

ENTEROSYSTEM 18R

System for the identification of Gram-negative, oxidase negative enterobacteria.

Ref. 71618 - 79618

Contents	Page
Italiano	1
English	5
Español	9

F10213
Rev.3 / 28.05.2014

Liofilchem® and the Liofilchem company logo are registered trademarks of LIOFILCHEM s.r.l.

© Copyright LIOFILCHEM 2013



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





ENTEROSYSTEM 18R

Sistema per l'identificazione degli enterobatteri Gram negativi, ossidasi negativi.

DESCRIZIONE

ENTEROSYSTEM 18R è un sistema a 18 pozzetti contenenti substrati biochimici essiccati per l'identificazione degli enterobatteri Gram negativi, ossidasi negativi. Il sistema viene inoculato con la sospensione del microrganismo in esame ed incubato a $36\pm1^{\circ}\text{C}$ per 12-18-24 ore. Il microrganismo viene identificato mediante codifica numerica ottenuta dai viraggi cromatici dei vari test biochimici.

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

Ref. 71618	Ref. 79618
• 20 Sistemi ENTEROSYSTEM 18R • 20 Fiale di Physiological Solution (7.0 mL) • Foglio istruzioni e Blocco moduli raccolta dati	• 4 Sistemi ENTEROSYSTEM 18R • 4 Fiale di Physiological Solution (7.0 mL) • Foglio istruzioni e Blocco moduli raccolta dati

PRODOTTI NECESSARI NON CONTENUTI NELLA CONFEZIONE

ENTEROSYSTEM 18R Reagent (ref. 80252): olio di vaselina, reagente test indolo, reagenti test VP	
GRAM COLOR KIT (ref. 80293)	ENTEROSYSTEM 18R Code book (ref. 71710)
OXIDASE TEST STICK (ref. 88029)	Identification Code Disk (ref. 71711)

PRINCIPIO DEL METODO

ENTEROSYSTEM 18R permette di eseguire l'identificazione degli enterobatteri Gram negativi, ossidasi negativi di particolare interesse clinico. L'identificazione si basa su prove biochimiche eseguite su terreni colturali contenenti substrati specifici presenti nei pozzetti. La combinazione delle reazioni positive e negative permette di determinare un codice numerico che consente a sua volta di identificare il batterio in esame, utilizzando l'ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o il software Identification Code Disk (ref. 71711).

CONFIGURAZIONE

Pozzetto	REAZIONI BIOCHIMICHE PER IDENTIFICAZIONE MICROBICA
1-ONPG	Idrolisi dell'ONPG (Ortonitrofenil- β -D-galattopiranoside)
2-LDC □	Decarbossilazione della lisina
3-ODC □	Decarbossilazione dell'ornitina
4-ADC □	Decarbossilazione dell'arginina
5-PD	Deaminazione della fenilalanina
6-CIT	Utilizzazione del citrato
7-UR □	Idrolisi dell'urea
8-H₂S □	Produzione di idrogeno solforato
9-MLN	Utilizzazione del malonato
10-VP *	Produzione di acetoina (Test Voges-Proskauer)
11-IND *	Produzione di indolo (Test Kovacs)
12-GLU	Fermentazione del glucosio
13-MAN	Fermentazione del mannitolo
14-INO	Fermentazione dell'inositolo
15-SOR	Fermentazione del sorbitolo
16-SAC	Fermentazione del saccarosio
17-ARA	Fermentazione dell'arabinosio
18-RAF	Fermentazione del raffiniosio

□ : dopo l'inoculo, aggiungere olio di vaselina

* : dopo l'incubazione, aggiungere il reagente indicato

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

ENTEROSYSTEM 18R viene utilizzato per l'identificazione dei batteri Gram negativi, ossidasi negativi isolati da terreni colturali agarizzati selettivi per l'isolamento degli enterobatteri come Mac Conkey Agar (ref. 10029), Eosin Methylene Blue Agar (ref. 10048), Salmonella e Shigella Agar (ref. 10036), Hektoen Enteric Agar (ref. 10043), o su terreni non selettivi.

PROCEDURA DEL TEST

PREPARAZIONE DELLA SOSPENSIONE BATTERICA

1. Il microrganismo da identificare deve essere di isolamento recente (18-24 ore); batteri provenienti da colture con più di 48 ore possono dar luogo a risultati non attendibili.
2. Prima di procedere alla semina del microrganismo in esame, è necessario eseguire la colorazione di Gram ed il test dell'ossidasi. Utilizzare **ENTEROSYSTEM 18R** solo per batteri Gram negativi, ossidasi negativi.
3. Prelevare una o più colonie morfologicamente simili, ben isolate, dal terreno di coltura solido e sospenderle nella soluzione fisiologica (sospensione batterica 0.5 McFarland).
4. Omogeneizzare accuratamente.

