

Diatabs™ - Instrucciones de uso

Revisión: DBV0008B
Fecha de publicación: 12.04.2013
Idioma: Español

Diatabs™ Para la identificación bacteriana

Fabricante

ROSCO Diagnostica A/S, Taastrupgaardsvej 30, DK-2630 Taastrup, Denmark, www.rosco.dk

Uso previsto

En procedimientos cualitativos para la detección *in vitro* de propiedades microbianas en la identificación de microorganismos. Diatabs se utiliza en los ensayos de identificación en forma de comprimidos individuales.

Principios del procedimiento

Diatabs está disponible en dos modalidades: Diatabs para utilizar en placas de agar y Diatabs para disolver en líquido. La mayoría de los Diatabs permiten una ejecución rápida del ensayo utilizando reacciones enzimáticas cromogénicas y ensayos convencionales modificados. Los Diatabs para placas de agar detectan los patrones de sensibilidad naturales o los requisitos del factor de crecimiento. Tras la incubación, se examinan las placas y se mide el diámetro de las zonas de inhibición alrededor del comprimido para su interpretación con la tabla de zonas (sensibles/resistentes) en cada comprimido. Los Diatabs para líquido están basados en las propiedades enzimáticas de los microorganismos detectados mediante diferentes sistemas de indicador.¹

Para más información sobre los Diatabs de identificación bacteriana, consulte la Guía de usuario Diatabs² en www.rosco.dk.

Instrucciones de conservación

- 1) A la recepción del producto consulte el símbolo de temperatura que figura en la etiqueta. Los Diatabs con un símbolo en la etiqueta de 2 °C - 8 °C deben conservarse en frigorífico y los Diatabs con un símbolo de 25 °C como temperatura máxima deben conservarse a temperatura ambiente.
- 2) Si los Diatabs se conservan en el frigorífico, deberá dejarse que los viales alcancen la temperatura ambiente (durante 30 - 60 minutos) antes de proceder a su apertura para evitar así la formación de condensación en los mismos.
- 3) Los Diatabs deben conservarse en los viales bien protegidos de la luz directa y de una humedad elevada. Si se suministra con material absorbente de la humedad (cápsula desecante), este deberá conservarse en el vial.

La fecha de caducidad de los viales sólo es válida si se conservan los viales cerrados a la temperatura prescrita.

Reactivos

Los Diatabs son comprimidos de 6 ó 9 mm que se suministran en viales de 15, 25 ó 50 unidades. Los comprimidos de 9 mm llevan impresos en ambas caras un código único de 5 caracteres. Los comprimidos de 6 mm para su uso en agar presentan un código de color mientras que los Diatabs para disolver en líquido no llevan código. El usuario deberá registrar el contenido del tubo de ensayo cuando utilice más de un Diatab.

Precauciones

Respetar las instrucciones de uso. Ninguno de los comprimidos están previstos para su uso en ensayos de sensibilidad. El rendimiento de los Diatabs depende no sólo del tipo específico de Diatabs sino también del inóculo y del tiempo de incubación utilizados así como de la interpretación del diámetro de la zona o del cambio de color. Los productos deberán ser manejados exclusivamente por técnicos que dispongan de la formación adecuada. Utilizar unas pinzas para manejar los Diatabs.

Deberán tomarse precauciones frente a los riesgos microbiológicos esterilizando adecuadamente las muestras, los recipientes, los medios y los tubos de ensayo tras su uso. Los productos Diatabs, tubo y las placas de agar con posibles patógenos se eliminan como residuos microbiológicos.

Muestras

Las muestras deben recogerse y manejarse de acuerdo con las directrices recomendadas y, además, deben ser un cultivo puro totalmente típico de la especie que se desea identificar.

Procedimiento

Materiales suministrados: Diatabs del tipo indicado en la etiqueta del envase.

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo, tubos de ensayo, reactivos, medios de control de calidad y equipos de laboratorio necesarios para realizar la identificación (p. ej., ansas para inoculación, bastoncitos de algodón, pipetas y recipientes para recogida).

I. Diatabs en agar

Para la identificación puede ser útil la sensibilidad de los microorganismos aislados en muestras clínicas frente a agentes antimicrobianos o de otro tipo. Los microorganismos se pueden identificar y diferenciar midiendo el diámetro de la zona tras el cultivo con un inóculo estandarizado aplicado a un agar específico.

I.1. Preparación del inóculo

Suspender varias colonias morfológicamente similares de una placa de agar cultivada durante 18-24 h (no selectiva) en 4-5 ml de solución de NaCl al 0,9 % para obtener una turbidez similar a la del patrón McFarland 0,5.

I.2. Inoculación

Al cabo de 15 minutos, introducir un bastoncito de algodón estéril en la suspensión ajustada y eliminar el inóculo del bastoncito presionando firmemente contra el interior del tubo. Al cabo de 15 minutos utilizar los bastoncitos para inocular el agar especificado en la Tabla 1. Inocular la superficie seca de la placa de agar pasando el bastoncito por toda la superficie. Dejar secar la superficie durante 3-5 minutos y como máximo 15 minutos antes de aplicar los Diatabs en la superficie del agar.

