

ENTEROTUBE

a cura di Massimo Trauzzola e Rossana Baglioni



OBIETTIVO:

L'enterotube è un sistema pronto all'impiego per l'identificazione rapida delle *Enterobacteriaceae* che consente l'esame simultaneo di 15 differenti caratteristiche biochimiche dei batteri.



PRINCIPIO:

Gli enterobatteri vengono identificati in base alla valutazione dei risultati di diverse prove biochimiche:

- fermentazione del destrosio e produzione di gas
 - decarbossilazione della lisina
 - decarbossilazione dell'ornitina
 - fermentazione del triptofano e produzione di H₂S
 - fermentazione dell'adonitolo
 - fermentazione del lattosio
 - fermentazione dell'arabinosio
 - fermentazione del sorbitolo
 - fermentazione del glucosio (Voges-Proskauer)
 - fermentazione del dulcitol e della fenilalanina
 - idrolisi dell'urea
 - utilizzazione del citrato
- } in anaerobiosi
- } in aerobiosi

MATERIALI E STRUMENTI:

MATERIALI BIOLOGICI

Culture microbiche di *Escherichia coli*, *Proteus*, *Enterobacter aerogenes*, ...

MATERIALI CHIMICI

Rreattivo di Kovacs, α -naftolo (6% in alcool etilico), idrato di potassio (40g in 60ml di acqua)

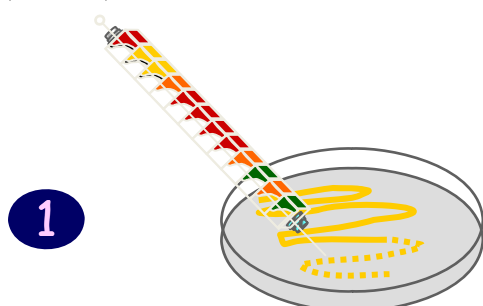
TERRENI DI COLTURA

Kit enterotube

VETRERIA, STRUMENTI

Portaprovette, siringhe sterili, termostato, bunsen

METODICA (1^a FASE)



Accanto alla fiamma del bunsen svitare i cappucci dell'enterotube e con la punta dell'ago prelevare una colonia isolata.

2



Inoculare l'enterotube ruotando ed estraendo l'ago attraverso tutti gli scomparti del tubo.

3



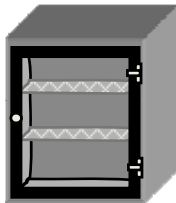
Reinserire l'ago fino alla tacca e poi spezzarlo piegandolo. La parte di ago che rimane all'interno assicura l'anaerobiosi.

4



Con lo spezzone dell'ago perforare la pellicola di plastica in corrispondenza dei fori degli ultimi 8 scomparti al fine di creare un ambiente aerobio. Riavvitare i tappi.

5

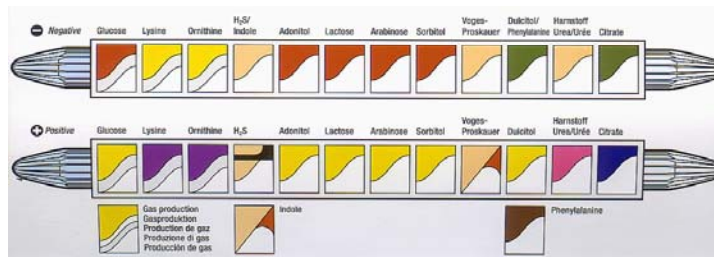


Incubare a 35-37°C per 20-24 h possibilmente in posizione verticale su un portaprovette con lo scomparto del destrosio rivolto verso l'alto.

(2ª FASE)

1

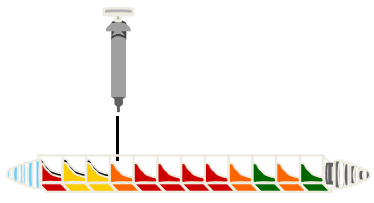
Registrazione delle reazioni (+ o -)



e riportarle nella tabella:

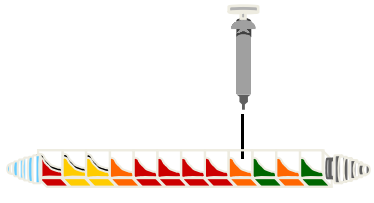
| | destrosio | gas | lisina | ornitina | indolo | H ₂ S | adonitolo | lattosio | arabinosio | sorbitolo | Voges-P | dulcitololo | fenilalanina | urea | citrato |
|----------|-----------|-----|--------|----------|--------|------------------|-----------|----------|------------|-----------|---------|-------------|--------------|------|---------|
| reazione | | | | | | | | | | | | | | | |

2



Eseguire il test dell'indolo iniettando con una siringa 4 gocce di reattivo di Kovacs direttamente sotto la pellicola di plastica dello scomparto H₂S/indolo (il reattivo vira al rosso se la prova è positiva).

3



Eseguire il test di Voges-Proskauer iniettando con una siringa 3 gocce di soluzione di α-naftolo e 2 di KOH direttamente sotto la pellicola di plastica dello scomparto VP (il reattivo vira al rosso entro 10 minuti se la prova è positiva).

4

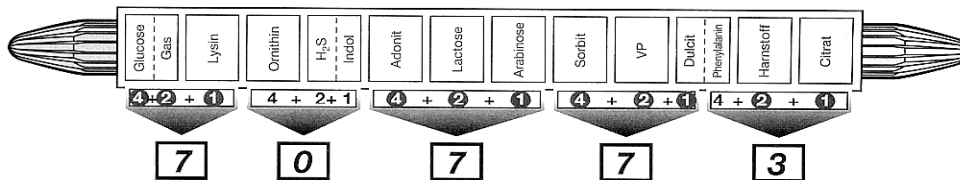
Registrazione degli ultimi due dati.

(3^a FASE)

1 Per identificare il batterio in esame confrontare i dati ottenuti con la tabella per l'identificazione biochimica degli enterobatteri.

2 In alternativa, utilizzare i foglietti di identificazione allegati alla confezione di Enterotube, contrassegnando per ogni reazione positiva i numeri corrispondenti.

Per esempio:



Sommare i numeri contrassegnati, come indicato sopra. Il numero a 5 cifre ottenuto (ID value), consente la rapida identificazione del batterio in esame utilizzando il sistema di identificazione con codifica computerizzata.