INOCULO DEL SISTEMA

1. Prelevare un sistema dal suo involucro e portare a temperatura ambiente.
2. Annotare data e provenienza del germe.
3. Trasferire 0.2 mL di sospensione batterica in ciascun pozzetto del sistema e coprire con 1 goccia di olio di vaselina i pozzetti **2-LDC**, **3-ODC**, **4-ADC**, **7-UR** e **8-H₂S**.
4. Coprire il sistema con l'apposito coperchio ed incubare a 36±1°C per 12-18-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine dell'incubazione:

1. Introdurre 2 gocce di alfa-naftolo ed 1 goccia di NaOH 40% (ref. 80252) nel pozzetto **10-VP**. Attendere 15-20 minuti ed osservare la comparsa di una colorazione rosa-rossa.
2. Introdurre 2 o 3 gocce di KOVAC'S Reagent (ref. 80252) nel pozzetto **11-IND**. Attendere 1 o 2 minuti ed osservare la comparsa di una colorazione rossa.
3. Osservare il viraggio di colore dei pozzetti ed interpretare i risultati servendosi della tabella 1.
4. Trascrivere il risultato sul modulo raccolta dati e formare il codice numerico di 6 cifre seguendo le istruzioni riportate nel paragrafo FORMAZIONE DEL CODICE NUMERICO.
5. Risalire quindi all'identificazione batterica servendosi dell'ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o del software Identification Code Disk (ref. 71711).

Tabella 1.

Pozzetto	REAZIONI BIOCHIMICHE PER L'IDENTIFICAZIONE	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
1-ONPG	Idrolisi ONPG	giallo	incolore
2-LDC	Decarbossilazione lisina	rosso	giallo-arancio
3-ODC	Decarbossilazione ornitina	rosso	giallo-arancio
4-ADC	Decarbossilazione arginina	rosso	giallo-arancio
5-PD	Deaminazione fenilalanina	nero-marrone	giallo
6-CIT	Utilizzazione citrato	blu-verde scuro	verde chiaro
7-UR	Idrolisi urea	rosso-fucsia	giallo-arancio
8-H₂S	Produzione idrogeno solforato	nero	giallo
9-MLN	Utilizzazione malonato	blu-verde	giallo
10-VP	Test VP	rosa-rosso	giallo
11-IND	Test indolo	rosso	giallo
12-GLU	Fermentazione glucosio	giallo	blu-verde
13-MAN	Fermentazione mannitolo	giallo	blu-verde
14-INO	Fermentazione inositolo	giallo	blu-verde
15-SOR	Fermentazione sorbitolo	giallo	blu-verde
16-SAC	Fermentazione saccarosio	giallo	blu-verde
17-ARA	Fermentazione arabinosio	giallo	blu-verde
18-RAF	Fermentazione raffiniosio	giallo	blu-verde

FORMAZIONE DEL CODICE NUMERICO

I test biochimici sono divisi in 6 gruppi di 3 test ed ognuno viene indicato con un valore di 1, 2, o 4:

- Valore 1 : primo test positivo di ogni gruppo (**ONPG, ADC, UR, VP, MAN, SAC**);
- Valore 2 : secondo test positivo di ogni gruppo (**LDC, PD, H₂S, IND, INO, ARA**);
- Valore 4 : terzo test positivo di ogni gruppo (**ODC, CIT, MLN, GLU, SOR, RAF**);
- Valore 0 : reazioni negative di ogni gruppo.

Addizionando in ogni gruppo i valori delle reazioni positive, si ottiene un codice a 6 cifre che, servendosi dell'ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o del software Identification Code Disk (ref. 71711), permette di identificare il microrganismo in esame. L'esempio sottostante mostra come può essere formato un codice numerico.

Esempio.

	Gruppo 1			Gruppo 2			Gruppo 3			Gruppo 4			Gruppo 5			Gruppo 6		
Test	ONPG	LDC	ODC	ADC	PD	CIT	UR	H ₂ S	MLN	VP	IND	GLU	MAN	INO	SOR	SAC	ARA	RAF
Valori	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Risultati	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	+	−	+	−
Somma dei valori	7			0			0			6			5			2		
CODICE NUMERICO: 700652 IDENTIFICAZIONE: <i>Escherichia coli</i>																		

REAZIONI BIOCHIMICHE IMPORTANTI PER LA DIFFERENZIAZIONE DELLE ENTEROBACTERIACEAE

Microrganismo	ONPG	UR	H ₂ S	IND	VP	LDC	CIT	MLN
<i>Escherichia</i> spp	+	–	–	+	–	+	–	–
<i>Enterobacter</i> spp	±	±	–	–	+	±	+	+
<i>Klebsiella</i> spp	+	±	–	±	+	+	+	±
<i>Proteus</i> spp	–	+	±	±	–	–	±	–
<i>Salmonella</i> spp	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>Citrobacter</i> spp	+	–	+	±	–	–	+	–
<i>Arizona</i> spp	±	–	+	±	–	+	±	±
<i>Yersinia</i> spp	±	±	–	±	±	–	–	±
<i>Serratia</i> spp	±	–	–	–	±	±	±	±

+: reazione positiva

–: reazione negativa

±: reazione variabile

CONTROLLO QUALITÀ

ENTEROSYSTEM 18R viene sottoposto al controllo qualità utilizzando i seguenti microrganismi:

Enterobacter cloacae ATCC® 23355, *Escherichia coli* ATCC® 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 13883, *Proteus mirabilis* ATCC® 25933, *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028, *Serratia marcescens* ATCC® 8100, *Shigella flexneri* ATCC® 12022, *Yersinia enterocolitica* ATCC® 9610.

