

### PAINEL PARA ENTEROBACTÉRIAS PROBAC

O Painel para Enterobactérias Probac é um sistema para identificação de enterobactérias que foi desenvolvido visando facilitar a identificação bacteriana de uma das maiores famílias isoladas na microbiologia clínica e industrial.

Com amplo número de provas permite determinar com maior segurança as espécies e subespécies dos isolados, informação que em sendo cada vez mais requerida, principalmente na microbiologia clínica.

O painel é constituído por 24 provas: Indol; Voges Proskauer; citrato de Simmons; produção de H<sub>2</sub>S; hidrólise da uréia; triptofano desaminase; descarboxilação de lisina, arginina, ornitina e controle (base Moeller); malonato; hidrólise da esclulina; utilização dos açúcares: glicose, lactose, sacarose, manitol, adonitol, mioinositol, sorbitol, rafinose, ramnose, maltose, melobiose; ONPG e a prova adicional de oxidase totalizando 25 provas. A identificação ocorre através das alterações de pH, hidrólise dos substratos e produção de produtos metabólicos. O KIT consiste dos substratos desidratados das provas distribuídos em microplaca.

#### APRESENTAÇÃO DO PAINEL ENTEROBACTÉRIAS:

A												
	IND	VP	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	PDA	CTR	LIS	ARG	ORN	MLN	GLIC
B												
	LAC	SAC	MAN	ADO	MIO	SOR	RAF	RAM	MAL	MEL	ONPG	ESC

#### ABREVIÇÕES/PROVAS/PAINEL:

Painel	Prova	Abreviação
A1	Indol	IND
A2	Voges Proskauer	VP
A3	Citrato de Simmons	CIT
A4	Produção de H <sub>2</sub> S	H <sub>2</sub> S
A5	Hidrólise da uréia	URÉIA
A6	Triptofano desaminase	PDA
A7	Controle da descarboxilação	CTR
A8	Descarboxilação de lisina	LIS
A9	Descarboxilação de arginina	ARG
A10	Descarboxilação de ornitina	ORN
A11	Malonato	MLN
A12	Oxidação de glicose	GLIC

Painel	Prova	Abreviação
B1	Fermentação de lactose	LAC
B2	Fermentação de sacarose	SAC
B3	Fermentação de manitol	MAN
B4	Fermentação de adonitol	ADO
B5	Fermentação de mioinositol	MIO
B6	Fermentação de sorbitol	SOR
B7	Fermentação de rafinose	RAF
B8	Fermentação de ramnose	RAM
B9	Fermentação de maltose	MAL
B10	Fermentação de melobiose	MEL
B11	β-D-galactosidase	ONPG
B12	Hidrólise da esclulina	ESC

#### PROCEDIMENTO

Os testes devem ser realizados a partir de colônias isoladas e puras com 18 a 24 horas de crescimento, preferencialmente a partir de meios não seletivos.

- Abrir o envelope e retirar o painel.
- Guardar o envelope para incubação do painel.
- Turvar 3 a 4 mL da Solução Inoculante Probac do Brasil® na escala 0,5 McFarland.
- Distribuir 0,1 mL (100 µl) desta turvação, bem homogeneizada, em cada pocinho da microplaca, com auxílio de uma pipeta estéril. Para uso de pipeta multicanal a Probac do Brasil comercializa separadamente uma canaleta que auxilia na inoculação.
- Nos pocinhos dos aminoácidos (A7 a A10), adicionar uma gota da solução estabilizante de aminoácidos que acompanha o kit e a seguir pingar duas gotas do óleo mineral estéril nas provas que estão sublinhadas.
- Pingar também duas gotas de óleo mineral estéril nas provas sublinhadas: H<sub>2</sub>S (A4) e Uréia (A5)
- Realizar a prova de oxidase do isolado: Retire uma fita e feche imediatamente o frasco. Com uma alça de platina ou bastão de vidro ou madeira, faça um esfregaço da bactéria a ser identificada na fita. Não utilize nenhum tipo de alça ou bastão que contenha

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 12

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.  
Rua Jaguaribe, 35 – Sta. Cecília - São Paulo – SP - CEP: 01224-001  
Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368  
CNPJ 45.597.176/0001-00 -Insc. Est. 110.485.842.111  
Site: [www.probac.com.br](http://www.probac.com.br) E-mail: [probac@probac.com.br](mailto:probac@probac.com.br)

vestígios de ferro, pois este irá catalisar a reação de oxidação do reagente, resultando em reação falso-positiva. Na mesma fita, faça controle positivo com *Pseudomonas aeruginosa* e controle negativo com *Escherichia coli*. Anotar o resultado no painel.  
- Colocar o painel na embalagem e incubar 35°C± 2°C por 18-24 horas.

