

PREIDENTIFICACIÓN

FICHA PRÁCTICA MICROKIT

¿SABÍA UD. QUE CON LA SIMPLE AYUDA DE **3 TEST** DE MICROKIT, PODEMOS LLEGAR AL SCREENING INMEDIATO DE LAS COLONIAS DE **LOS 10 GÉNEROS DE BACTERIAS** MÁS BUSCADOS EN LOS LABORATORIOS FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS, ALIMENTARIOS Y AMBIENTALES (AGUAS, SUPERFICIES Y AIRE)?...EN EFECTO, SIGA EL SIGUIENTE ESQUEMA:

| | | | | |
|-------------------------|---|---|--------------|--|
| GRAM (1) (SDA004) | ↗ | COCOS G+ CATALASA (2) (KMT299) | ↗ Catalasa + | ↗ Staphylococcus (facultativo, crece con anaerobiosis) ↘ Micrococcus (aerobio, no crece con anaerobiosis) |
| | | | ↘ Catalasa - | ↗ Enterococcus (PYR +, rojo) ↘ Streptococcus (PYR -, no rojo) |
| | → | Bacilos G - CITOCROMO- -OXIDASA (3) (KOT050) | ↗ Oxidasa + | → Pseudomonas , (Aeromonas, Vibrio, Campylobacter, Legionella...) |
| | | | ↘ Oxidasa - | → Escherichia , (Salmonella, Shigella, Enterobacterias) |
| | ↘ | Bacilos G + CATALASA (2) (KMT299) | ↗ Catalasa + | ↗ Bacillus (esporas que no deforman la célula) ↘ Listeria (sin esporas) |
| | | | ↘ Catalasa - | ↗ Clostridium (esporas que deforman la célula, y son anaerobios estrictos, sólo crecen con anaerobiosis) ↘ Lactobacillus (sin esporas, pequeñas colonias blancas) |

- (1) Con **NEOGRAM (KIN001)** no necesitamos la tinción para distinguir G+ de G- (si para distinguir cocos de bacilos) por lo que nos ahorramos la manipulación, el microscopio y el tiempo de teñir, siempre que no necesitemos distinguir *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* o *Lactobacillus*. Simplemente añada una gota de reactivo sobre la colonia, espere 20 segundos y tóquela con un palillo. Si al levantarlo 1 cm se forma un filamento mucoso detectable a simple vista, se trata de un Gram Negativo (G-) y si no, de un Gram Positivo (G+). Precaución: reactivo corrosivo para la piel y las mucosas, en caso de contacto lavar abundantemente con agua durante 15 minutos.
- (2) Tras añadir una gota de reactivo reciente de **CATALASA (KMT299)** a la colonia, si burbujea en sólo unos segundos, es Catalasa Positiva y si no, Catalasa Negativa. Precaución: fabricado bajo pedido, no almacenar más de 2 meses o pierde sus propiedades; controlar con cepa *Micrococcus luteus* (CRIOSTRAIN ATCC 10240); si no burbujea, el reactivo ha caducado y ya no es utilizable.
- (3) Las tiras para la prueba de la **CITOCROMO-OXIDASA (KOT050)** de MICROKIT viran a azul oscuro en unos segundos al tocar con ellas las colonias de bacterias Citocromo-oxidasa Positivas, y se quedan blancas si se trata de bacterias Citocromo-oxidasa Negativas. Precaución: Use las tiras de citocromo-oxidasa de MICROKIT porque son realmente estables, de modo que viran a azul oscuro a partir de blanco puro (no gris, como en la mayoría de discos, bastones o reactivo, donde no está nada conseguida la perfecta estabilidad del producto). Atención a algunas especies de, por ejemplo, *Pseudomonas* o *Legionella*, que son citocromo-oxidasa lentos (tardan 1 minuto).

MODO DE EMPLEO DE LOS TRES KITS DE PREIDENTIFICACIÓN

NEOGRAM (KIN001) →

☞ BAÑAR LA COLONIA (NO USAR MEDIOS ACIDOS NI EMB-LEVINE NI CULTIVOS ENVEJECIDOS) CON UNA GOTTA DE NEOGRAM. TOCARLA CON UN PALILLO Y REMOVER SUAVEMENTE DURANTE 15-20 SEGUNDOS. LEVANTAR SUAVEMENTE UN CENTIMETRO Y OBSERVAR OBLICUAMENTE.