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

Imprecisa standardizzazione dell'inoculo; materiale clinico non idoneo; uso di sistemi e reagenti supplementari; temperatura e tempi di incubazione non rispettati.

PRECAUZIONI

Il prodotto, **ENTEROSYSTEM 18R**, non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente; per un suo corretto impiego si consiglia comunque di consultare la Scheda di Sicurezza. **ENTEROSYSTEM 18R** 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 **ENTEROSYSTEM 18R** 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 **ENTEROSYSTEM 18R** ed altri dispositivi venuti a contatto con il materiale clinico 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	Ref.	Confezione
ENTEROSYSTEM 18R	71618	20 test
ENTEROSYSTEM 18R	79618	4 test

TABELLA DEI SIMBOLI

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



IVD



ENTEROSYSTEM 18R

System for the identification of Gram-negative, oxidase negative enterobacteria

DESCRIPTION

ENTEROSYSTEM 18R is a 18-well system containing desiccated biochemical substrata for the identification of Gram-negative, oxidase negative enterobacteria.

The system is inoculated with the suspension of the organism to be examined and incubated at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 12-18-24 hours. The microorganism is identified by assessing the colour change of the various wells in order to determine the corresponding numerical code.

CONTENT OF THE PACKAGE

Ref. 71618	Ref. 79618
20 ENTEROSYSTEM 18R 20 Vials of Physiological Solution (7.0 mL) - Instruction sheet and Data chart	4 ENTEROSYSTEM 18R 4 Vials of Physiological Solution (7.0 mL) - Instruction sheet and Data chart

ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE PACKAGE

ENTEROSYSTEM 18R Reagent (ref. 80252): vaseline oil, indole test reagent, VP test reagents	
GRAM COLOR KIT (ref. 80293)	ENTEROSYSTEM 18R Code book (ref. 71710)
OXIDASE TEST STICK (ref. 88029)	Identification Code Disk (ref. 71711)

PRINCIPLE OF THE METHOD

ENTEROSYSTEM 18R allows the identification of Gram-negative, oxidase negative enterobacteria of clinical significance. Identification is based on biochemical tests performed in the wells containing specific culture media. The combination of positive and negative reactions allows to determine a numerical code that in turn permits to identify the examined bacterium by using the ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) or the Identification Code Disk software (ref. 71711).

CONFIGURATION

Well	BIOCHEMICAL REACTIONS FOR MICROBIAL IDENTIFICATION
1-ONPG	Hydrolysis of ONPG (Ortho-Nitrophenyl- β -Galactoside)
2-LDC □	Decarboxylation of lysine
3-ODC □	Decarboxylation of ornithine
4-ADC □	Decarboxylation of arginine
5-PD	Deamination of phenylalanine
6-CIT	Utilization of citrate
7-UR □	Hydrolysis of urea
8-H₂S □	Production of hydrogen sulphide
9-MLN	Utilization of malonate
10-VP *	Production of acetoin (Voges-Proskauer test)
11-IND *	Production of indole (Kovac's test)
12-GLU	Fermentation of glucose
13-MAN	Fermentation of mannitol
14-INO	Fermentation of inositol
15-SOR	Fermentation of sorbitol
16-SAC	Fermentation of saccharose
17-ARA	Fermentation of arabinose
18-RAF	Fermentation of raffinose

□ : after inoculation, add vaseline oil

* : after incubation, add the indicated reagent

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLE

ENTEROSYSTEM 18R is used for the identification of Gram-negative, oxidase negative bacteria isolated on selective agar media for Enterobacteriaceae such as Mac Conkey Agar (ref. 10029), Eosin Methylene Blue Agar (ref. 10048), Salmonella and Shigella Agar (ref. 10036), Hektoen Enteric Agar (ref. 10043), or non-selective media.

TEST PROCEDURE

PREPARATION OF BACTERIAL SUSPENSION

1. The microorganism to be identified must be recently isolated (18-24 h); bacterial cultures older than 48 hours can provide not reliable results.
2. Before inoculating the microorganism to be examined, Gram staining and oxidase testing are required. Use **ENTEROSYSTEM 18R** with Gram-negative, oxidase negative bacteria only.
3. Take one or more morphologically similar well isolated colonies from the agar culture medium and suspend in physiological solution (0.5 McFarland bacterial suspension).
4. Thoroughly homogenize the suspension.