#### LEITURA E INTERPRETAÇÃO:

##### 1. Fundamentos das Reações:

- **Indol:** As enterobactérias que possuem a enzima triptofanase, em meios contendo triptofano produzem indol. O indol é um dos produtos de degradação imediata da desaminação do triptofano, e pode ser detectado pela reação com o Reativo de Kovacs, resultando em um composto colorido.
- **Voges Proskauer:** A glicose pode ser metabolizada pelos microrganismos, através de diferentes vias metabólicas. De acordo com a via utilizada, se formarão produtos finais ácidos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico), ou produtos finais neutros (acetil metil carbinol). Esta diferença no metabolismo bacteriano pode ser reconhecida pela adição de hidróxido de potássio e alfa naftol em um meio com indicador para evidenciar a presença de produtos finais neutros.
- **Citrato de Simmons:** verifica a utilização do citrato como única fonte de carbono.
- **H<sub>2</sub>S:** detecta a capacidade de certo microrganismos liberarem enzimaticamente enxofre a partir de enxofre inorgânico como compostos de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S).
- **Uréia:** verifica a presença da enzima urease que hidrolisará a uréia.
- **Triptofano desaminase:** teste usado para diferenciação entre bacilos Gram negativos urease positivos baseado na capacidade dos microrganismos produzirem ácido indolpirúvico. A desaminação do triptofano a ácido indolpirúvico é detectada pela adição de cloreto férrico.
- **Lisina, Arginina, Ornitina:** são testes que demonstram a capacidade de um organismo descarboxilar um aminoácido em amina resultando em alcalinidade do meio. A base usada é a Base de Moeller.
- **Malonato:** Utilização de malonato como única fonte de carbono.
- **Hidrólise da esclulina:** demonstra a capacidade do microrganismo hidrolisar a esclulina resultando em coloração enegrecida do meio.
- **Fermentação dos açúcares:** a fermentação de um açúcar resulta na formação de ácidos que diminuem o pH do meio causando alteração de cor.
- **ONPG:** usada na diferenciação dos membros da enterobacteriaceae baseada na atividade da β-D-galactosidase, que é uma das enzimas que determina a capacidade da bactéria fermentar lactose.
- **Oxidase:** teste diferencial muito importante na identificação de bactérias Gram negativas. As bactérias que produzem a enzima oxidase apresentam um sistema de transporte de elétrons, denominado *sistema citocromo oxidase*. Neste sistema, os aceptores eletrônicos naturais podem ser substituídos por substratos artificiais, que, na presença de oxigênio atmosférico, são oxidados pela citocromo oxidase, formando um composto colorido.

##### 2. Revelação das provas:

- **Oxidase:** A leitura é feita em poucos segundos:
  - Oxidase (+): O esfregaço bacteriano na fita apresenta coloração rosa, que após alguns minutos pode mudar para preta.
  - Oxidase (-): O esfregaço bacteriano não apresenta alteração de cor.

Algumas provas bioquímicas necessitam de reagentes, que devem ser adicionados após a incubação, para que o resultado possa ser visualizado:

- **Indol (A1):** Pingar 03 gotas de Reativo de Kovacs.
- **Voges Proskauer (A2):** Pingar 01 gota de Hidróxido de Potássio 40% + 01 gota de Alfa-naftol 5% (seguir a ordem descrita dos reagentes). Aguardar 15 minutos antes da leitura.
- **Triptofano desaminase (A6):** Pingar 01 gota de Cloreto Férrico 10%.

