

# Microbiología

## Bactident® E. coli

### Kit de identificación rápida para E. coli

#### Contenido:

50 varillas indicadoras  
50 recipientes de reacción  
1 bandeja para colocar los recipientes de reacción  
1 gotero con el reactivo de KOVACS (5 ml)

#### Composición:

La zona reactiva de una tira indicadora Bactident® E. coli contiene:

4-Metilumbeliferil-β-D-glucuronido 3,0 nmol  
L-Triptófano 0,4 μmol

Sustancias tampón  
Detergente

El reactivo de KOVACS contiene (mol/l):

Dimetilaminobenzaldehído 0,07  
N-Butanol 1,6  
Ácido clorhídrico, 37 % 0,6

#### Fundamento:

La identificación de E. coli tiene lugar detectando los enzimas β-D-glucuronidasa y triptofanasa (formación de indol). En la familia de las enterobacteriáceas la actividad de la β-D-glucuronidasa es una propiedad característica específica de E. coli.

El 94 % de todas las cepas de E. coli poseen este enzima. Adicionalmente sólo algunas especies de Salmonella y Shigella muestran una reacción positiva de β-D-glucuronidasa. La formación de indol a partir de triptófano es positiva en el 99 % de todas las cepas de E. coli.

En el caso de las presentes varillas indicadoras el sustrato 4-metilumbeliferil-β-D-glucuronido (MUG) es escindido en presencia de β-D-glucuronidasa. Una fluorescencia azul de tonalidad clara a la luz UV (360 nm) indica la presencia de este enzima.

La comprobación de la formación de indol tiene lugar tras adición del reactivo de KOVACS mediante la coloración roja de la suspensión.

#### Aplicación:

Se pone en suspensión una colonia individual bien crecida en 0,2 ml de agua desionizada para dar una opalescencia clara (estándar 2 de MacFarland).

**Estabilidad:** ver fecha de caducidad.

Tomar solamente la cantidad de varillas que sea necesaria en cada caso. No tocar la zona reactiva de las varillas indicadoras. Cerrar de nuevo de forma firme los recipientes. Por favor observar la temperatura de almacenamiento indicada.

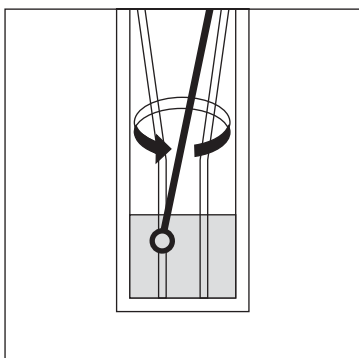
#### Eliminación no perjudicial:

Después de su uso, las varillas indicadoras y los recipientes de reacción, como materia que contiene bacterias, deben eliminarse de forma no perjudicial. Esto puede realizarse por combustión, tratamiento en autoclave o por introducción en una solución desinfectante al 5 ó 6 %, durante un mínimo de 6 horas.

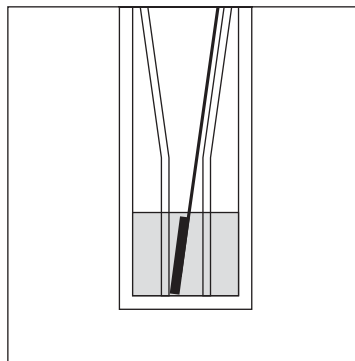
#### Técnica:



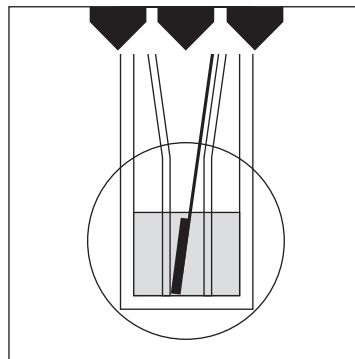
- 1.**  
Con el asa de inoculación extraer del medio de cultivo colonias bien crecidas que se encuentren individualizadas (fig. 1).



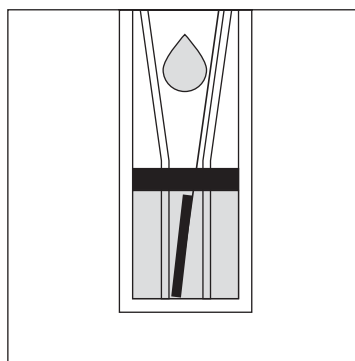
- 2.**  
Poner bien en suspensión la masa bacteriana en una cubeta de reacción en 200 μl de agua desionizada y colocar el recipiente de reacción en la bandeja (fig. 2).



- 3.**  
Introducir la varilla indicadora en el recipiente de reacción a lo largo de la fisura cada vez más estrecha. A través de la guía la varilla indicadora es fijada en el centro de la cámara de reacción (fig. 3).



- 4.**  
Incubación a 37 °C durante 30–120 minutos, según sea el medio de cultivo empleado (ver tabla 1).



- 5.**  
Evaluación de la reacción bajo una lámpara UV (aprox. 360 nm). Una fluorescencia azul muestra la presencia de β-D-glucuronidasa (fig. 4).

- 6.**  
Para detección del indol formado añadir una gota del reactivo de KOVACS en la cubeta (a partir del gotero adjunto). Una reacción positiva es indicada tras 1–2 minutos mediante una coloración roja (fig. 5).

**Tabla 1:**

Actividad de β-D-glucuronidasa de E. coli (ATCC 25922) tras cultivo en diferentes medios de cultivo

| Medios de cultivo                       | Tiempo de incubación [minutos] |     |     |     |
|-----------------------------------------|--------------------------------|-----|-----|-----|
|                                         | 30                             | 60  | 90  | 120 |
| Agar sangre                             | +                              | ++  | ++  | ++  |
| Agar sangre hervida                     | +                              | ++  | ++  | ++  |
| Agar CASO                               | +                              | ++  | ++  | ++  |
| Agar nutritivo estándar I               | +                              | ++  | ++  | ++  |
| Agar nutritivo estándar II              | +                              | ++  | ++  | ++  |
| Agar BROLACIN                           | –                              | (+) | ++  | ++  |
| Agar Mac-CONKAY                         | –                              | –   | +   | ++  |
| Agar para enterobacteriáceas de HEKTOEN | –                              | –   | (+) | +   |
| Agar EMB                                | –                              | –   | (+) | +   |
| Agar XLD                                | –                              | –   | +   | ++  |
| Agar desoxicolato-lactosa               | –                              | –   | +   | ++  |

Actividad enzimática: – negativa  
+ positiva – fluorescencia diferenciada  
++ positiva – fluorescencia muy intensa

#### Nota:

El tiempo de reacción depende del medio de cultivo utilizado. Si se examina una colonia crecida en medios de cultivo pobres en hidratos de carbono (agar sangre, agar sangre hervida, agar CASO, agar estándar I, agar estándar II) la reacción puede evaluarse ya después de un tiempo de incubación de 30 hasta máximo 60 minutos. En el caso de colonias que se aíslan en medios de cultivo con elevado contenido de hidratos de carbono (agar Mac-CONKEY, agar para enterobacteriáceas de HEKTOEN, agar EMB, agar XLD, agar desoxicolato-lactosa), el tiempo de incubación necesario es de 90–120 minutos. En el caso de emplear medios de cultivo que contengan como única peptona hidrolizado de caseína hidrolizado por ácido (agar MUELLER-HINTON), la reacción del indol para los tiempos de incubación empleados puede ser muy débil o negativa.