INOCULATION OF THE SYSTEM

1. Take a system from its wrapper and bring it to room temperature.
2. Write down date and origin of the microorganism.
3. Transfer 0.2 mL of bacterial suspension into each well of the system and overlay with 1 drop of vaseline oil the wells **2-LDC**, **3-ODC**, **4-ADC**, **7-UR** and **8-H₂S**.
4. Cover the system with the lid provided and incubate at 36±1°C for 12-18-24 hours.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

At the end of the incubation period:

1. Add 2 drops of alpha-naphthol and 1 drop of NaOH 40% (ref. 80252) into the well **10-VP**. Wait for the development of a pink-red color in about 15-20 minutes.
2. Add 2 or 3 drops of KOVAC'S Reagent (ref. 80252) into the well **11-IND**. Wait for the development of a red color in about 1-2 minutes.
3. Watch for the color change in the wells and interpret the results using table 1.
4. Note the results on the test results form and determine the 6-digit code following instructions provided in the NUMERICAL CODE FORMATION paragraph.
5. Identify the organism by using the ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) or the Identification Code Disk (ref. 71711).

Table 1.

Well	REACTIONS FOR THE BIOCHEMICAL IDENTIFICATION	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
1-ONPG	ONPG hydrolysis	yellow	colorless
2-LDC	Lysine decarboxylation	red	yellow-orange
3-ODC	Ornithine decarboxylation	red	yellow-orange
4-ADC	Arginine decarboxylation	red	yellow-orange
5-PD	Phenylalanine deamination	black-brown	yellow
6-CIT	Citrate utilization	blue-dark green	light green
7-UR	Urea hydrolysis	red-fuchsia	yellow-orange
8-H₂S	Hydrogen sulphide production	black	yellow
9-MLN	Malonate utilization	blue-green	yellow
10-VP	VP test	pink-red	yellow
11-IND	Indole test	red	yellow
12-GLU	Glucose fermentation	yellow	blu-verde
13-MAN	Mannitol fermentation	yellow	blu-verde
14-INO	Inositol fermentation	yellow	blu-verde
15-SOR	Sorbitol fermentation	yellow	blu-verde
16-SAC	Saccharose fermentation	yellow	blu-verde
17-ARA	Arabinose fermentation	yellow	blu-verde
18-RAF	Raffinose fermentation	yellow	blu-verde

NUMERICAL CODE FORMATION

The biochemical tests are separated into 6 groups of 3 and a value of 1, 2 or 4 is indicated for each:

- Value 1 : first test positive in each group (**ONPG, ADC, UR, VP, MAN, SAC**);
- Value 2 : second test positive in each group (**LDC, PD, H₂S, IND, INO, ARA**);
- Value 4 : third test positive in each group (**ODC, CIT, MLN, GLU, SOR, RAF**);
- Value 0 : every negative test.

A 6-digit code is obtained by adding together the values corresponding to positive reactions within each group. The code allows the identification of the organism under examination by using the ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) or the Identification Code Disk software (ref. 71711). The example below shows how a numerical code can be formed.

Example.

	Group 1			Group 2			Group 3			Group 4			Group 5			Group 6		
Test	ONPG	LDC	ODC	ADC	PD	CIT	UR	H ₂ S	MLN	VP	IND	GLU	MAN	INO	SOR	SAC	ARA	RAF
Values	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Results	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	+	−	+	−
Sum of values	7			0			0			6			5			2		
CODE: 700652 IDENTIFICATION: <i>Escherichia coli</i>																		

SIGNIFICANT BIOCHEMICAL REACTIONS FOR DIFFERENTIATING ENTEROBACTERIACEAE								
Microorganism	ONPG	UR	H ₂ S	IND	VP	LDC	CIT	MLN
<i>Escherichia</i> spp	+	–	–	+	–	+	–	–
<i>Enterobacter</i> spp	±	±	–	–	+	±	+	+
<i>Klebsiella</i> spp	+	±	–	±	+	+	+	±
<i>Proteus</i> spp	–	+	±	±	–	–	±	–
<i>Salmonella</i> spp	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>Citrobacter</i> spp	+	–	+	±	–	–	+	–
<i>Arizona</i> spp	±	–	+	±	–	+	±	±
<i>Yersinia</i> spp	±	±	–	±	±	–	–	±
<i>Serratia</i> spp	±	–	–	–	±	±	±	±

+ : positive reaction

– : negative reaction

± : variable reaction

QUALITY CONTROL

ENTEROSYSTEM 18R is subjected to the quality control using the following reference microorganisms:

Enterobacter cloacae ATCC® 23355, *Escherichia coli* ATCC® 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 13883, *Proteus mirabilis* ATCC® 25933, *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028, *Serratia marcescens* ATCC® 8100, *Shigella flexneri* ATCC® 12022, *Yersinia enterocolitica* ATCC® 9610.