☞ LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS GENERAN EN UN MINUTO UN FILAMENTO DETECTABLE A SIMPLE VISTA. (Foto 1)

☞ LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS, NO.



← **CATALASA (KMT299)**

☞ BAÑAR LA COLONIA CON UNA GOTTA DE REACTIVO FRESCO PARA LA CATALASA (NO VÁLIDO CON AGAR-SANGRE NI CON ASA DE PLATINO. ¡NO AÑADIR LA COLONIA AL REACTIVO, SINO AL REVÉS!). ESPERAR ESCASOS SEGUNDOS.

☞ TODAS LAS BACTERIAS CATALASA POSITIVAS (LA MAYORIA DE BACTERIAS AEROBIAS), GENERAN EN UNOS SEGUNDOS BURBUJAS DE OXÍGENO DETECTABLES A SIMPLE VISTA. (Foto 2)

☞ LAS BACTERIAS CATALASA NEGATIVAS, NO.

CITOCROMO-OXIDASA (KOT050) →

☞ TOCAR LA COLONIA CON EL CUADRADO DEL EXTREMO DE LA TIRA DE CITOCROMO-OXIDASA. O BIEN TOMAR LA COLONIA CON UN PALILLO O UN ASA DE PLATINO O DE PLÁSTICO (NUNCA DE NICROM. NO USAR EN MEDIOS ACIDOS pH < 5,5, NI EN ENDO, AGAR VERDE BRILLANTE, BISMUTH SULFITE, O AZULES, COMO m-FC) Y EXTENDERLA SOBRE EL CUADRADO. ESPERAR UNOS 30 SEGUNDOS.

☞ LAS BACTERIAS CITOCROMO-OXIDASA POSITIVAS GENERAN UN VIRAJE DEL BLANCO AL AZUL OSCURO EN UNOS 30 SEGUNDOS O MENOS. (Foto 3)

☞ LAS CITOCROMO-OXIDASA NEGATIVAS, NO.



⚠ No aplicar las distintas pruebas a una misma colonia, ya que habría interferencias. Obtener antes cultivos puros, con múltiples colonias idénticas, a partir de una sola colonia, para poder asegurar que se trata de la misma bacteria.

TRUCO PRÁCTICO: Los hongos se diferencian a simple vista por sus colonias filamentosas, pero ¿cómo diferenciar, sin necesidad de microscopio, si una colonia es de una bacteria o de una levadura? Existen más de 50 géneros de levaduras (Barnett) y cientos de géneros de bacterias (Bergey); por ello la teoría de que las bacterias son rojas al crecer con TTC (SDA018) y las levaduras no, o la famosa explicación de que las colonias de levaduras son alargadas y las de bacterias redondeadas, son simplificaciones que dan lugar a serios errores. Todas las levaduras son Gram positivas. Pero la mejor forma de diferenciar levaduras de bacterias desde el comienzo, es utilizar un medio general con antibacterianos de amplio espectro que ataquen su ADN, como el **Cloranfenicol** (polvo SMS195, polvo estéril SMT990, medio de cultivo Sabouraud Dextrose Agar + CAF: Polvo DMT102, Placas PPL042, Plaquetas M.F. PPL912, Tubos TPL073, Frascos RPL035, Frascotes RPL216, Viales M.F. FPL013), al que, para estar más seguros, podemos añadir un antibacteriano de amplio espectro que ataque la pared bacteriana, como la **Oxitetraciclina** (SBH012). Y otro medio general con antifúngicos de amplio espectro, como la **Cicloheximida** (polvo no estéril SKM200). Las colonias que crezcan en el medio con Cloranfenicol y/o Oxitetraciclina serán levaduras, las que crezcan en el medio con Cicloheximida serán bacterias (esta segunda parte del truco no es aplicable en cervicería, donde la cicloheximida se usa para distinguir el *Saccharomyces cerevisiae* inoculado, de las levaduras salvajes; ni en clínica, donde la cicloheximida se usa para distinguir levaduras patógenas resistentes a la misma, de las ambientales, no resistentes). Los productos ricos en mohos invasores, pueden analizarse añadiendo Cicloheximida a los diferentes medios para aislamiento de bacterias (PCA, Baird Parker...), a razón de 0,5 g/l.