            | Gentamicina - 8 µg/ml                    |
| <b>13-TOB</b>           | Tobramicina - 8 µg/ml                    |
| <b>14-TZP</b>           | Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml    |
| <b>15-FOS</b>           | Fosfomicina - 200 µg/ml                  |
| <b>16-CFP</b>           | Cefoperazona - 64 µg/ml                  |
| <b>17-CTX</b>           | Cefotaxima - 64 µg/ml                    |
| <b>18-CAZ</b>           | Ceftazidima - 32 µg/ml                   |
| <b>19-AMS</b>           | Ampicilina + Sulbactam - 32/16 µg/ml     |
| <b>20-NA</b>            | Acido Nalidíxico - 32 µg/ml              |
| <b>21-CIP</b>           | Ciprofloxacino - 4 µg/ml                 |
| <b>22-LEV</b>           | Levofloxacino - 8 µg/ml                  |
| <b>23-SXT</b>           | Cotrimoxazol - 8 µg/ml                   |
| <b>24-C</b>             | 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

| <b>Placa multi-cavidades</b> | <b>Conteúdo</b>                                             |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <b>1-LDC</b>                 | Terreno para a evidencia da lisina decarboxilase            |
| <b>2-ODC</b>                 | Terreno para a evidencia da ornitina decarboxilase          |
| <b>3-H<sub>2</sub>S</b>      | Terreno para a evidencia de produção de hidrogeno sulfatado |
| <b>4-IND</b>                 | Terreno para a evidencia de indologéneo                     |
| <b>5-LAC</b>                 | Terreno para a evidencia da fermentação da lactose          |
| <b>6-DUL</b>                 | Terreno para a evidencia da fermentação do dulcitol         |
| <b>7-PA</b>                  | Terreno para a evidencia da fenilalanina desaminase         |
| <b>8-UR</b>                  | Terreno para a evidencia da hidrolise da ureia              |
| <b>9-CIT</b>                 | Terreno para a evidencia da utilização do citrato           |
| <b>10-OX</b>                 | Terreno para a evidencia da oxidase                         |
| <b>11-AK</b>                 | Terreno que contém Amikacina - 32 µg/ml                     |
| <b>12-CN</b>                 | Terreno que contém Gentamicina - 8 µg/ml                    |
| <b>13-TOB</b>                | Terreno que contém Tobramicina - 8 µg/ml                    |
| <b>14-TZP</b>                | Terreno que contém Piperacilina+Tazobactam - 128/4 µg/ml    |
| <b>15-FOS</b>                | Terreno que contém Fosfomicina - 200 µg/ml                  |
| <b>16-CFP</b>                | Terreno que contém Cefoperazona - 64 µg/ml                  |
| <b>17-CTX</b>                | Terreno que contém Cefotaxima - 64 µg/ml                    |
| <b>18-CAZ</b>                | Terreno que contém Ceftazidima - 32 µg/ml                   |
| <b>19-AMS</b>                | Terreno que contém Ampiciline + Sulbactam - 32/16 µg/ml     |
| <b>2-NA</b>                  | Terreno que contém Ácido Nalidixico - 32 µg/ml              |
| <b>21-CIP</b>                | Terreno que contém Ciprofloxacino - 4 µg/ml                 |
| <b>22-LEV</b>                | Terreno que contém Levofloxacina - 8 µg/ml                  |
| <b>23-SXT</b>                | Terreno que contém Cotrimoxazol - 8 µg/ml                   |
| <b>24-C</b>                  | 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-H<sub>2</sub>S** 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       |
| <b>1-LDC</b>             | Decarboxilação da lisina        | Viola                           | Amarelo-Marrom         |
| <b>2-ODC</b>             | Decarboxilação da ornitina      | Viola                           | Amarelo-Marrom         |
| <b>3 -H<sub>2</sub>S</b> | Produção de Hidrogeno sulfatado | Preto                           | Amarelo                |
| <b>4-IND</b>             | Teste indologéneo               | Anel cor-de-rosa/vermelho       | Amarelo                |
| <b>5-LAC</b>             | Fermentação da lactose          | Amarelo                         | Azul-Verde             |
| <b>6-DUL</b>             | Fermentação do dulcitol         | Amarelo                         | Azul-Verde             |
| <b>7-PA</b>              | Desaminação da fenilalanina     | Preto-Marrom                    | Amarelo                |
| <b>8-UR</b>              | Hidrolise da ureia              | Vermelho-púrpura                | Amarelo/Cor-de-laranja |
| <b>9-CIT</b>             | Utilização do citrato           | Azul-Verde escuro               | Verde                  |
| <b>10-OX</b>             | 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
- (H<sub>2</sub>S, 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 <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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 <sup>(4)</sup>)

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.<sup>(5)</sup> recomendado pela Food and Drug Administration (FDA) e pela National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A <sup>(1,8)</sup>.

## 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 <sub>2</sub> 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.<sup>(1)</sup>

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

### ANTIBIOΓΡΑΜΜΑ

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 |
| <b>1-LDC</b>             | Αποκαρβοξυλίωση λυσίνης   | Μωβ                            | Κίτρινο-Καφέ       |
| <b>2-ODC</b>             | Αποκαρβοξυλίωση ορνιθίνης | Μωβ                            | Κίτρινο-Καφέ       |
| <b>3 -H<sub>2</sub>S</b> | Παραγωγή θειώδους οξέως   | Μαύρο                          | Κίτρινο            |
| <b>4-IND</b>             | Τεστ ινδόλου              | Δακτύλιος ροζ-κόκκινος         | Κίτρινο            |
| <b>5-LAC</b>             | Ζύμωση λακτόζης           | Κίτρινο                        | Μπλε-Πράσινο       |
| <b>6-DUL</b>             | Ζύμωση γλυκίτολης         | Κίτρινο                        | Μπλε-Πράσινο       |
| <b>7-PA</b>              | Απαμίνωση φαινυλαλανίνης  | Μαύρο-Καφέ                     | Κίτρινο            |
| <b>8-UR</b>              | Υδρόλυση ουρίας           | Κόκκινο-Φούξια                 | Κίτρινο-Πορτοκαλί  |
| <b>9-CIT</b>             | Χρήση κιτρικού            | Μπλε-Πράσινο σκούρο            | Πράσινο            |
| <b>10-OX</b>             | Τεστ οξειδάσης            | Μπλε-Πορφυρό (άμεση αντίδραση) | Άχρωμο             |

| ANTIBIOΓΡΑΜΜΑ  |                     |                          |
|----------------|---------------------|--------------------------|
| 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  
(H<sub>2</sub>S, DUL,CIT)
- Αξία μηδέν: αρνητικές αντιδράσεις κάθε ομάδας

2) Προσθέτωντας 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 <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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.<sup>(4)</sup>) Τα αποτελέσματα αντιβιογράμματος που επιτυγχάνονται με το σύστημα INTEGRAL SYSTEM ENTEROBACTERI συμφωνούν με τα αποτελέσματα της μεθόδου ακτινικής διάχυσης κατά Bauer et al.<sup>(5)</sup> που συνιστάται από την Food and Drug Administration (FDA) και από την National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A <sup>(1,8)</sup>.

## 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”, 4<sup>th</sup> 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, 4<sup>th</sup> 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](mailto:liofilchem@liofilchem.net)