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

Poor standardization of the inoculum; clinical material unsuitable; use of expired systems or expired supplementary reagents; non compliance with temperatures and times of incubation.

PRECAUTIONS

The product, **ENTEROSYSTEM 18R** is not classified as hazardous under current legislation, however refer to the safety data sheet for a correct use. **ENTEROSYSTEM 18R** is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro*. The product must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved aseptic and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store the product **ENTEROSYSTEM 18R** 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, **ENTEROSYSTEM 18R** 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	Ref.	Package
ENTEROSYSTEM 18R	71618	20 tests
ENTEROSYSTEM 18R	79618	4 tests

TABLE OF SYMBOLS

IVD for <i>in vitro</i> diagnostic use	 Do not reuse	 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> test	 Temperature limits
REF Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Use by	 Caution, consult accompanying documents	LOT Batch number



IVD



ENTEROSYSTEM 18R

Sistema de identificación de Enterobacterias Gram-negativas, oxidasa-negativas

DESCRIPCION

ENTEROSYSTEM 18R es un sistema de 18 pozos que contienen sustratos bioquímicos deshidratados para la identificación de Enterobacterias Gram-negativas, oxidasa-negativas.

El sistema es inoculado con la suspensión del microorganismo a estudiar e incubado a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 12-18-24 horas.

El microorganismo se identifica mediante la evaluación del cambio de color en los diferentes medios de cultivo en los pocillos y por un número de código obtenido a partir de la interpretación de las reacciones bioquímicas.

CONTENIDO DEL ENVASE

Ref. 71618	Ref. 79618
20 Sistemas ENTEROSYSTEM 18R 20 Viales de Solución Fisiológica (7.0 mL) - Hoja de instrucciones y Bloque módulos recogida resultados	4 Sistemas ENTEROSYSTEM 18R 4 Viales de Solución Fisiológica (7.0 mL) - Hoja de instrucciones y Bloque módulos recogida resultados

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

ENTEROSYSTEM 18R Reagent (ref. 80252): aceite de vaselina; reactivo de prueba indol; reactivo de prueba VP	
GRAM COLOR KIT (ref. 80293)	ENTEROSYSTEM 18R Code book (ref. 71710)
OXIDASE TEST STICK (ref. 88029)	Identification Code Disk (ref. 71711)

PRINCIPIO DEL METODO

ENTEROSYSTEM 18R permite la identificación de enterobacterias gram negativas, oxidasa negativas de importancia clínica. La identificación se basa en pruebas bioquímicas realizadas en un medio de cultivo específico en los pozos. La combinación de reacciones positivas y negativas permite construir un número de código para identificar la bacteria utilizando el ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o el software Identification Code Disk (ref. 71711).

CONFIGURACION

Pozo	REACCIONES BIOQUIMICAS PARA IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS
1-ONPG	Hidrólisis de ONPG (Ortonitrofenil- β -D-galactopiranosido)
2-LDC □	Descarboxilación de lisina
3-ODC □	Descarboxilación de ornitina
4-ADC □	Descarboxilación de arginina
5-PD	Descarboxilación de fenilalanina
6-CIT	Descarboxilación de citrato
7-UR □	Hidrólisis de urea
8-H₂S □	Producción de sulfuro de hidrógeno
9-MLN	Utilización de malonato
10-VP *	Producción de acetoína (prueba de Voges-Proskauer)
11-IND *	Producción de indol (prueba de Kovacs)
12-GLU	Fermentación de la glucosa
13-MAN	Fermentación de manitol
14-INO	Fermentación de inositol
15-SOR	Fermentación de sorbitol
16-SAC	Fermentación de la sacarosa
17-ARA	Fermentación de arabinosa
18-RAF	Fermentación de la rafinosa

□ : después de la inoculación, adicionar aceite de vaselina

* : después de la incubación, adicionar el reactivo indicador

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

ENTEROSYSTEM 18R es utilizado para la detección de Bacterias gram-negativas y oxidasa negativas, aisladas en un medio de agar selectivo para Enterobacteriaceae tales como Mac Conkey Agar (ref. 10029), Eosin Methylene Blue Agar (ref. 10048), Salmonella and Shigella Agar (ref. 10036), Hektoen Enteric Agar (ref. 10043), o medio no-selectivo.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

PREPARACION DE LA SUSPENSIÓN BACTERIANA

1. El microorganismo a identificar debe estar recientemente aislado (18-24 horas); bacterias con más de 48 horas de incubación pueden generar resultados erróneos.
2. Antes de la inoculación del microorganismo, es necesario realizar una coloración de Gram y una prueba de oxidasa. Solamente las bacterias Gram-negativas, oxidasa-negativas pueden ser inoculadas en el **ENTEROSYSTEM 18R**.
3. Tome una o más colonias aisladas morfológicamente similares del medio de agar y suspéndala en solución fisiológica (suspensión bacteriana 0.5 McFarland).
4. Homogeneice completamente.