##### 3. Leitura:

Prova	Reação Positiva	Reação Negativa
Indol	Rosa	Amarelo
VP	Vermelho	Amarelo
Citrato de Simmons	Azul	Verde ou incolor
H <sub>2</sub> S	Preto	Inalterado
Uréia	Rosa	Amarelo
Triptofano desaminase	Marrom intenso	Inalterado ou marrom claro
Malonato	Verde	Amarelo
Lisina, Arginina e Ornitina	Cor púrpura do meio mais acentuada que a do poço controle	Cor do meio igual ou mais amarelada que a do poço controle
ONPG	Amarelo	Inalterado
Hidrólise da esclulina	Preto	Inalterado
Utilização dos açúcares	Amarelo	Vermelho

**4. Resultados:** Após a leitura das provas, os resultados devem ser preenchidos no banco de dados que acompanha o produto na primeira compra e é instalado pela Probac ou um de seus distribuidores. O sistema indicará qual o nome e espécie do microrganismo isolado e sua probabilidade.

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 12

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.  
Rua Jaguaribe, 35 – Sta. Cecília - São Paulo – SP - CEP: 01224-001  
Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368  
CNPJ 45.597.176/0001-00 -Insc. Est. 110.485.842.111  
Site: [www.probac.com.br](http://www.probac.com.br) E-mail: [probac@probac.com.br](mailto:probac@probac.com.br)



## **PROBAC DO BRASIL**

### **5. Uso do Banco de Dados:**

Abrir o Programa Paineis para Enterobactéria.

1. Selecionar: Resultados.
2. Informar o resultado da prova de Oxidase (+ ou -).
3. Colocar os resultados: + em caso de reações positivas e - caso de reações negativas em cada um dos substratos.
4. Selecionar: Gravar: o resultado aparece na tela em poucos segundos.
5. Os resultados podem ser impressos
6. O programa permite a visualização de relatórios dos resultados obtidos.

### **Em caso de não aparecer nenhum nome de bactéria na tela:**

Checar os resultados lidos e marcados no computador.

- A) Checar a pureza da cepa.
- B) Checar se é um bacilo Gram negativo fermentador de glicose.
- C) As *Aeromonas sp* e as *Plesionomas sp* aparecem no diagnóstico diferencial dos bacilos Gram negativos fermentadores de glicose, oxidase positivos.

### **CUIDADOS:**

- Não utilizar painéis sem embalagem íntegra.
- Não utilizar o produto na presença de sinais de contaminação.

### **OBSERVAÇÃO:**

**Materiais não fornecidos juntamente com o painel, mas disponíveis para venda na Probac do Brasil:**

- Escala de McFarland
- Canaleta para auxiliar na inoculação com pipeta multicanal
- Tubos estéreis (não disponível para venda).

### **PRECAUÇÕES:**

Este material após o uso deve ser descartado conforme as recomendações vigentes para resíduos de serviços de saúde.

### **APRESENTAÇÃO:**

Caixa com 10 Painéis, 1 frasco de Solução Inoculante com 50 mL, 1 frasco com 2 mL de Solução Estabilizante de Aminoácidos, 1 frasco com Óleo Mineral com 4 mL, 1 frasco com Cloreto Férrico 10% com 1mL, 1 frasco com Reativo de Kovacs com 1mL, 1 frasco com Hidróxido de Potássio 40% com 1mL, 1 frasco com Alfa Naftol 5% com 1 mL e 01 frasco com 10 Fitas para Determinação de Oxidase.

### **CONSERVAÇÃO:**

**Painel, Solução Inoculante:** Conservar entre 10° e 25°C.

**Óleo Mineral, Hidróxido de Potássio 40%, Alfa Naftol 5%:** Conservar entre 10° e 30°C.

**Solução Estabilizante de Aminoácidos, Cloreto Férrico 10 e Reativo de Kovacs:** Conservar em geladeira (2° a 8°C).

**Fitas para Determinação de Oxidase:** Conservar em geladeira (2° a 8°C), ao abrigo da luz.

**VALIDADE:** 4 meses.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

1. Murray, P.R. et al. – Manual of Clinical Microbiology, 9<sup>th</sup> ed., ASM Press, Washington, DC, 2007.
2. Washington, W.J.; Allen, S.D. et al- Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2006.

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 12

**PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.**  
Rua Jaguaribe, 35 – Sta. Cecília - São Paulo – SP - CEP: 01224-001  
Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368  
CNPJ 45.597.176/0001-00 -Insc. Est. 110.485.842.111  
Site: [www.probac.com.br](http://www.probac.com.br) E-mail: [probac@probac.com.br](mailto:probac@probac.com.br)