

## CHROMOBRIU

REF B0421584

IVD

### → USO

Medio de cultivo cromogénico que permite el aislamiento, recuento de colonias, identificación presuntiva y detección simultánea de cultivos mixtos en muestras del tracto urinario.

### FUNDAMENTO

Las infecciones urinarias constituyen una de las causas más frecuentes de consulta médica. Si a ello se une el incremento de la resistencia a los antimicrobianos observada entre los patógenos urinarios, es indudable la necesidad de realizar en forma sistemática urocultivos para conocer el agente etiológico y efectuar el antibiograma.

Por tal motivo, los urocultivos representan hoy en día la práctica más frecuente que realiza el laboratorio de microbiología.

Como medios de cultivo para realizar el urocultivo, se ha aconsejado usar el agar sangre y el agar Mac Conkey, y en Europa y nuestro país, está más extendido el uso del medio CLDE (Cistina Lactosa Deficiente en Electrolitos).

Si bien el agar sangre se considera el medio óptimo para el aislamiento y recuento de colonias en orina, solo permite muy poca diferenciación entre los microorganismos aislados y falla completamente cuando crecen cepas de *Proteus* invasoras.

Los medios de cultivo diferenciales (por ejemplo CLDE o Mac Conkey) detectan caracteres fenotípicos bacterianos que ponen de manifiesto la presencia de enzimas características de grupos taxonómicos y orientan hacia la identificación presuntiva de las colonias bacterianas desarrolladas en ellos, aunque la identificación definitiva de cada colonia suele requerir su aislamiento y la realización de pruebas bioquímicas adicionales.

El medio CLDE y el Agar Mac Conkey impiden la invasión de *Proteus* spp., pero su capacidad diferencial es pequeña, pues solo diferencia las colonias fermentadoras de lactosa de las no fermentadoras.

En los últimos años se han producido avances importantes en la formulación de los medios de cultivo diferenciales con la aparición de medios cromogénicos. Estos medios incluyen en su composición sustratos cromogénicos de enzimas específicas bacterianas. Cuando la enzima actúa sobre estos cromógenos, estos sufren un cambio en su estructura formándose una nueva estructura molecular coloreada. La interacción entre los microorganismos y los sustratos cromogénicos depende del tipo de sustrato usado, pues la sustancia coloreada producida puede quedar absorbida en el interior de la célula bacteriana coloreando la colonia, o difundir en el medio de cultivo produciendo un cambio de color en éste.

Laboratorios Britania presenta el nuevo producto: Chromobrit IU, donde a un medio basal, se agrega una mezcla de sustratos cromogénicos para detectar en forma simultánea diversas activida-

des enzimáticas en un mismo medio, lo que permite la identificación presuntiva directa con un mínimo de pruebas adicionales de la mayoría de las bacterias causantes de infección urinaria.

Entre las bacterias más comúnmente aisladas en las infecciones urinarias se encuentran *Escherichia coli*, otros miembros de la familia Enterobacteriaceae y *Enterococcus* spp.

Por ello, idealmente los medios para urocultivo, deben permitir la identificación directa de estas bacterias y el crecimiento de los restantes uropatógenos que no sean identificados directamente por su crecimiento como colonias típicas en el medio usado (por ejemplo *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp.) de manera que puedan ser subcultivadas para su identificación posterior.

En el medio Chromobrit IU, se puede poner de manifiesto en las colonias la actividad glucosidasa y glucuronidasa, pudiendo estudiar directamente sobre las colonias la detección de indol si es necesario y la presencia de actividad triptofano desaminasa.

La detección de estas actividades enzimáticas junto con la morfología de la colonia permite reconocer presuntivamente a *E. coli*, Grupo KES, *Enterococcus* spp., *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (triptofano deaminasa positivo) y además *Proteus vulgaris* (indol positivo).

En el medio de cultivo, el extracto de levadura, la peptona de carne y la tripteína aportan los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano. Además la tripteína y el L-triptofano aportan el sustrato para la enzima triptofanasa y triptofano deaminasa.

El almidón es la fuente de glucosa, hidrato de carbono fermentable; el piruvato de sodio presente permite reparar células injuriadas; y el citrato de hierro y amonio, permite la detección de la enzima triptofano deaminasa, presente en la tribu Proteae.

La presencia de la mezcla cromogénica permite la diferenciación simultánea de *Escherichia coli*, grupo KES, *Enterococcus* spp.

Es propio de *Escherichia coli* la presencia de la enzima  $\beta$ -glucuronidasa, la cual actúa sobre el sustrato cromogénico presente en el medio de cultivo y se libera un compuesto de color verdoso.

*Enterococcus* spp. y las bacterias del grupo KES, presentan la enzima  $\beta$ -glucosidasa la cual actúa sobre el sustrato cromogénico presente en el medio y se libera un compuesto de color rosado.

### CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0421584: 6 frascos x 50 mL

**FÓRMULA**

ALMIDÓN	1.0 G
EXTRACTO DE LEVADURA	6.0 G
PEPTONA DE CARNE	6.0 G
TRIPTEÍNA	14.0 G
L-TRIPTOFANO	1.0 G
PIRUVATO DE SODIO	1.0 G
CITRATO DE HIERRO Y AMONIO	0.02 G
MEZCLA CROMOGENICA	0.2 G
AGAR	15.0 G
AGUA PURIFICADA	1000 ML

pH final: 6,9 ± 0.2 a 25 °C

La fórmula puede ser ajustada y/o suplementada para cumplir los criterios de desempeño y aceptación de producto, cumpliendo su uso previsto

**MEIOS DE CULTIVO LISTO PARA USAR EN FRASCOS**
**INSTRUCCIONES**

Colocar los frascos cerrados en baño maría y llevar a ebullición para fundir el medio de cultivo sólido contenido en los mismos.