INOCULACION EN EL SISTEMA

1. Tome un sistema de este empaque y coloque a temperatura ambiente.
2. Escriba la fecha y el origen del microorganismo.
3. Transfiera 0.2 mL de suspensión bacteriana dentro de cada pozo del sistema y cubra con 1 gota de aceite de vaselina los pozos **2-LDC**, **3-ODC**, **4-ADC**, **7-UR** y **8-H₂S**.
4. Cubra el sistema con la tapa suministrada e incube a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 12-18-24 horas

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Subsecuente a la incubación:

1. Dispense 2 gotas de alfa-naftol y 1 gota de NaOH 40% (ref. 80252) en el pozo **10-VP**. Espere 15-20 minutos y observe la aparición de color rosa a rojo.
2. Dispense 2 o 3 gotas de KOVAC'S Reagent (ref. 80252) en el pozo **11-IND**. Espere 1-2 minutos y observe la aparición de color rojo.
3. Observe el cambio de color de los pozos e interprete los resultados utilizando la tabla 1.
4. Escriba los resultados en el formato de resultados de la prueba y construya el código de 6 dígitos siguiendo las instrucciones suministradas en el FORMATO NÚMERO DE CODIGO.
5. Identifique el microorganismo utilizando el ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o el software Identification Code Disk (ref. 71711).

Tabla 1.

Pozo	REACCIONES PARA LA IDENTIFICACION BIOQUIMICA	Color del pozo	
		Reacción positiva	Reacción negativa
1-ONPG	Hidrólisis ONPG	amarillo	incolora
2-LDC	Descarboxilación lisina	rojo	amarillo-naranja
3-ODC	Descarboxilación ornitina	rojo	amarillo-naranja
4-ADC	Descarboxilación arginina	rojo	amarillo-naranja
5-PD	Descarboxilación fenilalanina	negro-café	amarillo
6-CIT	Descarboxilación citrato	azul-verde oscuro	verde pálido
7-UR	Hidrólisis urea	rojo-fucsia	amarillo-naranja
8-H₂S	Producción sulfuro de hidrógeno	negro	amarillo
9-MLN	Utilización malonato	azul-verde	amarillo
10-VP	Prueba VP	rosa-rojo	amarillo
11-IND	Prueba indol	rojo	amarillo
12-GLU	Fermentación glucosa	amarillo	azul-verde
13-MAN	Fermentación manitol	amarillo	azul-verde
14-INO	Fermentación inositol	amarillo	azul-verde
15-SOR	Fermentación sorbitol	amarillo	azul-verde
16-SAC	Fermentación sacarosa	amarillo	azul-verde
17-ARA	Fermentación arabinosa	amarillo	azul-verde
18-RAF	Fermentación rafinosa	amarillo	azul-verde

FORMATO DE NUMERO DE CODIGO

Las pruebas bioquímicas están divididas en 6 grupos cada uno conteniendo 3 pruebas y en cada uno de ellos se indica un valor de 1, 2, 4.

- Valor 1: primera prueba positiva en cada grupo (**ONPG, ADC, UR, VP, MAN, SAC**);
- Valor 2: segunda prueba positiva en cada grupo (**LDC, PD, H₂S, IND, INO, ARA**);
- Valor 4: tercera prueba positiva en cada grupo (**ODC, CIT, MLN, GLU, SOR, RAF**);
- Valor 0: todas las pruebas negativas.

Un código de 6 dígitos se obtiene mediante la adición de el número de reacciones positivas de cada grupo. El código permite la identificación del microorganismo a examen por el uso del ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o el software Identification Code Disk (ref. 71711). El siguiente ejemplo muestra cómo se puede formar un código numérico.

Ejemplo.

	Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3			Grupo 4			Grupo 5			Grupo 6		
Test	ONPG	LDC	ODC	ADC	PD	CIT	UR	H ₂ S	MLN	VP	IND	GLU	MAN	INO	SOR	SAC	ARA	RAF
Valores	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Resultados	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	−	+	−	+	−
Suma de valores	7			0			0			6			5			2		
CODIGO: 700652 IDENTIFICACIÓN: <i>Escherichia coli</i>																		

REACCIONES BIOQUÍMICAS SIGNIFICATIVAS PARA DIFERENCIACIÓN DE ENTEROBACTERIACEAE								
Microorganismo	ONPG	UR	H ₂ S	IND	VP	LDC	CIT	MLN
<i>Escherichia</i> spp	+	–	–	+	–	+	–	–
<i>Enterobacter</i> spp	±	±	–	–	+	±	+	+
<i>Klebsiella</i> spp	+	±	–	±	+	+	+	±
<i>Proteus</i> spp	–	+	±	±	–	–	±	–
<i>Salmonella</i> spp	–	–	±	–	–	±	–	–
<i>Citrobacter</i> spp	+	–	+	±	–	–	+	–
<i>Arizona</i> spp	±	–	+	±	–	+	±	±
<i>Yersinia</i> spp	±	±	–	±	±	–	–	±
<i>Serratia</i> spp	±	–	–	–	±	±	±	±