I.3. Incubación y lectura de las placas

Transcurridos 15 minutos, colocar el agar hacia arriba e incubar las placas según la especie (aerobios, anaerobios o en CO₂ al 5-10%) de acuerdo con la Tabla 1. Examinar las placas tras incubar durante toda la noche, salvo que se indique lo contrario en la Tabla 1.

Medir los diámetros de las zonas de inhibición completa observadas mediante inspección visual. Las zonas se miden con una precisión de milímetro.

RESULTADOS:

Comparar el diámetro de zona registrado con los de la Tabla 1. Los resultados para una muestra específica se registran como Sensible (S) o Resistente (R) de acuerdo con las zonas de interpretación. Utilizar la Tabla 1 para realizar una identificación preliminar de la cepa bacteriana.

II. Diatabs para líquidos

II.1. Preparación del inóculo

El microorganismo que se desea analizar debe tener entre 18 y 24 horas y ser un cultivo puro. Los aislados de crecimiento lento pueden analizarse con un cultivo de 48 horas.

Preparar en un tubo una suspensión pesada (como mínimo patrón McFarland 4) del microorganismo analizado en 0,25 ml de solución salina. Puede inocularse una batería de Diatabs con un mismo inóculo.

II.2. Inoculación

Añadir un Diatabs al tubo. Algunos Diatabs requieren, además, la adición al tubo de 3 gotas de aceite de parafina estéril (especificado en la Tabla 2).

II.3. Incubación y lectura de los tubos

Cerrar el tubo e incubar a 35-37 °C durante 4 horas, durante la noche o según lo especificado en la Tabla 2.

Tras la incubación observar el viraje de color. En algunos Diatabs es necesario añadir un reactivo antes de leer el color y algunos Diatabs pueden presentar dos reacciones.

Tras la interpretación del color, añadir un reactivo y leer el nuevo color (especificado en la Tabla 2).

RESULTADOS:

Los Diatabs para líquido se clasifican según la reacción de color. En la Tabla 2 se muestran las reacciones de color para las cepas negativas y positivas. Anotar la puntuación en un formulario adecuado.

III. Diatabs para otros procedimientos

Oxidasa

Colocar un papel de filtro grueso en una placa de Petri vacía y colocar el comprimido de Diatabs sobre ella. Añadir una gota de solución salina sobre la parte superior del comprimido, esperar 60 segundos y añadir otra gota de solución salina sobre dicha parte superior. Cuando el papel de filtro esté húmedo, frotar la colonia sobre el papel de filtro húmedo aprox. a 3-8 mm del borde del comprimido utilizando un ansa de plástico. Realizar la lectura al cabo de 2 minutos. Pueden analizarse varios aislados con el mismo Diatabs y el mismo papel de filtro.

Factores X, V y X+V

Para diferenciar *Haemophilus* spp. se utilizan comprimidos con el factor de crecimiento X (hemina), con el factor V (NAD) o con ambos factores (X+V). Los tres comprimidos se colocan en el agar, los del factor X y el factor V separados entre sí 2 cm y el del factor X+V más alejado de ellos. Utilizar únicamente un medio libre de los dos factores de crecimiento (p. ej., agar TSA).

Incubar por la noche a 35-37 °C durante 18-24 horas y observar si existe o no crecimiento en las proximidades del comprimido. Si el microorganismo sólo requiere el factor X, crecerá solamente en las proximidades de los comprimidos de factor X y X + V; si el microorganismo sólo requiere el factor V, crecerá solamente en las proximidades de los comprimidos de factor V y X + V y si requiere ambos factores X y V, crecerá solamente en las proximidades de los comprimidos de factor X + V.¹

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

Para monitorizar el rendimiento de los comprimidos deberá utilizarse un procedimiento de control de calidad con cepas ATCC o cepas positivas o negativas conocidas. El control de calidad deberá realizarse de acuerdo con los procedimientos de control de calidad de laboratorio reconocidos. En las Tablas se presentan las reacciones de color negativas y positivas así como las cepas sensibles o resistentes que indican el correcto rendimiento de todo el procedimiento. Si se observan resultados de calidad aberrantes, no deberán registrarse los resultados.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

1. Deberán utilizarse cultivos puros de microorganismos ya que una población microbiana mixta daría lugar a resultados aberrantes.
2. El uso de Diatabs para la identificación de microorganismos y la interpretación de los resultados requiere la presencia de un técnico experto en métodos microbiológicos generales que sepa manejar de forma razonable conocimientos, experiencias, información sobre muestras así como otros procedimientos pertinentes antes de establecer la identidad del aislado.
3. Los resultados de ensayos adicionales pueden afectar al resultado de la identificación final.
4. Los comprimidos no están previstos para su uso en procedimientos de ensayo de sensibilidad.

5. La exactitud de los Diatabs está basada en las propiedades microbianas *in vitro* conocidas para especies bacterianas específicas clínicamente relevantes¹. Si se observan resultados atípicos o incoherentes se recomienda repetir el ensayo. Un resultado imprevisto debe ser notificado, pudiéndose enviar los aislados a laboratorios de referencia para su posterior análisis.

REFERENCIAS:

- 1) Versalovic J et al.: Manual of Clinical Microbiology, 10th ed. 2011, ASM, Washington D.C.
- 2) Diatabs User's Guide 8th ed. 2009. www.rosco.dk