Una vez que se ha fundido el medio de cultivo, retirar cuidadosamente los frascos del baño maría y dejar enfriar.

Cuando alcanzan temperatura 45-50 °C, abrirlas y distribuir aproximadamente 15 mL en placas de Petri estériles

**CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO**

Medio de cultivo color ámbar.

**ALMACENAMIENTO**

Medio de cultivo listo para usar en frascos a 10-35 °C

Medio de cultivo listo para usar en placas a 2-8 °C

**PROCEDIMIENTO**
**Siembra**

Directa, estriando la superficie del medio de cultivo utilizando ansa calibrada (Britania).

**Incubación**

En aerobiosis, a 33-37 °C durante 18-24 horas. Para búsqueda de

S. agalactiae, incubar en atmósfera capneica, a 33 – 37 °C.

Nota: Streptococcus agalactiae y las especies de Candida pueden requerir mayor tiempo de incubación

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Efectuar el recuento de colonias y tener en cuenta la alícuota de muestra sembrada para realizar el cálculo de UFC/ml.

La detección de la actividad enzimática bacteriana, junto con la morfología de la colonia, permite reconocer presuntivamente a:

**E. coli: colonias verdes.**

β-glucuronidasa: positivo.

β-glucosidasa: negativo.

Nota: entre el 95-98 % de las cepas de Escherichia coli presentan la enzima β-glucuronidasa.

**Grupo KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia): colonias rosadas.**

β-glucuronidasa: negativo.

β-glucosidasa: positivo.

**Enterococcus spp.: colonias puntiformes rosadas.**

β-glucuronidasa: negativo.

β-glucosidasa: positivo.

**Proteus-Morganella-Providencia: colonias amarronadas.**

Triptofano deaminasa: positivo.

β-glucuronidasa: negativo.

β-glucosidasa: negativo.

Indol positivo: Proteus indológenos (ej: Proteus vulgaris), Morganella morganii, Providencia spp.

Indol negativo: Proteus mirabilis, Proteus penneri.

**Pseudomonas aeruginosa: colonias blancas o pigmentadas.**
**Staphylococcus aureus: colonias blancas-amarillentas.**
**Streptococcus agalactiae: colonias puntiformes generalmente verdosas.**
**Candida spp: colonias blancas.**
**En caso de realizar la prueba de indol, proceder de la siguiente manera:**

En un papel de filtro agregar una gota del Reactivo Cinamaldehído (p-dimetilaminocinamaldehído).

Mediante el uso de un ansa estéril tomar la colonia en estudio y depositarla donde se encuentra el reactivo.

La aparición de un color turquesa-azul, dentro de los treinta segundos, indica la positividad de la prueba.

**CONTROL DE CALIDAD**

MICROORGANISMOS	CARACTERÍSTICAS Y COLOR DE LAS COLONIAS	PRUEBA DE INDOL
E. COLI ATCC 25922	COLONIAS CON CENTRO VERDE	POSITIVO
E. COLI ATCC 35218	COLONIAS CON CENTRO VERDE	POSITIVO
E. COLI O <sub>157</sub> H <sub>7</sub> ATCC 700728 K.	COLONIAS BLANCAS	POSITIVO
PNEUMONIAE ATCC 700603 E.	COLONIAS CON CENTRO ROSADO	NEGATIVO
CLOACAE ATCC 13047	COLONIAS ROSADAS	NEGATIVO
S. MARCESCENS ATCC 13880	COLONIAS ROSAS PIGMENTADAS	NEGATIVO
P. MIRABILIS ATCC 43071	COLONIAS AMARRONADAS	NEGATIVO
E. FAECALIS ATCC 29212	COLONIAS PUNTIFORMES ROSADAS	--
S. AUREUS ATCC 6538	COLONIAS MEDIANAS BLANCAS	--
S. AUREUS ATCC 43300	COLONIAS MEDIANAS BLANCAS	--
S. EPIDERMIDIS ATCC 12228	COLONIAS MEDIANAS BLANCAS	--
S. AGALACTIAE ATCC 13813	COLONIAS PUNTIFORMES VERDES	--
P. AERUGINOSA ATCC 27853	COLONIAS BLANCAS	--
C. ALBICANS ATCC 10231	COLONIAS BLANCAS	--

**LIMITACIONES**

-Entre el 95-98 % de las cepas de Escherichia coli presentan la enzima β-glucuronidasa.  
 -Algunas cepas de Salmonella spp., Shigella spp., Citrobacter freundii y Yersinia spp. presentan la enzima β-glucuronidasa.  
 Con excepción de Escherichia coli β-glucuronidasa positivo, es necesario realizar pruebas bioquímicas adicionales para la identificación definitiva del microorganismo hallado.

**MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS**

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

**PRECAUCIONES**

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

**REFERENCIAS**

Manafi M., W Kneifel, and S. Bascomb. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol Rev. 55:335-348.

**INDICACIONES AL CONSUMIDOR**

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.  
 Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

**AUTORIZACIÓN ANMAT**

PM - 1292 - 24  
 Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

**SÍMBOLOS UTILIZADOS**

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO Nº	 LOTE Nº	 ESTÉRIL	
 ELABORADOR	 Nº DE DETERMINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO	 LÍMITE DE TEMPERATURA