+ : reacción positiva

– : reacción negativa

± : reacción variable

CONTROL DE CALIDAD

Cada lote de **ENTEROSYSTEM 18R** es objeto de un control de calidad utilizando los siguientes microorganismos de referencia:

Enterobacter cloacae ATCC® 23355, *Escherichia coli* ATCC® 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 13883, *Proteus mirabilis* ATCC® 25933, *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028, *Serratia marcescens* ATCC® 8100, *Shigella flexneri* ATCC® 12022, *Yersinia enterocolitica* ATCC® 9610.

FACTORES QUE PUEDEN INVALIDAR LAS PRUEBAS

Pobre estandarización del inóculo; material clínico inadecuado, el uso de sistemas y / o reactivos caducados, el incumplimiento de las temperaturas y los tiempos de incubación

PRECAUCIONES

El producto, **ENTEROSYSTEM 18R**, no está clasificado como peligroso bajo la regulación normativa vigente, sin embargo verifique la Hoja de Seguridad del producto para un uso correcto. El **ENTEROSYSTEM 18R** es un dispositivo desechable para ser usado en diagnóstico in vitro. Este debe usarse en el laboratorio por personal entrenado, utilizando los métodos asépticos y seguridad aprobados para la manipulación de agentes patógenos.

ALMACENAMIENTO

Almacene el **ENTEROSYSTEM 18R** de 2-8 °C en su empaque original. Manténgalo alejado de las fuentes de calor y evite los cambios excesivos de temperatura. En tales condiciones el **ENTEROSYSTEM 18R** mantiene su validez hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta del producto.

DISPOSICIÓN DEL MATERIAL UTILIZADO

Después del uso, el **ENTEROSYSTEM 18R** y los materiales que han tenido contacto con la muestra deben ser descontaminados y dispuestos de acuerdo a las técnicas utilizadas en el laboratorio para la descontaminación y descarte de material potencialmente infeccioso.

PRESENTACION

Producto	Ref.	Estuche
ENTEROSYSTEM 18R	71618	20 pruebas
ENTEROSYSTEM 18R	79618	4 pruebas

TABLA DE SIMBOLOS

IVD Dispositivo Médico para diagnóstico In Vitro	 No re-utilice	 Fabricante	 Contenido suficiente para <n> pruebas	 Límite de Temperatura
REF Número de Catálogo	 Fragil, manipule con cuidado	 Use por	 Peligro, consulte los documentos acompañantes	LOT Código de Lote



IVD

TABLE OF REACTIONS

Microorganism		ONPG	LDC	ODC	ADC	PD	CIT	UR	H ₂ S	MLN	VP	IND	GLU	MAN	INO	SOR	SAC	ARA	RAF
ESCHERICHIEAE	<i>E.coli</i> inactive	V	V	V	–	–	–	–	–	–	–	V	+	V	–	V	V	V	V
	<i>E.coli</i>	+	V	V	V	–	V	–	–	–	–	+	+	+	–	V	V	V	V
	<i>S.dysenteriae</i>	V	–	–	–	–	–	–	–	–	–	V	+	–	–	V	–	V	–
	<i>S.flexneri</i>	V	–	–	V	–	–	–	–	–	–	V	+	V	–	V	–	V	V
	<i>S.boydii</i>	V	–	V	V	–	–	–	–	–	–	V	+	+	–	V	–	V	–
	<i>S.sonnei</i>	V	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	V	V
	<i>E.tarda</i>	–	+	+	–	–	V	–	+	–	–	+	+	–	–	–	–	V	–
	<i>E.tarda</i> type 1	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	+	+	–
SALMONELLEAE	<i>C.freundii</i>	+	–	V	V	–	V	V	V	V	–	V	+	+	V	+	V	+	V
	<i>C.diversus</i>	+	–	+	V	–	V	V	–	V	–	+	+	+	–	V	V	+	–
	<i>C.amalonicus</i>	+	–	+	V	–	+	V	–	–	–	+	+	+	–	+	V	+	+
	<i>C.amalonicus</i> type 1	+	–	+	V	–	–	V	–	–	–	+	+	+	–	+	+	+	+
	<i>Salmonella</i> spp.	–	+	+	V	–	V	–	V	–	–	–	+	+	V	V	–	V	–
	<i>S.typhi</i>	–	+	–	V	–	–	–	V	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–
	<i>S.cholerae</i> sui	–	V	+	V	–	–	–	V	–	–	–	+	+	–	V	–	–	–
	<i>S.paratyphy</i> A	–	–	V	V	–	–	–	V	–	–	–	+	+	–	+	–	+	–
	<i>S.arizonae</i>	V	+	+	V	–	V	–	+	V	–	V	+	+	–	+	–	+	V
	<i>S.gallinarum</i>	–	V	–	V	–	–	–	+	–	–	–	+	+	–	–	–	V	V
	<i>S.pullorum</i>	–	+	V	V	–	–	–	V	–	–	–	+	+	–	V	–	+	–
KLBSIELLEAE	<i>K.pneumoniae</i>	+	V	–	–	–	+	V	–	V	V	–	+	+	V	+	+	+	+
	<i>K.oxytoca</i>	+	+	–	–	–	V	V	–	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>K.ozanae</i>	V	V	–	V	–	V	V	–	–	–	–	+	+	V	V	V	V	V
	<i>K.rhinoscleromatis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	V	–	–	+	+	V	V	V	–	V
	<i>Klebsiella</i> group 47	+	+	+	–	–	+	+	–	+	V	+	+	+	V	+	+	+	+
	<i>E.aerogenes</i>	V	+	+	–	–	V	–	–	V	+	–	+	+	V	V	+	+	+
	<i>E.cloacae</i>	V	V	V	V	–	V	V	–	V	+	–	+	+	V	V	V	+	V
	<i>E.agglomerans</i>	V	–	–	–	–	V	V	–	V	V	V	+	+	V	V	V	V	V
	<i>E.gergoviae</i>	+	V	+	–	–	V	+	–	+	+	–	+	+	V	–	+	+	+
	<i>E.sakazakii</i>	+	V	V	V	–	V	–	–	+	V	–	+	+	V	–	+	+	+
	<i>E.alevi</i> (Hafnia)	V	+	+	–	–	V	–	–	V	V	–	+	V	–	V	–	V	–
	<i>S.liquefaciens</i>	V	V	+	V	–	V	–	–	V	V	–	+	+	V	+	+	V	V
	<i>S.marcescens</i>	V	+	V	–	–	V	V	–	–	V	–	+	+	V	V	+	V	–
	<i>S.rubidea</i>	+	V	V	–	–	V	–	–	V	V	–	+	+	V	+	V	+	+
	<i>S.odorifera</i> 1	V	+	V	–	–	V	V	–	V	V	V	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S.odorifera</i> 2	V	+	–	–	–	+	–	–	V	V	V	+	+	+	+	–	+	V
	<i>S.fonticola</i>	+	V	+	–	–	V	–	–	+	–	–	+	+	V	+	–	V	+
	<i>S.plymuthica</i>	+	–	–	–	–	V	–	–	V	V	–	+	V	+	V	+	+	V
PROTEAE	<i>P.vulgaris</i>	–	–	–	–	+	V	V	V	V	–	V	+	–	–	–	V	V	–
	<i>P.mirabilis</i>	–	–	V	–	V	V	V	V	V	V	–	+	–	–	–	V	–	–
	<i>M.morganii</i>	–	–	+	–	V	V	+	V	–	–	+	+	–	V	–	–	–	–
	<i>M.morganii</i> 1	–	+	V	–	+	–	+	V	V	–	+	+	–	+	–	–	–	–
	<i>P.penneri</i>	–	–	–	–	+	–	+	V	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–
	<i>P.rettgeri</i>	–	–	V	–	+	V	+	–	–	–	+	+	V	–	–	V	–	V
	<i>P.stuartii</i>	–	–	–	–	V	V	V	–	–	–	+	+	V	–	–	V	–	V
	<i>P.alcalifaciens</i>	–	–	V	–	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–
	<i>P.rustigiani</i>	–	–	–	–	+	V	–	–	V	–	+	+	–	–	–	V	–	–
YERSINIAE	<i>Y.enterocolitica</i>	V	–	V	–	–	–	V	–	–	V	V	+	+	V	+	V	V	–
	<i>Y.pestis</i>	V	–	–	–	–	–	–	–	V	–	–	+	+	–	V	–	+	–
	<i>Y.intermedia</i>	V	–	+	–	–	V	V	–	–	V	+	+	+	V	+	+	+	V
	<i>Y.pseudotuberculosis</i>	V	–	–	–	–	–	+	–	–	V	–	+	+	–	–	–	V	V

+ : positive reaction

– : negative reaction

V: variable reaction,
10-95% positivity

BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. Ronald M. Atlas. Handbook of Microbiological Media, 4th Edition (2010) CRC Press.
2. Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller, and Robert H. Tenen. Manual of Clinical Microbiology, 8th Edition (2003) ASM Press.
3. Edwin H. Lennette. Manual of Clinical Microbiology, 4th Edition (1985) ASM Press.
4. William H. Ewing. Differentiation of enterobacteriaceae by biochemical reactions (1973) Atlanta, Ga. : U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Center for Disease Control.



Liofilchem® and the Liofilchem company logo are registered trademarks of LIOFILCHEM s.r.l.



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net



F10213
Rev.3 / 28.05.2014